

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 705 686**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.03.2011 PCT/EP2011/053646**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.09.2011 WO11110642**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.03.2011 E 11711490 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.10.2018 EP 2545077**

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

30 Prioridad:

24.09.2010 DK 201000862

10.03.2010 US 312622 P

10.03.2010 DK 201000191

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

26.03.2019

73 Titular/es:

GENMAB A/S (100.0%)

Kalvebod Brygge 43

1560 Copenhagen V, DK

72 Inventor/es:

NEIJSEN, JOOST, J.;

DE GOEIJ, BART;

VAN DEN BRINK, EDWARD;

LABRIJN, ARAN, FRANK;

HOET, RENE, M., A.;

SCHURMAN, JANINE;

PARREN, PAUL y

VAN DE WINKEL, JAN

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 705 686 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 monoclonales contra c-Met

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a anticuerpos monoclonales dirigidos contra el c-Met humano, el receptor del factor de crecimiento de hepatocitos, y los usos de dichos anticuerpos, en particular su uso en el tratamiento del cáncer.

10 **Antecedentes de la invención**

El c-Met es un receptor que abarca la membrana de la tirosina cinasa proteica. La cadena primariamente única del precursor se escinde post-traduccionalmente para producir la forma madura del heterodímero c-Met que consiste en una cadena α (50 kDa) extracelular y una cadena β transmembrana más larga (145 kDa), que están unidas por puentes disulfuro (Birchmeier et al. 2003. *Nat Rev Mol Cell Biol* 4:915). La parte extracelular de c-Met está compuesta por tres tipos de dominios. El dominio SEMA en el extremo N está formado por la subunidad α completa y parte de la subunidad β , y engloba la homología con las semaforinas proteicas. El dominio SEM continúa con un dominio rico en cisteína y posteriormente con cuatro dominios tipo inmunoglobulina (Ig). La parte citoplasmática cuenta con un dominio de cinasa yuxtamembrana y una cola en el extremo C que es esencial para la señalización corriente abajo. El único ligando conocido de alta afinidad por el c-Met, el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), se expresa principalmente en los fibroblastos en condiciones normales (Li y Tseng 1995. *J Cell Physiol* 163:61) y por células tumorales (Ferracini et al. 1995. *Oncogene* 10:739). El HGF (también llamado factor dispersor: SF) se sintetiza como un precursor que se convierte proteolíticamente en un heterodímero α/β activo. Basándose en la estructura cristalina del fragmento de unión al receptor, se cree que el HGF se une al c-Met como un dímero (Chirgadze et al. 1999. *Nat Struct Biol* 6:72). La cadena α del HGF se une con alta afinidad al dominio tipo Ig del c-Met, mientras que la cadena β del HGF se une con baja afinidad al dominio SEMA de c-Met (Basilico et al. 2008. *J Biol Chem* 283:21267). La última interacción es responsable de la dimerización del c-Met y la activación de la tirosina cinasa del receptor al unirse al heterodímero de HGF activo. La autofosforilación del receptor da como resultado un único sitio de atraque para el reclutamiento de efectores, de cuya unión con Gab1 (enlazador 1 asociado a la proteína 2 unida al receptor del factor de crecimiento [Grb2]) es esencial para las rutas de señalización corriente abajo del c-Met principal (Comoglio et al. 2008. *Nat Rev Drug Discov* 7:504):

- Ruta Ras-ERK 1/2: proliferación.
- Ruta Ras-Rac: invasión, motilidad, transición epitelial-a-mesenquimática.
- Ruta PI3K: supervivencia.

El c-Met se expresa en la superficie de células epiteliales y endoteliales de muchos órganos durante la embriogénesis y en la madurez, que incluyen el hígado, páncreas, próstata, riñón, músculo, y médula ósea. La activación de c-Met tiene un papel esencial en el denominado programa de "crecimiento invasivo" que consiste en una serie de procesos, incluyendo la proliferación, motilidad, angiogénesis y protección de la apoptosis (Boccaccio y Comoglio 2006. *Nat Rev Cancer* 6:637). Estos procesos regulados por el c-Met se producen en condiciones fisiológicas normales durante el desarrollo embrionario, reparación de lesiones hepáticas y cardíacas, y patológicamente durante la oncogénesis (Eder et al. 2009. *Clin Cancer Res* 15:2207).

La señalización inapropiada de c-Met se produce en virtualmente todos los tipos de tumores sólidos, tales como cánceres de vejiga, mama, de cuello uterino, colorrectal, gástrico, de cabeza y cuello, hígado, pulmón, ovario, pancreático, próstata, renal, y melanoma (Birchmeier et al. 2003. *Nat Rev Mol Cell Biol* 4:915; Comoglio et al. 2008. *Nat Rev Drug Discov* 7:504; Peruzzi y Bottaro 2006. *Clin Cancer Res* 12:3657). Los mecanismos subyacentes de la tumorigenicidad de c-Met se alcanzan normalmente de tres maneras diferentes:

- Bucles de c-Met/HGF autocrino,
- Sobre-expresión de c-Met o HGF,
- Mutaciones activadoras de cinasa en la secuencia codificante del receptor c-Met.

Más especialmente, la activación de mutaciones en c-Met se han identificado en pacientes con cáncer renal papilar hereditario (Schmidt et al. 1997. *Nat Genet* 16:68). La activación constitutiva de c-Met contribuye a una o una combinación de fenotipos cancerosos proliferativos, invasivos, de supervivencia o angiogénico. Se ha demostrado que el silenciamiento genético de c-Met que se expresa en las células tumorales da como resultado la falta de proliferación y crecimiento tumoral y la regresión de metástasis establecidos, así como la disminución de la generación de nuevas metástasis (Corso et al. 2008. *Oncogene* 27:684).

Como el c-Met contribuye a múltiples estadios del desarrollo tumoral, desde el inicio hasta la progresión a metástasis, el c-Met y su ligando el HGF se han convertido en candidatos a la cabeza de terapias contra el cáncer dirigidas (Comoglio et al. 2008. *Nat Rev Drug Discov* 7:504; Knudsen y Vande Woude 2008. *Curr Opin Genet Dev* 18:87). Se han explorado varias estrategias para alcanzar este objetivo:

- Receptores señuelo: subregiones de HGF o c-MET o análogos moleculares que pueden actuar de manera antagonista como competidores estequiométricos bloqueando la unión del ligando o la dimerización del receptor. Un ejemplo de dicha subregión antagonista de HGF es NK4 (Kringle Pharma).
- Inhibidores de la tirosina cinasa de molécula pequeña (TKI): Tres TKI específicos de c-Met en diferentes estadios de evaluación clínica son ARQ197 (ArQule), JNJ 38877605 (Johnson & Johnson) y PF-04217903 (Pfizer).
- Anticuerpos monoclonales anti-HGF, tales como AMG102, rilotumimab (Amgen), HuL2G7 (Takeda), y AV-299 (Schering).
- Se han descrito anticuerpos monoclonales anti-c-Met en los documentos WO 2005016382, WO 2006015371, WO 2007090807, WO 2007126799, WO 2009007427, WO 2009142738 y van der Horst et al. (van der Horst et al. 2009. Neoplasia 11:355). El Metmab (Genentech) es un anticuerpo OA-5D5 monovalente (de un brazo) humanizado que se une al dominio extracelular de c-Met, evitando de esta manera la unión de HGF y la posterior activación del receptor (Jin et al. 2008. Cancer Res 68:4360). En modelos de xenoinjerto en ratón, se descubrió que el tratamiento con Metmab inhibía el crecimiento tumoral de un glioblastoma ortotópico dirigido por HGF y tumores pancreáticos subcutáneos (Jin et al. 2008. Cancer Res 68:4360; Martens et al. 2006. Clin Cancer Res 12:6144). El h224G11 (Pierre Fabre) (Corvaia y Boute 2009. Abstract 835 AACR 100th Annual Meeting) es un anticuerpo IgG1 anti-c-Met bivalente humanizado. Los efectos antitumorales de este anticuerpo se han observado en ratones (Goetsch et al. 2009. Abstract 2792 AACR 100th Annual Meeting). El CE-355621 (Pfizer) es una IgG2 humana que bloquea la unión del ligando uniéndose al dominio extracelular de c-Met e inhibe el crecimiento dependiente de HGF en modelos de xenoinjerto tumoral (Tseng et al. 2008. J Nucl Med 49:129).

En conclusión, se han investigado varios productos anti-c-Met, pero no se ha aprobado hasta ahora ningún producto anti-c-Met para su uso terapéutico. Sigue existiendo la necesidad de productos eficaces y seguros para tratar las enfermedades graves relacionadas con c-Met, tales como el cáncer.

Sumario de la invención

Es un objetivo de la presente invención proporcionar nuevos anticuerpos anti-c-Met monoclonales altamente específicos y eficaces para su uso médico. Los anticuerpos de la invención presentan características de unión al c-Met que se diferencian de los anticuerpos descritos en la técnica. En realizaciones preferidas, los anticuerpos de la invención tienen una alta afinidad para el c-Met humano, son antagonistas y tienen un perfil farmacocinético favorable para su uso en pacientes humanos. Los anticuerpos de la invención se unen al c-Met humano y comprenden:

- una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 34, 35 y 36 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 38, 39 y 40, **(024)**, o
- una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 74, 75 y 76 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 78, 79 y 80, **(062)**, o
- una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 82, 83 y 84 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 86, 87 y 88, **(064)**, o
- una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 90, 91 y 92 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 94, 95 y 96, **(068)**, o
- una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 98, 99 y 100 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 102, 103 y 104, **(069)**, o
- una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 130, 131 y 132 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 134, 135 y 136, **(181)**
- una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 114, 115 y 116 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 118, 119 y 120 **(098)**, o
- una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 122, 123 y 124 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 126, 127 y 128 **(101)**.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1: Alineamiento de secuencias de la región variable de cadena pesada de HuMab. Basándose en estas secuencias, la secuencia de consenso se puede definir para algunas de las secuencias de las CDR. Estas secuencias de consenso se dan en la Tabla 4.

Figura 2: Alineamiento de las secuencias de la región variable de cadena ligera de HuMab. Basándose en estas secuencias, la secuencia de consenso se puede definir para algunas de las secuencias de las CDR. Estas secuencias de consenso se dan en la Tabla 4.

Figura 3: Curvas de unión de formas monovalentes y bivalentes de anticuerpos anti-c-Met contra el c-Met que se expresa en células A431. Los datos que se muestran son la MFI de un experimento representativo. Debido a que la IgG1-024 y Uni-068 no presentaban una unión saturada a las células A431 no era posible calcular un valor preciso de la CE₅₀.

Figura 4: Unión de anticuerpos al c-Met expresado en células epiteliales de mono Rhesus. Los datos que se muestran son la MFI de un experimento.

Figura 5: Inhibición de la unión de HGF inducida por el anticuerpo anti-c-Met al dominio extracelular del receptor de c-Met. Los datos que se muestran son de un experimento representativo.

Figura 6: Curvas de inhibición de la unión de HGF de los distintos anticuerpos anti-c-Met de la unión a cMetSEMA_567His8 ensayado con TR-FRET. Los datos que se muestran son la MFI media \pm la desviación típica de tres experimentos independientes.

Figura 7: Porcentaje de inhibición de células KP4 viables después del tratamiento con anticuerpos anti-c-Met en comparación con células no tratadas (0 %). Los datos que se muestran son porcentajes de inhibición de células viables de dos experimentos independientes \pm desviación típica. La IgG1-1016-022 era solo positiva en un experimento.

Figura 8: Eficacia de anticuerpos anti-c-Met para inhibir el crecimiento tumoral en un modelo de xenoinjerto KP4 en ratones SCID. Los ratones se trataron con 400 μ g de anticuerpo el día 9 seguido semanalmente por una dosis de mantenimiento de 200 μ g. Se muestra la mediana de los tamaños tumorales por grupo de tratamiento.

Figura 9: Eficacia de anticuerpos anti-c-Met para inhibir el crecimiento tumoral en un modelo de xenoinjerto de KP4 en ratones SCID. Los ratones se trataron con 400 μ g de anticuerpo el día 9 seguido semanalmente con una dosis de mantenimiento de 200 μ g. Efecto del tratamiento sobre la incidencia tumoral a lo largo del tiempo. Se muestra el porcentaje de ratones libres de tumor (tamaños tumorales $< 500 \text{ mm}^3$). La formación de tumor se retrasaba en ratones tratados con anticuerpos antagonistas en comparación con los anticuerpos de control.

Figura 10: Eficacia de los anticuerpos anti-c-Met para inhibir el crecimiento tumoral en un modelo de xenoinjerto de MKN45 en ratones SCID. Los ratones se trataron con 40 mg/kg de anticuerpo el día 7 y 20 mg/kg de anticuerpo los días 14, 21 y 28. El porcentaje de ratones con tamaños tumorales menores de 70 mm^3 se muestra en un gráfico de Kaplan Meier. La formación tumoral se retrasa en ratones tratados con anticuerpos anti-c-Met en comparación con el isotipo de anticuerpo de control.

Figura 11: Eficacia de anticuerpos anti-c-Met para inhibir el crecimiento tumoral en un modelo de xenoinjerto de MKN45 en ratones SCID. Los ratones se trataron con 40 mg/kg de anticuerpo el día 7 y 20 mg/kg de anticuerpo los días 14, 21 y 28. El porcentaje de ratones con tamaños tumorales menores de 700 mm^3 se muestra en un gráfico de Kaplan Meier. La formación tumoral se retrasó en los ratones tratados con anticuerpos anti-c-Met en comparación con el isotipo de anticuerpo de control.

Figura 12: Ensayo de viabilidad de KP4 para determinar el efecto de la flexibilidad del anticuerpo sobre la actividad agonista. El formato IgA2m (1) no inducía proliferación, al contrario que los formatos IgA1 e IgG1 del mismo anticuerpo. Las variantes del anticuerpo anti-c-Met 5D5 (véase el documento US6468529 y el Ejemplo 2) se utilizaron en este experimento.

Figura 13: Análisis SDS-PAGE no reducido de la flexibilidad de los mutantes de (069). No se observaron multímeros aberrantes ni productos de degradación mientras era visible el emparejamiento de la cadena ligera como una banda de 50 kD ((LC)₂) en los mutantes C220S, Δ C220 e IgG1-bisagra IgG3.

Figura 14: ELISA de unión al antígeno para medir la unión de c-Met a mutantes de la bisagra de anticuerpos c-Met todos los mutantes se unían con una afinidad comparable al c-Met como se muestra en el ELISA.

Figura 15: Fosforilación de c-Met como resultado de la actividad agonista de los anticuerpos contra c-Met. La Figura 15 muestra los resultados de transferencia de Western de lisados de A549; las membranas teñidas con anticuerpos contra c-Met fosforilado, c-Met total o β -actina.

Figura 16: Ensayo de proliferación con NCI-H441. El peso de las células se determinó después de 7 días de incubación en presencia de anticuerpos o controles y se grafican como el porcentaje de muestras no tratadas (fijado como el 100 %).

Figura 17: Ensayo de viabilidad de KP4. Se ensayó el efecto de los anticuerpos contra c-Met sobre la viabilidad total de las células KP4. La capacidad de IgG1-1016-069 para reducir la viabilidad de KP4 se retenía y/o mejoraba introduciendo mutaciones que disminuían la flexibilidad de los anticuerpos.

Figura 18: Modulación negativa según se mide por los niveles de c-Met totales en lisados de A549 utilizando un ELISA. Todas las variantes de anticuerpo (069) retenían la capacidad de modulación negativa.

Figura 19: Ensayo de ADCC para comparar las versiones con fucosa alta y baja del anticuerpo IgG1-1016-069.

Figura 20: La falta de unión de los anticuerpos c-Met a las células en sangre completa en un ensayo de unión FACS. Los resultados se muestran para las células B, monocitos y granulocitos.

50 Descripción detallada de la invención

Definiciones

El término “c-Met”, cuando se utiliza en el presente documento, se refiere al receptor del factor de crecimiento del hepatocito (Registro de GenBank NM 000245) e incluye cualquier variante, isoformas y especies homólogas del c-Met humano que se expresa naturalmente en las células o se expresan en células transfectadas con el gen de c-Met.

El término “inmunoglobulina” se refiere a una clase de glicoproteínas relacionadas estructuralmente que consisten en dos pares de cadenas polipeptídicas, un par de cadenas ligeras (L) de bajo peso molecular y un par de cadenas pesadas (H), las cuatro interconectadas por puentes disulfuro. La estructura de las inmunoglobulinas se ha caracterizado bien. Véase, por ejemplo, Fundamental Immunology Ch. 7 (Paul, W., ed., 2ª ed. Raven Press, N.Y. (1989)). En resumen, cada cadena pesada está comprendida normalmente por una región variable de cadena pesada (abreviada en el presente documento como V_H o VH) y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada normalmente está comprendida por tres dominios, C_{H1}, C_{H2} y C_{H3}. Cada cadena ligera está comprendida normalmente de una región variable de cadena ligera (abreviada en el presente documento como

V_L o V_L) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera normalmente está compuesta por un dominio, C_L . Las regiones V_H y V_L pueden subdividirse adicionalmente en regiones de hipervariabilidad (o regiones hipervariables que pueden ser hipervariables en la secuencia y/o formar bucles definidos estructuralmente), también llamadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con las regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco conservada (FR). Cada V_H y V_L están compuesta normalmente por tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino hasta el extremo carboxilo en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4 (véase también Chothia y Lesk J. Mol. Biol. 196, 901-917 (1987)). Normalmente, la numeración de los restos de aminoácido en esta región se lleva a cabo por el método descrito en Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991) (las frases tales como numeración del resto del dominio variable como en Kabat o de acuerdo con Kabat en el presente documento se refieren a este sistema de numeración para dominios variables de cadena pesada o dominios variables de cadena ligera). Utilizando este sistema de numeración, la secuencia de aminoácidos lineal actual de un péptido puede contener menor o aminoácidos adicionales que se corresponden con un acortamiento, o una inserción en una FR o CDR del dominio variable. Por ejemplo, un dominio variable de cadena pesada puede incluir una única inserción de aminoácidos (el resto 52a de acuerdo con Kabat) después del resto 52 de la CDR2 de V_H y una inserción de restos (por ejemplo, los restos 82a, 82b, y 82c, etc. de acuerdo con Kabat) después del resto 82 de FR de cadena pesada. La numeración de Kabat de restos se puede determinar para un anticuerpo determinado por el alineamiento en regiones de homología de la secuencia del anticuerpo con una secuencia numerada por Kabat "convencional".

El término "anticuerpo" (Ab) en el contexto de la presente invención se refiere a una molécula de inmunoglobulina, un fragmento de una molécula de inmunoglobulina, o un derivado de cualquiera de los mismos, que tiene la capacidad de unirse específicamente a un antígeno en condiciones fisiológicas típicas con una semivida de periodos de tiempo significativos, tal como al menos aproximadamente 30 minutos, al menos aproximadamente 45 minutos, al menos aproximadamente 1 hora, al menos aproximadamente dos horas, al menos aproximadamente cuatro horas, al menos aproximadamente 8 horas, al menos aproximadamente 12 horas, aproximadamente 24 horas o más, aproximadamente 48 horas o más, aproximadamente 3, 4, 5, 6, 7 o más días, etc., o cualquier otro periodo definido funcionalmente relevante (tal como un tiempo suficiente para inducir, promover, aumentar, y/o modular una respuesta asociada con la unión del anticuerpo al antígeno y/o el tiempo suficiente para que el anticuerpo reclute una actividad efectora). Las regiones variables de las cadenas pesada y ligera de la molécula de inmunoglobulina contienen un dominio de unión que interactúa con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos (Ab) pueden mediar en la unión de las inmunoglobulinas a los tejidos o factores de huéspedes, incluyendo distintas células del sistema inmunitario (tal como las células efectoras) y componentes del sistema de complemento tal como C1q, el primer componente en la ruta clásica de la activación del complemento. Un anticuerpo anti-c-Met también puede ser un anticuerpo biespecífico, diacuerpo, o molécula similar (véase, por ejemplo, PNAS USA 90(14), 6444-8 (1993) para una descripción de los diacuerpos). Además, los anticuerpos biespecíficos, diacuerpos, y similares, proporcionados por la presente invención se pueden unir a cualquier diana adecuada además de a una parte del c-Met. Como se ha indicado anteriormente, el término anticuerpo en el presente documento, a menos de que se establezca otra cosa o se contradiga claramente por el contexto, incluye fragmentos de un anticuerpo que mantengan la capacidad para unirse específicamente al antígeno. Se ha demostrado que la función de unión al antígeno del anticuerpo se puede llevar a cabo por fragmentos de un anticuerpo de longitud completa. Ejemplos de fragmentos de unión englobados por el término "anticuerpo" incluyen (i) un Fab' o fragmento Fab, un fragmento monovalente que consiste en los dominios V_L , V_H , C_L y C_H1 , o un anticuerpo monovalente como se describe en el documento WO 2007059782 (Genmab); (ii) fragmentos $F(ab')_2$, fragmentos bivalentes que comprenden dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región de bisagra; (iii) un fragmento Fd que consiste esencialmente en los dominios V_H y C_H1 ; (iv) un fragmento Fv que consiste esencialmente en los dominios V_L y V_H de un solo brazo de un anticuerpo, (v) un fragmento dAb (Ward et al., *Nature* 341, 544-546 (1989)), que consiste esencialmente en un dominio V_H y también llamados anticuerpos de dominio (Holt et al; *Trends Biotechnol.* 2003 nov;21(11):484-90); camélidos o nanocuerpos (Revs et al; *Expert Opin Biol Ther.* 2005 Jan 5(1):111-24) y (vii) una región determinante de complementariedad (CDR) aislada. Adicionalmente, aunque los dos dominios del fragmento Fv, se codifican la V_L y V_H por genes separados, se pueden unir, utilizando métodos recombinantes, por un enlazador sintético que hace posible que se produzcan como una única cadena proteica en la que las regiones V_L y V_H se emparejan para formar moléculas monovalentes (conocidos como anticuerpos de cadena sencilla o Fv de cadena sencilla (scFv), véase por ejemplo, Bird et al., *Science* 242, 423-426 (1988) y Huston et al., *PNAS USA* 85, 5879-5883 (1988)). Dichos anticuerpos de cadena sencilla están englobados en el término anticuerpo a menos de que se señale otra cosa o se indique claramente por el contexto. Aunque dichos fragmentos se incluyen en general en el significado de anticuerpo, colectivamente y cada uno independientemente son características únicas de la presente invención, que presentan diferentes propiedades biológicas y utilidades. Estos y otros fragmentos de anticuerpo en el contexto de la presente invención se exponen adicionalmente en el presente documento. Se debería entender también que el término anticuerpo, a menos de que se especifique otra cosa, también incluye anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales (mAb), polipéptidos tipo anticuerpo, tal como anticuerpos quiméricos y anticuerpos humanizados, y fragmentos de anticuerpo que mantienen la capacidad para unirse específicamente al antígeno (fragmento de unión al antígeno) proporcionados por cualquier técnica conocida, tal como escisión enzimática, síntesis peptídica, y técnicas recombinantes. Un anticuerpo que se genera puede poseer cualquier isotipo.

Como se utiliza en el presente documento, “isotipo” se refiere a la clase de inmunoglobulina (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgA, IgE, o IgM) que se codifica por genes de la región constante de cadena pesada.

5 La expresión “anticuerpo monovalente” significa en el contexto de la presente invención que una molécula de anticuerpo es capaz de unirse a una única molécula de antígeno, y por lo tanto no es capaz de entrecruzamiento de antígenos.

10 Un “anticuerpo deficiente en función efectora” o un “anticuerpo con función efectora deficiente” se refiere a un anticuerpo que tiene uno o más mecanismos efectores significativamente reducidos o no tiene la capacidad de activarlos, tal como la activación del complemento o la unión al receptor de Fc. Por lo tanto, los anticuerpos con función efectora deficiente tienen reducida significativamente o no tienen la capacidad para mediar la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC) y/o la citotoxicidad dependiente de complemento (CDC). Un ejemplo de dicho anticuerpo es IgG4.

15 Un “anticuerpo anti-c-Met” es un anticuerpo como se ha descrito anteriormente, que se une específicamente al antígeno c-Met.

20 La expresión “anticuerpo humano”, como se utiliza en el presente documento, pretende incluir los anticuerpos que tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. Los anticuerpos humanos de la invención pueden incluir restos de aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis aleatorias o específicas del sitio *in vitro* o por mutación somática *in vivo*). Sin embargo, la expresión “anticuerpo humano”, como se utiliza en el presente documento, no pretende incluir anticuerpos en los que se han injertado secuencias de CDR derivadas de la línea germinal de otras especies de mamífero, tal como un ratón, en las secuencias marco conservadas humanas.

30 Como se utiliza en el presente documento, un anticuerpo humano se “deriva de” una secuencia de la línea germinal particular si el anticuerpo se obtiene a partir de un sistema que utiliza secuencias de inmunoglobulinas humanas, por ejemplo, inmunizando un ratón transgénico que tiene genes de inmunoglobulina humana o explorando una biblioteca genética de inmunoglobulinas humanas, y donde el anticuerpo humano seleccionado es al menos un 90 %, tal como al menos un 95 %, por ejemplo al menos un 96, tal como al menos un 97 %, por ejemplo al menos un 98 %, o tal como al menos un 99 % idéntico en la secuencia de aminoácidos a la secuencia de aminoácidos codificada por el gen de inmunoglobulinas de la línea germinal. Normalmente, quitando la CDR3 de la cadena pesada, un anticuerpo humano derivado de una secuencia particular de la línea germinal humana presentará no más de 20 diferencias de aminoácidos, por ejemplo, no más de 10 diferencias de aminoácidos, tal como no más de 9, 8, 7, 6, o 5, por ejemplo, no más de 4, 3, 2, o 1 diferencia de aminoácidos respecto a la secuencia codificada por el gen de inmunoglobulina de la línea germinal.

40 En una realización preferida, el anticuerpo de la invención está aislado. Un “anticuerpo aislado”, como se utiliza en el presente documento, tiene la intención de referirse a un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen especificidades antigénicas diferentes (por ejemplo, un anticuerpo aislado que se une específicamente a c-Met está sustancialmente libre de anticuerpos que se unan específicamente a antígenos distintos de c-Met). Un anticuerpo aislado que se une específicamente a un epítipo, isoforma o variante de c-Met humano puede, sin embargo, tener reactividad cruzada con otros antígenos relacionados, por ejemplo, de otras especies (tales como especies de c-Met homólogas). Además, un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente libre de otro material celular y/o productos químicos. En una realización de la presente invención, dos o más anticuerpos monoclonales “aislados” que tienen diferentes especificidades de unión a antígeno se combinan en una composición bien definida.

50 Cuando se utiliza en el presente documento, en el contexto de dos o más anticuerpos, el término “compite con” o “compite de manera cruzada con” indica que dos o más anticuerpos compiten por la unión con c-Met, por ejemplo, compite por la unión con c-Met en el ensayo descrito en los Ejemplos del presente documento. Para algunos pares de anticuerpos, la competición en el ensayo de los Ejemplos solo se observa cuando un anticuerpo está revistiendo la placa y el otro se utiliza para competir, y no viceversa. La expresión “compite con” cuando se utiliza en el presente documento también tiene la intención de cubrir cualquier combinación de anticuerpos.

60 El término “epítipo” significa un determinante proteico capaz de unirse específicamente a un anticuerpo. Los epítipos consisten habitualmente en agrupamientos de superficie de moléculas tales como cadenas laterales de aminoácidos o azúcares y habitualmente tienen características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas. Los epítipos conformacionales y no conformacionales se distinguen en que la unión de los primeros, pero no de los últimos, se pierde en presencia de disolventes desnaturizantes. El epítipo puede comprender restos de aminoácido implicados directamente en la unión (también llamado componente inmunodominante del epítipo) y otros restos de aminoácidos, que no están implicados directamente en la unión, dichos restos de aminoácidos que se bloquean eficazmente por el péptido de unión específicamente antigénico (en otras palabras, el resto de aminoácido está en la huella del péptido de unión específicamente antigénico).

La expresión “anticuerpo monoclonal” como se utiliza en el presente documento se refiere a una preparación de moléculas de anticuerpo de composición molecular única. Una composición de anticuerpo monoclonal presenta una única especificidad y afinidad de unión por un epítipo en particular. En consecuencia, la expresión “anticuerpo monoclonal humano” se refiere a anticuerpos que presentan una única especificidad de unión que tiene regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulinas de la línea germinal humana. Los anticuerpos monoclonales humanos se pueden generar mediante un hibridoma que incluye una célula B obtenida de un animal transgénico o transcromosómico no humano, tal como un ratón transgénico, que tiene un genoma que comprende un transgén de cadena pesada humana y un transgén de cadena ligera, fusionada con una célula inmortalizada.

Como se utiliza en el presente documento, el término “unión” en el contexto de la unión de un anticuerpo a un antígeno predeterminado normalmente es una unión con una afinidad que se corresponde con una K_D de aproximadamente 10^{-7} M o menos, tal como aproximadamente 10^{-8} M o menos, tal como aproximadamente 10^{-9} M o menos, o aproximadamente 10^{-11} M o incluso menos cuando se determina por ejemplo, por una tecnología de resonancia de plasmones superficiales (SPR) en un instrumento BIAcore 3000 utilizando el antígeno como ligando y el anticuerpo como analito, y se une al antígeno predeterminado con una afinidad correspondiente con una K_D que es al menos de 10 veces menor, tal como al menos 100 veces menor, por ejemplo al menos 1.000 veces menor, tal como al menos 10.000 veces menor, por ejemplo al menos 100.000 veces menor que su afinidad por la unión a un antígeno no específico (por ejemplo, BSA, caseína) distinto del antígeno predeterminado o un antígeno estrechamente relacionado. La cantidad con la cual la afinidad es menor depende de la K_D del anticuerpo, de manera que cuando la K_D del anticuerpo es muy baja (es decir, el anticuerpo es altamente específico), entonces la cantidad con la cual la afinidad por el antígeno es menor que la afinidad por un antígeno no específico puede ser al menos de 10.000 veces.

El término “ k_d ” (s^{-1}), como se utiliza en el presente documento, se refiere a la constante de velocidad de disociación de una interacción antígeno-anticuerpo en particular. También se hace referencia a dicho valor como el valor k_{off} .

El término “ k_a ” ($M^{-1} \times s^{-1}$), como se utiliza en el presente documento, se refiere a la constante de velocidad de asociación de una interacción anticuerpo-antígeno en particular.

El término “ K_D ” (M) como se utiliza en el presente documento, se refiere a la constante de disociación en equilibrio de una interacción anticuerpo-antígeno en particular.

El término “ K_A ” (M^{-1}), como se utiliza en el presente documento se refiere a la constante de asociación en equilibrio de una interacción anticuerpo-antígeno y se obtiene dividiendo k_a por la k_d .

Como se utiliza en el presente documento, la expresión “inhibe el crecimiento” (por ejemplo, refiriéndose a células, tales como celular tumorales) tiene la intención de incluir cualquier disminución que se pueda medir del crecimiento celular cuando se pone en contacto con un anticuerpo anti-c-Met en comparación con el crecimiento de las mismas células que no se ponen en contacto con una anticuerpo anti-c-Met, por ejemplo, la inhibición del crecimiento de un cultivo celular a menos aproximadamente un 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 99 %, o 100 %. Dicha disminución del crecimiento celular puede producirse por una variedad de mecanismos, por ejemplo, fagocitosis de células efectoras, ADCC, CDC, y/o apoptosis.

La presente invención también proporciona anticuerpos que comprenden variantes funcionales de la región V_L , región V_H o una o más CDR de los anticuerpos de los ejemplos. Una variante funcional de una V_L , V_H , o CDR utilizada en el contexto de un anticuerpo anti-c-Met aun permite que al anticuerpo mantenga al menos una proporción sustancial (de al menos el 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o más) de la afinidad/avidez y/o la especificidad/selectividad del anticuerpo parental y en algunos casos dicho anticuerpo anti-c-Met puede estar asociado con una afinidad, selectividad y/o especificidad mayor que el anticuerpo parental.

Dichas variantes funcionales normalmente mantienen una identidad de secuencia significativa con respecto al anticuerpo parental. El porcentaje de identidad entre dos secuencias es una función del número de posiciones idénticas que comparten las secuencias (es decir, % homología = n° de posiciones idénticas/ n° de posiciones totales \times 100), teniendo en cuenta el número de huecos, y la longitud de cada hueco que se necesitan introducir para el alineamiento óptimo de las dos secuencias. El porcentaje de identidad entre dos secuencias de nucleótidos o aminoácidos se puede determinar, por ejemplo, utilizando el algoritmo de E. Meyers y W. Miller, Comput. Appl. Biosci 4, 11-17 (1988) que se ha introducido en el programa ALIGN (versión 2.0), utilizando una tabla de pesos PAM120, una penalización de longitud de hueco de 12 y una penalización de hueco de 4. Además, el porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos se puede determinar utilizando el algoritmo de Needleman y Wunsch, J. Mol. Biol. 48, 444-453 (1970).

La secuencia de variantes de CDR puede diferenciarse de la secuencia de la CDR de las secuencias del anticuerpo parental mediante sobre todo sustituciones conservadoras; por ejemplo, al menos 10, tal como al menos 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 de las sustituciones en la variante son sustituciones conservadoras de restos de aminoácidos.

65

En el contexto de la presente invención, las sustituciones conservadoras pueden definirse por sustituciones en las clases de aminoácidos reflejadas en la siguiente tabla:

Clases de restos de aminoácidos para las sustituciones conservadoras

5

Restos ácidos	Asp (D) y Glu (E)
Restos básicos	Lys (K), Arg (R), y His (H)
Restos hidrófilos sin carga	Ser (S), Thr (T), Asn (N), y Gln (Q)
Restos alifáticos sin carga	Gly (G), Ala (A), Val (V), Leu (L), y Ile (I)
Restos sin carga no polares	Cys (C), Met (M), y Pro (P)
Restos aromáticos	Phe (F), Tyr (Y), y Trp (W)

La expresión “célula huésped recombinante (o simplemente “célula huésped”), como se utiliza en el presente documento, tiene la intención de referirse a una célula en la cual se ha introducido un vector de expresión, por ejemplo, un vector de expresión que codifica un anticuerpo de la invención. Las células huésped recombinantes incluyen, por ejemplo, transfectomas tales como células CHO, células HEK293, célula NS/0, y células linfocíticas.

10

La expresión “animal transgénico no humano” se refiere a un animal no humano que tiene un genoma que comprende uno o más transgenes o transcromosomas de cadena pesada y/o ligera humanas (sea integrados o no integrados en el ADN genómico natural del animal) y que es capaz de expresar anticuerpos completamente humanos. Por ejemplo, un ratón transgénico puede tener un transgén de cadena ligera humana y cualquier transgén de cadena pesada humana o transcromosoma de cadena pesada humana, de manera que el ratón produce anticuerpos anti-c-Met humanos cuando se inmuniza con un antígeno c-Met y/o célula que expresan c-Met. El transgén de cadena pesada humana se puede integrar en el ADN cromosómico del ratón, como es el caso de ratones transgénicos, por ejemplo, ratones HuMab, tal como ratones HCo7 o HCo12, o el transgén de cadena pesada humana se puede mantener de manera extracromosómica, como es el caso de los ratones transcromosómicos KM como se describe en el documento WO 02/43478. Ratones similares que tienen un repertorio genético de Ab humanos mayor, incluyen HCo7 y HCo20 (véase, por ejemplo, el documento WO 2009097006). Dichos ratones transgénicos y transcromosómicos (a los que se hace referencia colectivamente en el presente documento como “ratones transgénicos”) son capaces de producir múltiples isotipos de anticuerpos monoclonales humanos contra un antígeno determinado (tal como IgG, IgA, IgM, IgD y/o IgE) sometidos a recombinación V-D-J e intercambio de isotipos. El animal transgénico, no humano también se puede utilizar para la producción de anticuerpos contra un antígeno específico, introduciendo genes que codifican dicho anticuerpo específico, por ejemplo, uniendo operativamente los genes a un gen que se expresa en la leche del animal.

“Tratamiento” se refiere a la administración de una cantidad eficaz de un compuesto terapéuticamente activo de la presente invención con el fin de facilitar, mejorar, detener o erradicar (curar) los síntomas de estados de enfermedad.

Una “cantidad eficaz” se refiere a una cantidad eficaz, a las dosis y durante periodos de tiempo necesarias, para alcanzar un resultado terapéutico deseado. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-c-Met puede variar de acuerdo con factores tales como el estado de enfermedad, edad, sexo, y peso del individuo, y la capacidad del anticuerpo anti-c-Met para dar lugar a una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad terapéuticamente eficaz es también en el que cualquiera de los efectos tóxicos o perjudiciales del anticuerpo o parte de anticuerpo está superados por los efectos terapéuticamente beneficiosos.

40

Un anticuerpo “anti-idiotípico” es un anticuerpo que reconoce determinantes únicos asociados generalmente con el sitio de unión al antígeno de un anticuerpo.

Aspectos adicionales y realizaciones de la invención

45

Como se ha descrito anteriormente, en un primer aspecto, la invención se refiere a un anticuerpo monoclonal que se une al c-Met humano en el que el anticuerpo comprende:

- 50 i) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 34, 35 y 36 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 38, 39 y 40, **(024)**, o
 j) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 74, 75 y 76 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 78, 79 y 80, **(062)**, o
 k) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 82, 83 y 84 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 86, 87 y 88, **(064)**, o
 55 l) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 90, 91 y 92 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 94, 95 y 96, **(068)**, o

- m) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 98, 99 y 100 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 102, 103 y 104, **(069)**, o
- n) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 130, 131 y 132 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 134, 135 y 136, **(181)**
- 5 o) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 114, 115 y 116 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 118, 119 y 120 **(098)**, o
- p) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 122, 123 y 124 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 126, 127 y 128 **(101)**.
- 10 Los anticuerpos monoclonales de la presente invención pueden producirse, por ejemplo, por métodos de hibridoma descrito por primera vez por Kohler et al., Nature 256, 495 (1975), o se pueden producir por métodos de ADN recombinantes. Los anticuerpos monoclonales se pueden aislar de bibliotecas de fagos de anticuerpo utilizando las técnicas descritas, por ejemplo, en Clackson et al., Nature 352, 624-628 (1991) y Marks et al., J. Mol. Biol. 222, 581-597 (1991). Los anticuerpos monoclonales se pueden obtener de cualquier fuente adecuada. Por lo tanto, por
- 15 ejemplo, los anticuerpos monoclonales se pueden obtener a partir de hibridomas preparados a partir de células B esplénicas murinas obtenidas de los ratones inmunizados con un antígeno de interés, por ejemplo, en forma de células que expresan en antígeno en la superficie, o un ácido nucleico que codifica un antígeno de interés. Los anticuerpos monoclonales se pueden obtener también de hibridomas derivados de células que expresan el anticuerpo de seres humanos inmunizados o mamífero no humanos tales como ratas, perros, primates, etc.
- 20 En una realización, el anticuerpo de la invención es un anticuerpo humano. Los anticuerpos monoclonales humanos dirigidos contra c-Met se pueden generar utilizando ratones transgénicos o transcromosómicos que tienen partes del sistema inmunitario humano más que sistema de ratón. Dichos ratones transgénicos y transcromosómicos incluyen los ratones a los que se hace referencia en el presente documento como ratones HuMab y ratones KM,
- 25 respectivamente, y a los que se hace referencia colectivamente en el presente documento como "ratones transgénicos".
- El ratón HuMab que contiene miniloci genéticos de inmunoglobulina humana que codifican secuencias de inmunoglobulina de cadena pesada (μ y γ) y de cadena ligera κ humanas no reordenadas, junto con mutaciones
- 30 dirigidas que inactivan los loci de cadena μ y κ (Lonberg, N. et al., Nature 368, 856-859 (1994)). En consecuencia, los ratones que presentan una expresión reducida de IgM de ratón o κ y en respuesta a la inmunización, los transgenes de cadena pesada y cadena ligera humanas introducidos, se someten a un cambio de mutación somática para generar anticuerpos monoclonales IgG, κ humanos de alta afinidad (Lonberg, N. et al. (1994), *supra*;
- 35 revisado en Lonberg, N. Handbook of Experimental Pharmacology 113, 49-101 (1994), Lonberg, N. y Huszar, D., Intern. Rev. Immunol. Vol. 13 65-93 (1995) y Harding, F. y Lonberg, N. Ann. N.Y. Acad. Sci 764 536-546 (1995)). La preparación de ratones HuMab se describe en detalle en Taylor, L. et al., Nucleic Acids Research 20, 6287-6295 (1992), Chen, J. et al., International Immunology 5, 647-656 (1993), Tuaille et al., J. Immunol. 152, 2912-2920 (1994), Taylor, L. et al., International Immunology 6, 579-591 (1994), Fishwild, D. et al., Nature Biotechnology 14,
- 40 845-851 (1996). Véase también los documentos US 5.545.806, US 5.569.825, US 5.625.126, US 5.633.425, US 5.789.650, US 5.877.397, US 5.661.016, US 5.814.318, US 5.874.299, US 5.770.429, US 5.545.807, WO 98/24884, WO 94/25585, WO 93/1227, WO 92/22645, WO 92/03918 y WO 01/09187.
- Los ratones HCo7 tienen una alteración JKD en sus genes de cadena ligera endógenos (κ) (como se describe en Chen et al., EMBO J. 12, 821-830 (1993)), una alteración CMD en sus genes de cadena pesada endógenos
- 45 (como se describe en el Ejemplo 1 del documento WO 01/14424), un transgén KCo5 de cadena ligera κ humana (como se describe en Fishwild et al., Nature Biotechnology 14, 845-851 (1996)), y un transgén HCo7 de cadena pesada humana (como se describe en el documento US 5.770.429).
- Los ratones HCo12 tienen una alteración JKD en sus genes de cadena ligera (κ) endógenos (como se describe en Chen et al., EMBO J. 12, 821-830 (1993)), una alteración CMD en sus genes de cadena pesada endógenos
- 50 (como se describe en el Ejemplo 1 del documento WO 01/14424), un transgén KCo5 de cadena ligera κ humana (como se describe en Fishwild et al., Nature Biotechnology 14, 845-851 (1996)), y un transgén HCo12 de cadena pesada humana (como se describe en el Ejemplo 2 del documento WO 01/14424).
- 55 En la estirpe de ratón K, el gen de cadena ligera κ endógena de ratón se ha alterado homocigóticamente como se describe en Chen et al., EMBO J. 12, 811-820 (1993) y el gen de cadena pesada endógena de ratón se ha alterado homocigóticamente como se describe en el Ejemplo 1 del documento WO 01/09187. Esta estirpe de ratón tiene un transgén de cadena ligera κ humana, KCo5, como se describe en Fishwild et al., Nature Biotechnology 14, 845-851 (1996). Esta estirpe de ratón también tiene un transcromosoma de cadena pesada humana compuesto
- 60 por un fragmento hCF (SC20) del cromosoma 14 como se describe en el documento WO 02/43478.
- Los esplenocitos de estos ratones transgénicos se pueden utilizar para generar hibridomas que secreten anticuerpos monoclonales humanos de acuerdo con técnicas bien conocidas.
- 65 Adicionalmente, los anticuerpos humanos de la presente invención o anticuerpos de la presente invención de otras especies se pueden identificar mediante tecnologías tipo presentación, que incluyen, sin limitación, presentación en

fagos, presentación retroviral, presentación ribosómica, y otras técnicas, utilizando técnicas bien conocidas en la técnica y las moléculas resultantes se pueden someter a maduración adicional tal como maduración por afinidad, como dichas técnicas son bien conocidas en la técnica (véase por ejemplo, Hoogenboom et al., J. Mol. Biol. 227, 381 (1991) (presentación en fagos), Vaughan et al., Nature Biotech 14, 309 (1996) (presentación en fagos), Hanes y Plutchau, PNAS USA 94, 4937-4942 (1997) (presentación ribosómica), Parmley y Smith, Gene 73, 305-318 (1988) (presentación en fagos), Scott TIBS 17, 241-245 (1992), Cwirla et al., PNAS USA 87, 6378-6382 (1990), Russel et al., Nucl. Acids Research 21, 1081-1085 (1993), Hogenboom et al., Immunol. Reviews 130, 43-68 (1992), Chiswell y McCafferty TIBTECH 10, 80-84 (1992), y documento US 5.733.743). Si se utilizan las tecnologías presentadas para producir anticuerpos que no son humanos, dichos anticuerpos pueden ser humanizados.

En una realización, el anticuerpo de la invención es de un isotipo IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgA, IgE, o IgM.

También se desvelan en el presente documento anticuerpos que compiten por la unión con el cMetECDHis soluble con un anticuerpo inmovilizado, donde dicho anticuerpo inmovilizado comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 33 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 37 (**024**), preferentemente donde el anticuerpo compite por más de un 50 %, tal como más de un 75 % con dicho anticuerpo inmovilizado, cuando se determina como se describe en el Ejemplo 17.

En una divulgación adicional, el anticuerpo no compite por la unión con el cMetECDHis soluble con un anticuerpo seleccionado de entre el grupo que consiste en:

- a) un anticuerpo inmovilizado que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 1 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 5 (**005**)
- b) un anticuerpo inmovilizado que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 17 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 21 (**008**)
- c) un anticuerpo inmovilizado que comprende la región VH y la región VL del anticuerpo **5D5**, y
- d) un anticuerpo inmovilizado que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 49 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 53 (**045**),

preferentemente, donde el anticuerpo compite por menos del 25 %, tal como menos del 20 % con dicho anticuerpo inmovilizado, cuando se determina como se describe en el Ejemplo 17.

En una divulgación adicional, el anticuerpo se une al mismo epítipo que un anticuerpo seleccionado de entre el grupo que consiste en:

- a) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 33 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 37 (**024**)
- b) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 65 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 69 (**061**)
- c) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 73 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 77 (**062**)
- d) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 81 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 85 (**064**)
- e) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 89 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 93 (**068**)
- f) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 97 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 101 (**069**)
- g) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 113 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 117 (**098**)
- h) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 121 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 125 (**101**), y
- i) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 129 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 133 (**181**).

En una realización adicional el anticuerpo comprende una región CDR3 de VH que tiene la secuencia que se expone en

- a) SEQ ID NO: 36 (**024**)
- b) SEQ ID NO: 193, tal como una región CDR3 de VH como se expone en SEQ ID NO: 68, 76, 84 o 92 (**061, 062, 064, 068**)
- c) SEQ ID NO: 196, tal como una región CDR3 de VH como se expone en SEQ ID NO: 100 o 132 (**069, 181**)
- d) SEQ ID NO: 116 (**098**), o
- e) SEQ ID NO: 201, tal como una región CDR3 de VH como se expone en SEQ ID NO: 124 (**101**).

En una divulgación adicional, el anticuerpo comprende:

a) una región VH que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 34, 185 y 36 y una región VL que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 38, 39 y 206, tal como un anticuerpo que comprende una región VH que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 34, 35 y 36 y una región VL que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 38, 39 y 40, **(024)**

5 b) una región VH que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 191, 192 y 193 y una región VL que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 78, 79 y 208, tal como un anticuerpo que comprende

10 a. una región VH que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 66, 67 y 68 y una región VL que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 70, 71 y 72 **(061)**

b. una región VH que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 74, 75 y 76 y una región VL que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 78, 79 y 80, **(062)**

15 c. una región VH que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 82, 83 y 84 y una región VL que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 86, 87 y 88, **(064)**, o

d. una región VH que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 90, 91 y 92 y una región VL que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 94, 95 y 96, **(068)**

20 c) una región VH que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 194, 195 y 196 y una región VL que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 209, 210 y 104, tal como un anticuerpo que comprende

a. una región VH que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 98, 99 y 100 y una región VL que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 102, 103 y 104, **(069)**, o

25 b. una región VH que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 130, 131 y 132 y una región VL que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 134, 135 y 136, **(181)**

30 d) una región VH que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 197, 198 y 116 y una región VL que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 118, 119 y 211, tal como un anticuerpo que comprende una región VH que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 114, 115 y 116 y una región VL que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 118, 119 y 120 **(098)**, o

e) una región VH que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 199, 200 y 201 y una región VL que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 126, 212 y 128, tal como un anticuerpo que comprende una región VH que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 122, 123 y 124 y una región VL que comprende las secuencias de las CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 126, 127 y 128 **(101)**.

35 En una realización adicional, el anticuerpo comprende:

a) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 33 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 37 **(024)**

40 b) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 61 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 69 **(061)**

c) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 73 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 77 **(062)**

45 d) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 81 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 85 **(064)**

e) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 89 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 93 **(068)**

50 f) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 97 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 101 **(069)**

g) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 113 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 117 **(098)**

h) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 121 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 125 **(101)**

55 i) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 129 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 133 **(181)**

j) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 159 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 160 **(078)**

k) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 161 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 162 **(084)**

60 l) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 163 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 164 **(063)**

m) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 165 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 166 **(087)**

65 n) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 137 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 138 **(066)**

o) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 139 y, preferentemente, una región VL que

comprende la secuencia de SEQ ID NO: 140 **(065)**

p) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 141 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 142 **(082)**

5 q) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 143 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 144 **(089)**, o

r) una variante de cualquiera de dichos anticuerpos, donde dicha variante tiene preferentemente como mucho 1, 2, o 3 modificaciones de aminoácidos, más preferentemente sustituciones de aminoácidos, tales como sustituciones conservadoras de aminoácidos en dichas secuencias.

10 En una realización, el anticuerpo comprende una región VH que comprende la secuencia de CDR3 de SEQ ID NO: 100 y una región VL que comprende la secuencia CDR3 de SEQ ID NO: 104, **(069)**.

15 En una realización el anticuerpo comprende una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 98, 99 y 100 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 102, 103 y 104, **(069)**.

En una realización, el anticuerpo comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 97 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 101 **(069)**.

20 También se desvela en el presente documento donde:

- el anticuerpo compite por la unión con el cMetECDHis soluble con un anticuerpo inmovilizado, donde dicho anticuerpo inmovilizado comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 9 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 12 **(006)**, preferentemente donde el anticuerpo compite por más del 50 %, tal como más del 75 % con dicho anticuerpo inmovilizado, cuando se determina como se describe en el Ejemplo 17,

25 y
- el anticuerpo no compite por la unión con el cMetECDHis soluble con un anticuerpo inmovilizado que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 49 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 53 **(045)**, preferentemente donde el anticuerpo compite menos de un 50 %, por ejemplo, menos de un 25 %, tal como menos de un 20 % con dicho anticuerpo inmovilizado, cuando se determina como se describe en el Ejemplo 17.

30 y
35 en una realización de la invención, el anticuerpo se une al dominio SEMA de c-Met, preferentemente donde el anticuerpo es capaz de inhibir la unión del HGF al dominio SEM con una CI50 de menos de 10 µg/ml, tal como menos de 2 µg/ml como se describe en el Ejemplo 18.

40 También se desvelan en el presente documento anticuerpos que no compiten por la unión con el cMetECDHis soluble con un anticuerpo inmovilizado que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 33 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 37 **(024)**, preferentemente donde el anticuerpo compite por menos del 25 %, tal como menos del 20 % con dicho anticuerpo inmovilizado, cuando se determina como se describe en el Ejemplo 17.

45 También se desvelan en el presente documento anticuerpos que se unen al mismo epítipo que el anticuerpo seleccionado de entre el grupo que consiste en:

a) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 1 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 5 **(005)**

50 b) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 9 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 13 **(006)**

c) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 25 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 29 **(022)**, y

55 d) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 57 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 61 **(058)**.

En una realización adicional, el anticuerpo comprende una región CDR3 de VH que tiene la secuencia que se expone en

60 a) SEQ ID NO: 181, tal como una región CDR3 como se expone en SEQ ID NO: 4 o 12 **(005, 006)**

b) SEQ ID NO: 28 **(022)**, o

c) SEQ ID NO: 60 **(058)**.

También se desvelan en el presente documento anticuerpos que comprenden:

65 a) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 179, 180 y 181 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 6, 7 y 202, tal como un anticuerpo que

comprende

- 5 a. una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 2, 3 y 4 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 6, 7 y 8, **(005)**, o
- b. una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 10, 11 y 12 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 14, 15 y 16, **(006)**
- 10 b) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 26, 184 y 28 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 30, 31 y 205, tal como un anticuerpo que comprende una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 26, 27 y 28 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 30, 31 y 32 **(022)**, o
- c) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 189, 190 y 60 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 62, 63 y 207, tal como un anticuerpo que comprende una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 58, 59 y 60 y una
- 15 región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 62, 63 y 64 **(058)**

Se desvelan adicionalmente anticuerpos que comprenden:

- 20 a) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 1 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 5 **(005)**
- b) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 9 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 13 **(006)**
- 25 c) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 25 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 29 **(022)**
- d) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 57 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 61 **(058)**
- e) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 145 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 146 **(031)**
- 30 f) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 147 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 148 **(007)**
- g) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 149 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 150 **(011)**
- h) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 151 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 152 **(017)**
- 35 i) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 153 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 154 **(025)**, o
- j) una variante de cualquiera de dichos anticuerpos, donde dicha variante tiene preferentemente como mucho 1, 2 o 3 modificaciones de aminoácidos, más preferentemente sustituciones de aminoácidos, tales como sustituciones conservadoras de aminoácidos en dichas secuencias.

40 Se desvelan adicionalmente en el presente documento, anticuerpos donde:

- 45 - el anticuerpo compite por la unión con el cMetECDHis soluble con un anticuerpo inmovilizado, donde dicho anticuerpo inmovilizado comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 49 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 53 **(045)**, preferentemente donde el anticuerpo compite más de un 50 %, por ejemplo, más de un 75 %, con dicho anticuerpo inmovilizado, cuando se determina como se describe en el Ejemplo 17.
- y
- 50 - el anticuerpo no compite por la unión con el cMetECDHis soluble con un anticuerpo inmovilizado, donde dicho anticuerpo inmovilizado comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 9 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 13 **(006)**, preferentemente donde el anticuerpo compite por menos del 25 %, tal como menos de un 20 % con dicho anticuerpo inmovilizado, cuando se determina como se describe en el Ejemplo 17.

55 En un aspecto adicional, el anticuerpo no compite por la unión con el cMetECDHis soluble con un anticuerpo seleccionado de entre el grupo que consiste en:

- 60 a) un anticuerpo inmovilizado que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 17 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 21 **(008)**, y
- b) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 33 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 37 **(024)**,

preferentemente donde el anticuerpo compite por menos del 25 %, tal como menos de un 20 % con dicho anticuerpo inmovilizado, cuando se determina como se describe en el Ejemplo 17.

65

En un aspecto adicional, el anticuerpo inmovilizado que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 49 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 53 **(045)**.

5 En un aspecto adicional, el anticuerpo comprende una región CDR3 de VH que tiene la secuencia que se expone en la SEQ ID NO: 188, tal como una región CDR3 de VH como se expone en la SEQ ID NO: 52 **(045)**.

10 En un aspecto adicional, el anticuerpo comprende una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 186, 187 y 188 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 54, 55 y 56, tal como un anticuerpo que comprende una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 50, 51 y 52 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 54, 55 y 56 **(045)**.

En un aspecto adicional, el anticuerpo comprende:

- 15 a) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 49 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 53 **(045)**
 b) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 155 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 156 **(040)**
 c) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 157 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 158 **(039)**, o
 20 d) una variante de cualquiera de dichos anticuerpos, donde dicha variante tiene preferentemente como mucho 1, 2, o 3 modificaciones de aminoácidos, más preferentemente sustituciones de aminoácidos, tales como sustituciones conservadoras de aminoácidos en dichas secuencias.

25 En un aspecto adicional, el anticuerpo se une al dominio SEMA de c-Met, preferentemente donde el anticuerpo es capaz de inhibir la unión del HGF al dominio SEMA con una CI₅₀ menor de 10 µg/ml, tal como menos de 2 µg/ml como se describe en el Ejemplo 18.

30 En otro aspecto del anticuerpo de la divulgación, el anticuerpo se une al mismo epítipo como un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 17 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 21 **(008)** o se une al mismo epítipo que un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 41 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 45 **(035)** o se une al mismo epítipo que un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 105 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 109 **(096)**.

35 En un aspecto adicional, el anticuerpo comprende una región CDR3 de VH que tiene la secuencia que se expone en la SEQ ID NO: 183, tal como una región CDR3 de VH que se expone en la SEQ ID NO: 20, 44 o 108 **(008, 035, 096)**.

40 En un aspecto adicional, el anticuerpo comprende una región VH que comprende secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 18, 182 y 183 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 22, 203 y 204, tal como un anticuerpo que comprende:

- 45 a) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 18, 19 y 20 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 22, 23 y 24, **(008)**, o
 b) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 42, 43 y 44 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 46, 47 y 48, **(035)**, o
 c) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 106, 107 y 108 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 110, 111 y 112, **(096)**.

50 En un aspecto adicional, el anticuerpo comprende:

- a) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 17 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 21 **(008)**
 55 b) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 41 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 45 **(035)**
 c) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 105 y, preferentemente, una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 109 **(096)**,
 o
 60 d) una variante de cualquiera de dichos anticuerpos, donde dicha variante tiene preferentemente como mucho 1, 2, o 3 modificaciones de aminoácidos, más preferentemente sustituciones de aminoácidos, tales como sustituciones conservadoras de aminoácidos en dichas secuencias.

En una realización adicional, el anticuerpo se une a las células A431 con una CE₅₀ de 10 nM o menos, tal como una CE₅₀ de 2 nM o menos, preferentemente como se determina de acuerdo con el Ejemplo 13.

65

En una realización adicional más, el anticuerpo se une al c-Met con una constante de afinidad (K_D) de 10 nM o menos, tal como una afinidad de 5 nM o menos, preferentemente como se determina de acuerdo con el Ejemplo 14.

5 En una divulgación adicional más, el anticuerpo se une al c-Met de Rhesus, preferentemente donde la señal del anticuerpo unido al c-Met de Rhesus es al menos 5 veces la del anticuerpo de control negativo, como se determina de acuerdo con el Ejemplo 15.

10 En una realización adicional más, el anticuerpo inhibe la unión del HGF al dominio extracelular del c-Met, preferentemente donde el anticuerpo inhibe la unión más de un 40 %, tal como más del 50 %, por ejemplo, más del 60 %, por ejemplo, más del 70 %, por ejemplo, más del 80 %, por ejemplo, más del 90 %, como se determina de acuerdo con el Ejemplo 16.

15 En una realización adicional más, el anticuerpo es capaz de inhibir la viabilidad de las células KP4, preferentemente donde el anticuerpo es capaz de inhibir la viabilidad de más del 10 %, tal como más del 25 %, por ejemplo, más del 40 %, preferentemente como se describen en el Ejemplo 19.

Formatos de anticuerpo

20 La presente divulgación proporciona anticuerpos anti-c-Met antagonistas y no antagonistas. Mientras que algunos anticuerpos actúan de manera antagonista en las células diana independientemente de si son monovalentes o bivalentes, para otros anticuerpos, el efecto funcional depende de la valencia. Como se muestra en el Ejemplo 19 del presente documento, los anticuerpos 024, 062, 064, 068, 069, 098, 101, 181 de la invención (que están todos en el mismo grupo de bloqueo cruzado véase el Ejemplo 17) tienen propiedades antagonistas en los ensayos de viabilidad de KP4 independientemente del formato. Los anticuerpos 022 y 058, por otra parte, se comportan de
25 manera antagonista en este ensayo en un formato monovalente, pero agonista (o al menos de manera no antagonista) en un formato bivalente. Por lo tanto, dependiendo de las propiedades funcionales deseadas para un uso particular, los anticuerpos particulares se pueden seleccionar de entre el conjunto de anticuerpos que se proporcionan en la presente divulgación y/o su formato se puede adaptar al cambio de valencia.

30 Además, el anticuerpo de la invención puede ser de cualquier isotipo. La elección del isotipo normalmente será guiada por las funciones efectoras deseadas, tales como la inducción de ADCC. Los isotipos ejemplares son IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. Se pueden utilizar cualquiera de las regiones constantes de cadena ligera humanas, kappa o lambda. Si se desea, la clase de un anticuerpo anti-c-Met de la presente invención se puede cambiar por métodos conocidos. Por ejemplo, un anticuerpo de la presente invención que era originalmente una IgM se puede cambiar de
35 clase a un anticuerpo IgG de la presente invención. Además, se pueden utilizar técnicas de cambio de clase para convertir una subclase de IgG en otra, por ejemplo, de IgG1 a IgG2. Por lo tanto, la función efectora de los anticuerpos de la presente invención se puede cambiar por cambio de isotipo a, por ejemplo, un anticuerpo IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgA, IgE, o IgM para los distintos usos terapéuticos. En una realización un anticuerpo de la presente invención es un anticuerpo IgG1, por ejemplo, una IgG1, κ .

40 La modulación negativa del c-Met inducida por anticuerpos antagonistas representa un mecanismo de acción de anticuerpo c-Met terapéuticos. En consecuencia, en un aspecto de la invención son deseables los anticuerpos con propiedades agonistas reducidas, pero que mantengan la capacidad para inducir una modulación negativa de c-Met.

45 Se ha descubierto que, reduciendo la flexibilidad conformacional de los anticuerpos, la potencial actividad agonista residual de los anticuerpos IgG1 bivalentes se minimiza.

50 En consecuencia, en una realización adicional, el anticuerpo de la invención se ha modificado para hacerlo menos flexible, tal como por mutaciones de la región bisagra.

Los mayores cambios conformacionales son el resultado de la flexibilidad de la bisagra, que permite un amplio intervalo de ángulos Fab-Fc (Ollmann Saphire, E., R.L. Stanfield, M.D.M. Crispin, P.W.H.I. Parren, P.M. Rudd, R.A. Dwek, D.R. Burton y I.A. Wilson. 2002. Contrasting IgG structures reveal extreme asymmetry y flexibility. J. Mol. Biol. 319: 9-18). Una manera de reducir la flexibilidad del brazo Fab en las inmunoglobulinas es evitar la formación de
55 enlaces disulfuro entre las cadenas ligera y pesada mediante una modificación genética. En un anticuerpo IgG1 natural la cadena ligera se conecta covalentemente con la cadena pesada mediante un enlace disulfuro, que conecta la cisteína del extremo C de la cadena ligera a la cisteína en la posición 220 (C220 en numeración EU) en la bisagra de la Fc de la cadena pesada. Mutando el aminoácido C220 a serina o cualquier otro aminoácido natural, eliminando el C220, eliminando la bisagra completa, o sustituyendo la bisagra de IgG1 con una bisagra IgG3, se
60 forma una molécula en la que las cadenas ligeras se conectas mediante sus cisteínas terminales, de manera análoga a la situación que se encuentra en el isotipo humano IgA2m (1). Esto da como resultado una flexibilidad reducida de los Fab con respecto al Fc y en consecuencia una reducción de la capacidad de entre cruzamiento, como se muestra en los Ejemplos.

65 Otra estrategia para reducir la flexibilidad de una molécula IgG1 es sustituir la bisagra IgG1 con la bisagra de IgG2 o una bisagra tipo IgG2 (Dangl et al. EMBO J. 1988; 7:1989-94). Esta región de bisagra tiene dos propiedades

distintas de la de IgG1, que se considera que hace a las moléculas menos flexibles. Primero, en comparación con la bisagra de IgG1, la bisagra de IgG2 es 3 aminoácidos más corta. Segundo, la bisagra IgG2 contiene una cisteína adicional, por lo tanto, se formarán tres en vez de dos puentes disulfuro entre las cadenas pesadas. De manera alternativa, se puede introducir una variante de la bisagra de IgG1 que se parezca a la bisagra de IgG2. Este mutante (TH7Δ6-9) (documento WO 2010063746) contiene la mutación T223C y dos eliminaciones (K222 y T225) con el fin de crear una bisagra más corta con una cisteína adicional.

En una realización adicional, el anticuerpo de la invención es del subtipo IgG1, en el que la región de la bisagra se ha modificado mediante:

- (i) eliminación de la región de la bisagra de secuencia EPKSCDKTHTCPPCP y se ha sustituido con la región de la bisagra de IgG2 de secuencia: ERKCCVECP (IgG1 Hinge-IgG2);
- (ii) eliminación de la posición 220 de manera que la región de bisagra modificada tiene la secuencia EPKSDKTHTCPPCP (IgG1 ΔC220);
- (iii) sustitución de la cisteína de la posición 220 con cualquier otro aminoácido natural (X) de manera que la región de la bisagra tiene la secuencia de EPKSXDKTHTCPPCP (IgG1 C220X);
- (iv) eliminación de la región de la bisagra de secuencia EPKSCDKTHTCPPCP (UniBody IgG1);
- (v) eliminación de la región de bisagra de secuencia EPKSCDKTHTCPPCP y sustitución con la región bisagra de la IgG3 de secuencia ELKTPGLDTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCP (IgG1 Hinge-IgG3);
- (vi) sustitución de la treonina en la posición 223 con cisteína, y eliminación de la lisina en la posición 222 y la treonina en la posición 225, de manera que la región de la bisagra tiene la secuencia de EPKSCDCHCPPCP (IgG1 TH7Δ6-9).

En una realización de la invención, el anticuerpo de la invención es del subtipo IgG1, en el que la región de la bisagra se ha modificado eliminando la posición 220 de manera que la región de la bisagra modificada tiene la secuencia EPKSDKTHTCPPCP (IgG1 ΔC220) o sustituyendo la cisteína en la posición 220 con cualquier otro aminoácido natural (X) de manera que la región de la bisagra modificada tiene la secuencia de EPKSXDKTHTCPPCP (IgG1 C220X).

En una realización adicional, el anticuerpo de la invención es del subtipo IgG1, en el que la región de la bisagra se ha modificado sustituyendo la cisteína de la posición 220 con serina de manera que la región de la bisagra modificada tiene la secuencia de EPKSSDKTHTCPPCP (IgG1 C220S).

En una divulgación adicional, el anticuerpo de la invención puede ser del subtipo IgG2.

Adicionalmente, el anticuerpo de la divulgación puede estar glico-modificado para reducir la fucosa y por lo tanto aumentar la ADCC, por ejemplo, mediante la adición de compuestos al medio de cultivo durante la producción del anticuerpo como se describe en el documento US2009317869 o como se describe en van Berkel et al. (2010) *Biotechnol. Bioeng.* 105:350 o utilizando células con inactivación de FUT8, por ejemplo, como se describe en Yamane-Ohnuki et al (2004) *Biotechnol. Bioeng.* 87:614. La ADCC se puede optimizar alternativamente utilizando el método descrito por Umaña et al. (1999) *Nature Biotech* 17:176.

En una realización, el anticuerpo comprende una región VH que comprende la secuencia de CDR3 de SEQ ID NO: 100 y una región VL que comprende la secuencia de CDR3 de SEQ ID NO: 104 (**069**) del subtipo IgG1, en el que la región de la bisagra se ha modificado sustituyendo la cisteína de la posición 220 con serina de manera que la región de la bisagra modificada tiene la secuencia de EPKSSDKTHTCPPCP (IgG1 C220S).

En una realización, el anticuerpo comprende una región VH que comprende la secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 98, 99 y 100 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 102, 103 y 104 (**069**) del subtipo IgG1, en el que la región de la bisagra se ha modificado sustituyendo la cisteína de la posición 220 con serina de manera que la región de la bisagra modificada tiene la secuencia de EPKSSDKTHTCPPCP (IgG1 C220S).

En una realización, el anticuerpo comprende una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 97 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 101 (**069**) del subtipo IgG1, en el que la región de la bisagra se ha modificado sustituyendo la cisteína de la posición 220 con serina de manera que la región de la bisagra modificada tiene la secuencia de EPKSSDKTHTCPPCP (IgG1 C220S).

Distintas publicaciones han demostrado la correlación entre la reducción de la fucosilación central y el aumento de actividad ADCC *in vitro* (Shields RL. 2002 *JBC*; 277:26733-26740, Shinkawa T. 2003 *JBC*; 278(5):3466-3473, Umaña P. *Nat Biotechnol.* 1999 feb;17(2):176-80).

En una realización adicional, el anticuerpo de la invención se ha modificado para reducir la fucosilación central por debajo del 10 %, tal como por debajo del 5 % como se determina con cromatografía de intercambio aniónico de altas prestaciones acoplada con una detección amperométrica pulsada (HPAEC-PAD). Esto se puede conseguir por

métodos bien conocidos en la técnica anterior, por ejemplo, el tratamiento con kifunensina o la producción en células negativas a FUT8.

5 Se desvela adicionalmente que el anticuerpo puede modificarse para aumentar la activación del complemento, por ejemplo, como se describe en Natsume et al. (2009) Cancer Sci. 100:2411.

10 En una realización, el anticuerpo de la invención es un anticuerpo de longitud completa, preferentemente un anticuerpo IgG1, en particular un anticuerpo IgG1, κ . También se desvela que el anticuerpo puede ser un fragmento de anticuerpo o un anticuerpo de cadena sencilla.

15 Los fragmentos de anticuerpo pueden obtenerse, por ejemplo, por fragmentación utilizando técnicas convencionales, y los fragmentos se exploran en cuanto a su utilidad de la misma manera que se describe en el presente documento para los anticuerpos completos. Por ejemplo, los fragmentos $F(ab')_2$ se pueden generar tratando el anticuerpo con pepsina. El fragmento $F(ab')_2$ resultante se puede tratar para reducir los puentes disulfuro para producir fragmentos Fab'. Los fragmentos Fab se pueden obtener tratando un anticuerpo IgG con papaína; los fragmentos Fab' se pueden obtener por digestión con pepsina de un anticuerpo IgG. Un fragmento $F(ab')$ también se puede producir uniendo el Fab' descrito posteriormente mediante un enlace tioéter o un enlace disulfuro. Un fragmento Fab es un fragmento de anticuerpo que se obtiene cortando un enlace disulfuro de la región bisagra del $F(ab')_2$. Un fragmento Fab' se puede obtener tratando un fragmento $F(ab')_2$ con un agente reductor, tal como el ditiotreitól. El fragmento de anticuerpo también se puede generar por expresión de ácidos nucleicos que codifiquen dichos fragmentos en células recombinantes (véase, por ejemplo, Evans et al., J. Immunol. Meth. 184, 123-38 (1995)). Por ejemplo, un gen quimérico que codifica una parte de un fragmento $F(ab')_2$ podría incluir secuencias de ADN que codifican el dominio C_{H1} y la región bisagra de la cadena H, seguido por un codón de parada traduccional para dar lugar a dicha molécula de fragmento de anticuerpo truncado.

25 Como se ha explicado anteriormente, en una realización, el anticuerpo anti-c-Met de la invención es un anticuerpo bivalente.

30 En otra realización, el anticuerpo anti-c-Met de la invención es un anticuerpo monovalente.

En una realización, el anticuerpo de la invención es un fragmento Fab o un anticuerpo de un brazo tal como se describe en el documento US 20080063641 (Genentech) u otro anticuerpo monovalente, por ejemplo, tal como se describe en el documento WO 2007048037 (Amgen).

35 En una realización preferida, un anticuerpo monovalente tiene la estructura que se describe en el documento WO 2007059782 (Genmab) que tiene una eliminación en la región de la bisagra. En consecuencia, en una realización, el anticuerpo es un anticuerpo monovalente, donde dicho anticuerpo anti-c-Met se construye por un método que comprende:

40 i) proporcionar una construcción de ácido nucleico que codifique la cadena ligera de dicho anticuerpo monovalente, comprendiendo dicha construcción una secuencia de nucleótidos que codifica una región VL de un anticuerpo anti-c-Met específico del antígeno seleccionado y una secuencia de nucleótidos que codifica la región constante CL de una Ig, en el que dicha secuencia de nucleótidos que codifica la región VL de un anticuerpo específico de un antígeno seleccionado y dicha secuencia de nucleótidos que codifica la región CL de una Ig están unidas operativamente juntas, y en el que, en caso de un subtipo IgG1, la secuencia de nucleótidos que codifica la región CL se ha modificado de manera que la región CL no contenga ningún aminoácido capaz de formar enlaces disulfuro o enlaces covalentes con otros péptidos que comprendan una secuencia de aminoácidos de la región CL idéntica en presencia de una IgG humana policlonal o cuando se administra a un animal o un ser humano;

50 ii) Proporcionar una construcción de ácido nucleico que codifique la cadena pesada de dicho anticuerpo monovalente, comprendiendo dicha construcción una secuencia de nucleótidos que codifique la región VH de un anticuerpo específico de un antígeno seleccionado y una secuencia de nucleótidos que codifique una región constante CH de una Ig humana, en el que la secuencia de nucleótidos que codifica la región CH se ha modificado de manera que la región correspondiente con la región de la bisagra y, según se necesite por el subtipo de Ig, otras regiones de la región CH, tal como la región CH3, no comprendan ningún resto de aminoácidos que participe en la formación de enlaces disulfuro o enlaces entre las cadenas pesadas no covalentes estables con otros péptidos que comprendan una secuencia de aminoácidos de la región CH idéntica de la Ig humana en presencia de IgG humanas o cuando se administran a un animal o ser humano, en el que dicha secuencia de nucleótidos que codifica la región VH de un anticuerpo específico de un antígeno seleccionado y dicha secuencia de nucleótidos que codifica la región CH de dicha Ig están unidas operativamente juntas;

55 iii) proporcionar un sistema de expresión celular para producir dicho anticuerpo monovalente;

60 iv) producir dicho anticuerpo monovalente co-expresando las construcciones de ácido nucleico de (i) y (ii) en células del sistema de expresión celular de (iii).

65

De manera similar, en una realización, el anticuerpo anti-c-Met es un anticuerpo monovalente que comprende

(i) una región variable de un anticuerpo de la invención como se describe en el presente documento o una parte de unión al antígeno de dicha región, y (ii) una región C_H de una inmunoglobulina o un fragmento de la misma que comprende las regiones C_{H2} y C_{H3}, donde la región C_H o fragmento de la misma se ha modificado de manera que la región correspondiente a la región de la bisagra y, si la inmunoglobulina no es del subtipo IgG4, otras regiones de la región C_H, tales como la región C_{H3}, no comprende ningún resto de aminoácido que sea capaz de formar enlaces disulfuro con una región C_H idéntica u otros enlaces entre cadenas pesadas no covalentes estables con una región C_H idéntica en presencia de una IgG policlonal humana.

En una realización adicional de los mismos, la cadena pesada del anticuerpo anti-c-Met monovalente se ha modificado de manera que se ha eliminado la región de la bisagra completa.

En una realización adicional, dicho anticuerpo monovalente es del subtipo IgG4, pero la región C_{H3} se ha modificado de manera que se han hecho una o más de las siguientes sustituciones de aminoácidos:

KABAT*	Índice EU G4*	Numeración de mutaciones de CH3
		Mutaciones
E378	E357	E357A o E357T o E357V o E357I
S387	S364	S364R o S364K
T389	T366	T366A o T366R o T366K o T366N
L391	L368	L368A o L368V o L368E o L368G o L368S o L368T
D427	D399	D399A o D399T o D399S
F436	F405	F405A o F405L o F405T o F405D o F405R o F405Q o F405K o F405Y
Y438	Y407	Y407A o Y407E o Y407Q o Y407K o Y407F
F436 y Y438	F405 y Y407	(F405T y Y407E) o (F405D y Y407E)
D427 y Y438	D399 y Y407	(D399S y Y407Q) o (D399S y Y407K) o (D399S y Y407E)

*KABAT indica la numeración de aminoácidos de acuerdo con Kabat (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). Índice EU indica la numeración de aminoácidos de acuerdo con el índice EU como se señala en Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)).

También se desvela en el presente documento que la secuencia de dicho anticuerpo monovalente se puede modificar de manera que no comprenda ningún sitio receptor para la glicosilación unida a N.

Los anticuerpos anti-c-Met de la divulgación también incluyen anticuerpo de cadena sencilla. Los anticuerpos de cadenas sencilla son péptidos en los que las regiones Fv de cadena pesada y ligera están conectados. La presente divulgación proporcionar un Fv de cadena sencilla (scFv) en el que las cadenas pesada y ligera del Fv de un anticuerpo anti-c-Met de la presente divulgación están unidas con un enlazador peptídico flexible (normalmente de aproximadamente 10, 12, 15 o más restos de aminoácido) en una cadena peptídica sencilla. Los métodos para la producción de dichos anticuerpos se describen por ejemplo en el documento US 4.946.778, Pluckthun en The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg y Moore eds. Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994), Bird et al., Science 242, 423-426 (1988), Huston et al., PNAS USA 85, 5879-5883 (1988) y McCafferty et al., Nature 348, 552-554 (1990). El anticuerpo de cadena sencilla puede ser monovalente si solo se utilizan una V_H y una V_L, bivalente, si se utilizan dos V_H y V_L, o polivalente, si se utilizan más de dos V_H y V_L.

En una realización, el anticuerpo anti-c-Met de la invención, es un anticuerpo deficiente en una función efectora. En una realización, el anticuerpo anti-c-Met deficiente en una función efectora es un anticuerpo IgG4 estabilizado, que se ha modificado para evitar el intercambio del brazo Fab (van der Neut Kofschoten et al. (2007) Science 317(5844):1554-7). Ejemplos de anticuerpos IgG4 estabilizados son anticuerpos, en los que la arginina de la posición 409 de una región constante de cadena pesada de la IgG4 humana, que se indica en el índice EU como en Kabat et al., se sustituye con lisina, treonina, metionina, o leucina, preferentemente lisina (descrito en el documento WO 2006033386 (Kirin)) y/o en el que la región de la bisagra se ha modificado para comprender una secuencia Cys-Pro-Cys.

Adicionalmente se desvela que el anticuerpo anti-c-Met IgG4 estabilizado puede ser un anticuerpo IgG4 que comprende una cadena pesada y una cadena ligera, donde dicha cadena pesada comprende una región constante de IgG4 humana que tiene un resto seleccionado de entre el grupo que consiste en : Lys, Ala, Thr, Met y Leu en la posición correspondiente a 409 y/o un resto seleccionado de entre el grupo que consiste en: Ala, Val, Gly, Ile y Leu en la posición correspondiente a 405, en donde dicho anticuerpo comprende opcionalmente una o más sustituciones, eliminaciones y/o inserciones adicionales, pero no comprende una secuencia Cys-Pro-Cys en la región de la bisagra. Preferentemente, dicho anticuerpo comprende un resto de Lys o Ala en la posición

correspondiente a 409 o la región CH3 del anticuerpo se ha sustituido con la región CH3 de una IgG1 humana, una IgG2 humana o una IgG3 humana. Véase también el documento WO 2008145142 (Genmab).

5 En una divulgación adicional más el anticuerpo anti-c-Met IgG4 estabilizado es un anticuerpo IgG4 que comprende una cadena pesada y una cadena ligera ,donde dicha cadena pesada comprende una región constante de la IgG4 humana que tiene un resto seleccionado de entre el grupo que consiste en: Lys, Ala, Thr, Met y Leu en la posición correspondiente a 409 y/o un resto seleccionado de entre el grupo que consiste en: Ala, Val, Gly, Ile y Leu en la posición correspondiente a 405, y donde dicho anticuerpo comprende opcionalmente una o más sustituciones, eliminaciones y/o inserciones adicionales y donde dicho anticuerpo comprende una secuencia Cys-Pro-Pro-Cys en la región de bisagra. Preferentemente, dicho anticuerpo comprende un resto de Lys o Ala en la posición correspondiente a la 409 o la región CH3 el anticuerpo se ha remplazado por la región CH3 de la IgG1 humana, de la IgG2 humana o de la IgG3 humana.

15 En una divulgación adicional, el anticuerpo anti-c-Met deficiente en una función efectora puede ser un anticuerpo de tipo no IgG4, por ejemplo, IgG1, IgG2 o IgG3 que se ha mutado de manera que se ha reducido la capacidad para mediar funciones efectoras, tales como la ADCC, o incluso se ha eliminado. Dichas mutaciones se han descrito por ejemplo en Dall'Acqua WF et al., J Immunol. 177(2):1129-1138 (2006) y Hezareh M, J Virol. ;75(24):12161-12168 (2001).

20 Conjugados

En una realización adicional, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-c-Met conjugado con un resto terapéutico, tal como una citotoxina, un fármaco quimioterápico, un inmunosupresor, o un radioisótopo. Se hace referencia a dichos conjugados en el presente documento como "inmunoconjugados". Se hace referencia a los inmunoconjugados que incluyen una o más citotoxinas como "inmunotoxinas".

Una citotoxina o agentes citotóxico incluye cualquier agente que es perjudicial (por ejemplo, destruye) para las células. Los agentes terapéuticos adecuados para formar inmunoconjugados de la presente invención incluyen taxol, citocalasina B, gramicidina D, bromuro de etidio, emetina, mitomicina, etopósido, tenopósido, vincristina, vinblastina, colchicina, doxorubicina, daunorrubicina, dihidroxi antracina, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-deshidro-testosterona, glucocorticoides, procaína, tetracaína, lidocaína, propranolol, y puromicina, antimetabolitos (tales como metotrexato, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, citarabina, fludarabina, 5-fluorouracilo, decarbazina, hidroxiurea, asparaginasa, gemcitabina, cladribina), agentes alquilantes (tales como mecloretamina, tiotepa, clorambucilo, melfalan, carmustina (BSNU), lomustina (CCNU), ciclofosfamida, busulfan, dibromomanitol, estreptoizotocina, dacarbazina (DTIC), procarbazona, mitomicina C, cisplatino y otros derivados del platino, tales como carboplatino), antibióticos (tales como dactinomicina (anteriormente actinomicina), bleomicina, daunorrubicina (anteriormente daunomicina), doxorubicina, idarrubicina, mitramicina, mitomicina, mitoxantrona, plicamicina, antramycin (AMC)), toxina diftérica y moléculas relacionadas (tales como cadena A diftérica y fragmentos activos de la misma y moléculas híbridas), toxina del ricino (tales como ricino A o una toxina de cadena A de ricino desglucosilada), toxina del cólera, una toxina tipo Shiga (SLT-I, SLT-II, SLT-IV), toxina LT, toxina C3, toxina Shiga, toxina pertussis, toxina tetánica, inhibidor de Bowman-Birk proteasa de la soja, exotoxina de Pseudomonas, alorina, saporina, modeccina, gelanina, cadena A de abrina, cadena A de modeccina, alfa-sarcina, proteínas de *Aleurites fordii*, proteínas diantina, proteínas de *Fitolacca americana* (PAPI, PAPII, y PAP-S), inhibidor de *Momordica charantia*, curcina, crotina, inhibidor de *Saponaria officinalis*, toxinas gelonina, mitogelina, restrictocina, fenomicina, y enomicina. Otras moléculas conjugadas adecuadas incluyen ribonucleasa (RNasa), DNasa I, enterotoxina-A Estafilocócica, proteína antivírica de ombú, toxina diftérica, y endotoxina de Pseudomonas. Véase, por ejemplo, Pastan et al., Cell 47, 641 (1986) y Goldenberg, Calif. A Cancer Journal for Clinicians 44, 43 (1994). Los agentes terapéuticos, que se pueden administrar en combinación con un anticuerpo anti-c-Met de la presente invención como se describe en cualquier sitio del presente documento, también pueden ser candidatos a restos terapéuticos útiles para la conjugación con un anticuerpo de la presente invención.

Un anticuerpo anti-c-Met de la divulgación puede comprender un ácido nucleico conjugado o una molécula asociada con un ácido nucleico. En una de dichas facetas de la presente divulgación, el ácido nucleico conjugado es una ribonucleasa citotóxica, un ácido nucleico antisentido, una molécula inhibidora del ARN (por ejemplo, una molécula de ARNip) o un ácido nucleico inmunoestimulante (por ejemplo, una molécula de ADN que contiene un motivo CpG inmunoestimulante) Adicionalmente, un anticuerpo anti-c-Met de la divulgación puede conjugarse con un aptámero o una ribozima.

La divulgación también proporciona anticuerpos anti-c-Met que comprenden uno o más aminoácidos radiomarcados. Un anticuerpo anti-c-Met radiomarcado se puede utilizar con fines tanto diagnósticos como terapéuticos (la conjugación con moléculas radiomarcadas es otra posible característica). Ejemplos no limitantes de marcadores para polipéptidos incluyen ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , y ^{125}I , ^{131}I , y ^{186}Re .

Los anticuerpos anti-c-Met también se pueden modificar químicamente por conjugación covalente con un polímero para, por ejemplo, aumentar su semivida circulante. Los polímeros ejemplares y los métodos para unirlos a los péptidos se ilustran, por ejemplo, en los documentos US 4.766.106, US 4.179.337, US 4.495.285 y US 4.609.546.

Los polímeros adicionales incluyen polioles polioxiethylados y polietilenglicol (PEG) (por ejemplo, un PEG con un peso molecular de entre aproximadamente 1.000 y aproximadamente 40.000, tal como entre aproximadamente 2.000 y aproximadamente 20.000).

- 5 Se puede emplear cualquier método conocido en la técnica para la conjugación del anticuerpo anti-c-Met con la molécula(s) conjugada(s), tal como los descritos anteriormente, incluyendo los métodos descritos por Hunter et al., Nature 144, 945 (1962), David et al., Biochemistry 13, 1014 (1974), Pain et al., J. Immunol. Meth. 40, 219 (1981) y Nygren, J. Histochem. y Cytochem. 30, 407 (1982). Dichos anticuerpos se pueden producir conjugando químicamente el otro resto al lado del extremo N o el lado del extremo C del anticuerpo anti-c-Met o un fragmento del mismo (por ejemplo, una cadena H o L del anticuerpo anti-c-Met) (véase, por ejemplo, Antibody Engineering Handbook, editado por Osamu Kanemitsu, publicado por Chijin Shokan (1994)). Dichos derivados del anticuerpo conjugado también se pueden generar por conjugación con restos internos de azúcares, cuando sea apropiado. Los agentes se pueden acoplar directamente o indirectamente a un anticuerpo anti-c-Met de la presente invención. Un ejemplo de acoplamiento indirecto es el acoplamiento mediante un resto espaciador. El anticuerpo anti-c-Met de la presente divulgación se puede unir a un enlazador quelante, por ejemplo, tiuxetan, que permite que el anticuerpo se conjugue con un radioisótopo.

Anticuerpos biespecíficos

- 20 En un aspecto adicional, la invención se refiere a una molécula biespecífica que comprende un primer sitio de unión al antígeno de un anticuerpo anti-c-Met de la invención como se ha descrito anteriormente en el presente documento y un segundo sitio de unión al antígeno con una especificidad de unión diferente, tal como una especificidad de unión por una célula efectora humana, un receptor de Fc humano, un receptor de célula T, un receptor de célula B o una especificidad de unión por un epítipo no solapado de c-Met, es decir, un anticuerpo biespecífico donde el primer y segundo sitio de unión al antígeno no compiten por la unión a c-Met, por ejemplo, cuando se ensaya como se describe en el Ejemplo 17.

- Las moléculas de anticuerpo biespecífico ejemplares de la divulgación comprenden (i) dos anticuerpos uno con una especificidad para el c-Met y el otro a una segunda diana que se conjugan juntos, (ii) un anticuerpo sencillo que tiene una cadena o brazo específico de c-Met y una segunda cadena o brazo específico de una segunda molécula, y (iii) un anticuerpo de cadena sencilla que tiene especificidad para el c-Met y una segunda molécula. La segunda molécula puede ser un antígeno asociado a un tumor/antígeno del cáncer tal como el antígeno carcinoembrionario (CEA), antígeno específico de próstata (PSA), RAGE (antígeno renal), α -fetoproteína, CAMEL (antígeno sobre un melanoma reconocido por CTL), antígenos CT (tales como MAGE-B5, -B6, -C2, -C3, y D; Mage-12; CT10; NY-ESO-1, SSX-2, GAGE, BAGE, MAGE, y SAGE), antígenos de mucina (por ejemplo, MUC1, mucin-CA125, etc.), antígenos de gangliósidos, tirosinasa, gp75, C-myc, Marti, MelanA, MUM-1, MUM-2, MUM-3, HLA-B7, Ep-CAM o una integrina asociada al cáncer tal como la integrina $\alpha 5\beta 3$. Se desvela adicionalmente que la segunda molécula puede ser un factor angiogénico u otro factor de crecimiento asociado al cáncer, tal como un factor de crecimiento endotelial vascular, un factor de crecimiento de fibroblastos, un factor de crecimiento epidérmico, angiogenina o un receptor de cualquiera de estos, particularmente los receptores asociados con la progresión del cáncer (por ejemplo, uno de los receptores de HER1-HER4). Un anticuerpo biespecífico de la presente invención puede ser un diacuerpo.

Secuencias de ácido nucleico, vectores y células huésped

- 45 En un aspecto adicional, la invención se refiere a secuencias de ácido nucleico tales como secuencias de ADN, que codifican cadenas pesadas y ligeras de un anticuerpo de la invención.

- Adicionalmente se desvelan secuencias de ácido nucleico que codifican una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 1, 5, 9, 13, 17, 21, 25, 29, 33, 37, 41, 45, 49, 53, 57, 61, 65, 69, 73, 77, 81, 85, 89, 93, 97, 101, 105, 109, 113, 117, 121, 125, 129, 133, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177 y 178.

- Adicionalmente se desvelan secuencias de ácido nucleico que codifican una secuencia de aminoácidos de la VH seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 1, 9, 17, 25, 33, 41, 49, 57, 65, 73, 81, 89, 97, 105, 113, 121, 129, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175 y 177.

- Adicionalmente se desvelan secuencias de ácido nucleico que codifican una secuencia de aminoácidos de la VL seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 5, 13, 21, 29, 37, 45, 53, 61, 69, 77, 85, 93, 101, 109, 117, 125, 133, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176 y 178.

- En un aspecto adicional más, la invención se refiere a un vector de expresión, o un conjunto de vectores de expresión, que codifican un anticuerpo de la invención. La cadena pesada y ligera del anticuerpo se pueden codificar por el mismo vector o por un vector diferente.

Dichos vectores de expresión se pueden utilizar para la producción recombinante de la invención.

Se desvela adicionalmente que el vector puede comprender una secuencia de nucleótidos que codifica una o más de las secuencias de aminoácidos seleccionadas de entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 1, 5, 9, 13, 17, 21, 25, 29, 33, 37, 41, 45, 49, 53, 57, 61, 65, 69, 73, 77, 81, 85, 89, 93, 97, 101, 105, 109, 113, 117, 121, 125, 129, 133, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177 y 178.

En otra divulgación, el vector puede comprender una secuencia de nucleótidos que codifica una o más de las secuencias de aminoácidos de la VH seleccionadas de entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 1, 9, 17, 25, 33, 41, 49, 57, 65, 73, 81, 89, 97, 105, 113, 121, 129, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175 y 177.

En otra divulgación, el vector puede comprender una secuencia de nucleótidos que codifica una o más de las secuencias de aminoácidos de la VL seleccionadas de entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 5, 13, 21, 29, 37, 45, 53, 61, 69, 77, 85, 93, 101, 109, 117, 125, 133, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176 y 178.

En una realización adicional, el vector de expresión comprende adicionalmente una secuencia de nucleótidos que codifica la región constante de una cadena ligera, una cadena pesada o ambas cadenas ligera y pesada de un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo humano. Un vector de expresión en el contexto de la presente invención puede ser cualquier vector adecuado, incluyendo cromosómicos, no cromosómicos, y vectores de ácidos nucleicos sintéticos (una secuencia de ácido nucleico que comprende un conjunto adecuado de elementos de control de la expresión). Ejemplos de dichos vectores incluyen derivados del SV40, plásmidos bacterianos, ADN de fagos, baculovirus, plásmidos de levaduras, vectores derivados de combinaciones de plásmidos y ADN de fagos y vectores de ácido nucleico vírico (ARN o ADN). En una realización, un ácido nucleico que codifica un anticuerpo anti-c-Met está comprendido en un vector de ADN o ARN desnudo, que incluye por ejemplo, un elemento de expresión lineal (como se describe, por ejemplo, en Sykes y Johnston, Nat Biotech 17, 355-59 (1997)), un vector de ácido nucleico compactado (como se describe, por ejemplo, en el documento US 6.077.835 y/o WO 00/70087), un vector plasmídico tal como pBR322, pUC 19/18, o pUC 118/119, un vector de ácido nucleico de tamaño mínimo "mosquito" (como se describe, por ejemplo, en Schakowski et al., Mol Ther 3, 793-800 (2001)), o como una construcción de vector de ácido nucleico precipitado, tal como la construcción precipitada CaP04 (como se describe por ejemplo, en el documento WO 00/46147, Benvenisty y Reshef, PNAS USA 83, 9551-55 (1986), Wigler et al., Cell 14, 725 (1978), y Coraro y Pearson, Somatic Cell Genetics 7, 603 (1981)). Dichos vectores de ácido nucleico y el uso de los mismos se conocen bien en la técnica (véase, por ejemplo, los documentos US 5.589.466 y US 5.973.972).

En una realización, el vector es adecuado para la expresión del anticuerpo anti-c-Met en una célula bacteriana. Ejemplos de dichos vectores incluyen los vectores de expresión tales como BlueScript (Stratagene), vectores pIN (Van Heeke & Schuster, J Biol Chem 264, 5503-5509 (1989), vectores pET (Novagen, Madison WI) y similares.

Un vector de expresión también o alternativamente puede ser un vector adecuado para la expresión en un sistema de levadura. Se puede emplear cualquier vector adecuado para la expresión en un sistema de levaduras. Los vectores adecuados incluyen, por ejemplo, los vectores que comprenden promotores constitutivos o inducibles tales como el factor alfa, alcohol oxidasa y PGH (revisado en: F. Ausubel et al., ed. Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing y Wiley InterScience New York (1987), y Grant et al., Methods in Enzymol 153, 516-544 (1987)).

Un vector de expresión también o alternativamente puede ser un vector adecuado para la expresión en células de mamífero, por ejemplo, un vector que comprende la glutamina sintetasa como un marcador genético, tal como los vectores descritos en Bebbington (1992) Biotechnology (NY) 10:169-175.

Un ácido nucleico y/o vector pueden comprender también una secuencia de ácido nucleico que codifica una secuencia de secreción/localización, que puede dirigirse a un polipéptido tal como una cadena de polipéptido nascente, al espacio periplásmico o en un medio de cultivo celular. Dichas secuencias se conocen en la técnica, e incluyen un líder de secreción o péptidos de señal.

En un vector de expresión de la invención, los ácidos nucleicos que codifican un anticuerpo anti-c-Met pueden comprender o asociarse con cualquier promotor, amplificador y otros elementos que faciliten la expresión adecuados. Ejemplos de dichos elementos incluyen los promotores de expresión fuertes (por ejemplo, el promotor/amplificador CMV IE humano, así como los promotores RSV, SV40, SL3-3, MMTV, y HIV LTR), secuencias de terminación poli(A) eficaces, y un origen de replicación para el producto plasmídico en *E. coli*, un gen de resistencia a un antibiótico como marcador genético y/o un sitio de clonación conveniente (por ejemplo, un polienlazador). Los ácidos nucleicos pueden comprender también un promotor inducible en oposición a un promotor constitutivo tal como el CMV IE.

En una realización, el vector de expresión que codifica el anticuerpo anti-c-Met se puede posicionar en y/o suministrar a la célula huésped o animal huésped mediante un vector vírico.

En un aspecto adicional más, la invención se refiere a células huésped eucariotas o procariotas, tales como un transfectoma, que producen un anticuerpo de la invención como se define en el presente documento. Ejemplos de células huésped incluyen levaduras, bacterias y células de mamífero tales como células CHO y HEK. Por ejemplo, en una realización, la presente invención proporciona una célula que comprende un ácido nucleico integrado

5 establemente en el genoma celular que comprende una secuencia que codifica la expresión de un anticuerpo anti-c-Met de la presente invención. En otra realización, la presente invención proporciona una célula que no comprende un ácido nucleico integrado, tal como un plásmido, cósmido, fagémido, o elemento de expresión lineal, que comprende una secuencia que codifica la expresión de un anticuerpo anti-c-Met de la invención.

10 La divulgación se refiere adicionalmente a un hibridoma que produce un anticuerpo de la invención como se define en el presente documento. En un aspecto adicional más, la divulgación se refiere a un animal no humano o planta transgénicos que comprenden ácidos nucleicos que codifican una cadena pesada humana y una cadena ligera humana, donde el animal o la planta produce un anticuerpo de la invención.

15 En un aspecto adicional, la invención se refiere a un método para la producción de un anticuerpo anti-c-Met de la invención, comprendiendo dicho método las etapas de:

- a) el cultivo de la célula huésped de la invención como se ha descrito anteriormente en el presente documento, y
- b) la purificación del anticuerpo de la invención del medio de cultivo.

20 Composiciones

En un aspecto principal adicional, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende:

- 25 - un anticuerpo anti-c-Met como se define en el presente documento, y
- un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La composición farmacéutica de la presente invención puede contener un anticuerpo de la presente invención o una combinación de diferentes anticuerpos de la presente invención.

30 Las composiciones farmacéuticas se pueden formular de acuerdo con técnicas convencionales tales como las desveladas en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19ª Edición, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1995. Una composición farmacéutica de la presente invención puede, por ejemplo, incluir diluyentes, cargas, sales, tampones, detergentes (por ejemplo, un detergente no iónico, tal como Tween-20 o Tween-80), estabilizadores (por ejemplo, azúcares o aminoácidos libres de proteínas), conservantes, fijadores de tejido, solubilizantes, y/u otros materiales adecuados para su inclusión en la composición farmacéutica.

Los vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, revestimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes de isotonicidad, antioxidantes y agentes de retraso de la absorción adecuados, y similares que sean fisiológicamente compatibles con un compuesto de la presente invención. Ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados que se pueden emplear en las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen agua, solución salina, solución salina de tampón fosfato, etanol, dextrosa, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, soluciones coloidales de carboximetilcelulosa, goma de tragacanto y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo, y/o distintos tampones. Los vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen soluciones acuosas o dispersiones estériles y polvos estériles para su preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables. Se puede mantener una fluidez apropiada, por ejemplo, mediante el uso de materiales de revestimiento tales como lecitina, por el mantenimiento del tamaño de partícula necesario en el caso de dispersiones, y por el uso de tensioactivos.

50 Las composiciones de la presente invención pueden comprender también antioxidantes farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, (1) antioxidantes hidrosolubles, tales como el ácido ascórbico, hidrocloreto de cisteína, bisulfato sódico, metabisulfito sódico, sulfito sódico y similares; (2) antioxidantes liposolubles, tales como el palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, lecitina, balato de propilo, alfa-tocoferol, y similares; y (3) agentes quelantes metálicos, tales como el ácido cítrico, ácido etilendiamino tetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico, y similares.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden contener agentes de isotonicidad, tales como azúcares, polialcoholes, tales como manitol, sorbitol, glicerol o cloruro sódico en las composiciones.

60 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden contener uno o más adyuvantes apropiados para la vía de administración escogida, tal como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes, conservantes o tampones, que puede aumentar la vida de almacenamiento o la eficacia de la composición farmacéutica. Los compuestos de la presente invención se pueden preparar con vehículos que protegerán el compuesto contra la rápida liberación, tal como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes, parches transdérmicos y sistemas de suministro microencapsulados. Dichos vehículos pueden incluir

gelatina, monoestearato de glicerilo, diestearato de glicerilo, polímeros biocompatibles biodegradables tales como el acetato de etilen vinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, poliortoésteres, y ácido poliláctico solo o con una cera, u otros materiales bien conocidos en la técnica. Los métodos de preparación de dichas formulaciones son conocidos en general por los expertos en la técnica.

5 Las soluciones inyectables se pueden preparar incorporando el compuesto activo en la cantidad necesaria en un disolvente apropiado con uno o una combinación de ingredientes, por ejemplo, como se ha enumerado anteriormente, según se necesita, seguido por esterilización por microfiltración. En general, las dispersiones se preparan incorporando el principio activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los demás ingredientes necesarios, por ejemplo, de entre los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los ejemplos de los métodos de preparación son secado al vacío, y secador por congelación (liofilización) que dan lugar a un polvo del principio activo más cualquier ingrediente adicional deseado a partir de una solución estéril por filtración del mismo.

15 Los niveles de dosificación actuales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas pueden variar de manera que se obtenga la cantidad de principio activo que sea eficaz para conseguir la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composición y modo de administración en particular, sin que sea tóxica para el paciente. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores farmacocinéticos incluyendo la actividad de las composiciones particulares de la presente invención que se empleen, o la amida de los mismos, la vía de administración, el tiempo de administración, la velocidad de excreción del compuesto particular que se va a emplear, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales utilizados en combinación con las composiciones particulares empleadas, la edad, sexo, peso, condición, salud general e historia medica anterior del paciente que se va a tratar, y factores similares bien conocidos en la técnica médica.

25 La composición farmacéutica se puede administrar mediante cualquiera vía y modo adecuados. La composición farmacéutica de la presente invención se puede administrar por vía parenteral. "Administrado por vía parenteral" como se utiliza en el presente documento significa los modos de administración distintos de la administración enteral y tópica, habitualmente mediante inyección, que incluye la inyección e infusión epidérmica, intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, intratendinosa, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, intracraneal, intratorácica, epidural e intraesternal.

La composición farmacéutica se puede administrar por inyección o infusión intravenosa o subcutánea.

35 Usos

En un aspecto adicional principal, la invención se refiere a un anticuerpo anti-c-Met de la invención para su uso como un medicamento.

40 Los anticuerpos anti-c-Met de la invención se pueden utilizar para varios fines. En particular, los anticuerpos de la invención son para el uso en el tratamiento de distintas formas de cáncer, incluyendo el cáncer metastático y cáncer refractario. Dicho cáncer puede ser dependiente de HGF o independiente de HGF.

45 Los anticuerpos anti-c-Met de la invención pueden ser para el uso en el tratamiento de una forma de cáncer seleccionada de entre el grupo que consiste en: cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de cuello uterino, colangiocarcinoma, cáncer colorrectal, cáncer endometrial, cáncer esofágico, cáncer gástrico, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de pulmón (tal como el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC)), cáncer nasofaríngeo, cáncer ovárico, cáncer pancreático, cáncer de vesícula, cáncer de próstata y cáncer de tiroides.

50 Los anticuerpos anti-c-Met de la invención pueden ser para su uso en el tratamiento de una forma de cáncer seleccionado de entre el grupo de osteosarcoma, rabdomiosarcoma y sarcoma sinovial.

55 Se desvela adicionalmente que los anticuerpos anti-c-Met de la invención pueden ser para su uso en el tratamiento de una forma de cáncer seleccionada de entre el grupo que consiste en: sarcoma de Kaposi, leiomiomas, histiocitoma fibroso maligno y fibrosarcoma.

60 Se desvela adicionalmente que los anticuerpos anti-c-Met de la invención pueden ser para su uso en el tratamiento de enfermedades malignas hematopoyéticas, tales como una enfermedad maligna de entre el grupo que consiste en: leucemia mielógena aguda, leucemia de células T de adulto, leucemia mieloide crónica, linfoma y mieloma múltiple.

65 Se desvela adicionalmente que los anticuerpos anti-c-Met de la invención pueden ser para su uso en el tratamiento de una neoplasia seleccionada de entre el grupo que consiste en: glioblastoma, astrocitoma, melanoma, mesotelioma y tumor de Wilm.

Se desvela adicionalmente que los anticuerpos anti-c-Met de la invención pueden ser para su uso en el tratamiento de tumores MIT, incluyendo el sarcoma de células claras (CCS), parte blanda del sarcoma alveolar (ASPS) y carcinomas de células renales asociado a translocación.

5 Se desvela adicionalmente que los anticuerpos anti-c-Met agonistas de la invención pueden ser para su uso en la regulación de la producción de citocinas y la inducción de la movilización de células progenitoras endoteliales, por ejemplo, en pacientes con enfermedad cardíaca coronaria (Yang et al. (2009) Clin Exp Pharmacol Physiol. 36:790).

10 Se desvela adicionalmente que los anticuerpos anti-c-Met agonistas de la invención pueden ser para su uso en la inhibición o mejora del fallo renal crónico (Mizuno et al. (2008) Front Biosci. 13:7072).

De manera similar, la divulgación se refiere a un método para la inhibición del crecimiento y/o proliferación de una célula tumoral que expresa c-Met, que comprende la administración a un individuo que necesita el mismo, de una cantidad eficaz de un anticuerpo de la invención.

15 Se desvela en el presente documento que dicha célula tumoral puede estar implicada en una forma de cáncer seleccionado de entre el grupo que consiste en: cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de cuello uterino, colangiocarcinoma, cáncer colorrectal, cáncer endometrial, cáncer esofágico, cáncer gástrico, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, cáncer nasofaríngeo, cáncer ovárico, cáncer pancreático, cáncer de vesícula, cáncer de próstata, cáncer de tiroides, osteosarcoma, rabdomioma, sarcoma sinovial, sarcoma de Kaposi, leiomiomasarcoma, histiocitoma fibroso maligno, fibrosarcoma, leucemia mielógeno agudo, leucemia de células T de adulto, leucemia mielóide crónica, linfoma, glioblastoma, astrocitoma, melanoma, mesotelioma y tumor de Wilm.

25 También, la invención se refiere al uso de un anticuerpo monoclonal que se une al c-Met humano para la preparación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, tal como una de las indicaciones del cáncer mencionadas anteriormente.

30 Además, la selección de los pacientes que se van a tratar con el anticuerpo anti-c-Met puede basarse en el nivel de (sobre)expresión de c-Met y/o HGF de las células tumorales relevantes de dichos pacientes.

En una divulgación adicional de los métodos de tratamiento expuestos en el presente documento, la eficacia del tratamiento se controla durante la terapia, por ejemplo, en momentos predefinidos, determinando los niveles de expresión de c-Met en las células tumorales relevantes.

35 Los regímenes de dosificación en los métodos de tratamiento y usos anteriores se ajustan para proporcionar la respuesta óptima deseada (por ejemplo, una respuesta terapéutica. Por ejemplo, se puede administrar una única embolada, se pueden administrar varias dosis divididas a lo largo del tiempo o la dosis se puede reducir o aumentar proporcionalmente como se indica por las exigencias de la situación terapéutica. Las composiciones parenterales pueden formularse en forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y uniformidad de dosificación.

40 Las dosificaciones eficaces y los regímenes de dosificación de los anticuerpos anti-c-Met dependen de la enfermedad o afección que se van a tratar y pueden determinarlos los expertos en la técnica. Un intervalo ejemplar, no limitante de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención es aproximadamente de 0,1- 100 mg/kg, tal como aproximadamente 0,1-50 mg/kg, por ejemplo, aproximadamente 0,1-20 mg/kg, tal como aproximadamente 0,1-10 mg/kg, por ejemplo, aproximadamente 0,5, aproximadamente tal como 0,3, aproximadamente 1, aproximadamente 3, aproximadamente 5, o aproximadamente 8 mg/kg.

50 Un médico o veterinario experto habituado en la técnica puede fácilmente determinar y prescribir la cantidad necesaria eficaz de la composición farmacéutica. Por ejemplo, el médico o el veterinario podría comenzar con dosis del anticuerpo anti-c-Met empleado en la composición farmacéutica a niveles menores que los que se necesitan con el fin de alcanzar el efecto terapéutico deseado y gradualmente aumentar la dosificación hasta que se alcanza el efecto deseado. En general, una dosis diaria adecuada de una composición de la presente invención será la cantidad de compuesto que sea la dosis menor eficaz para producir un efecto terapéutico. La administración puede, por ejemplo, ser parenteral, tal como intravenosa, intramuscular o subcutánea. Los anticuerpos anti-c-Met puede administrarse por infusión en una dosificación semanal de desde 10 a 500 mg/m², tal como de desde 200 a 400 mg/m². Dicha administración se puede repetir, por ejemplo, 1 a 8 veces, tal como 3 a 4 veces. La administración se puede llevar a cabo por infusión continua durante un periodo de desde 2 a 24 horas, tal como desde 2 a 12 horas. De manera alternativa, los anticuerpos anti-c-Met se puede administrar por infusión continua lenta durante un largo periodo, tal como más de 24 horas, con el fin de reducir los efectos secundarios tóxicos.

60 Además, los anticuerpos anti-c-Met pueden administrarse en una dosificación semanal de desde 250 mg a 2000 mg, tal como, por ejemplo, 300 mg, 500 mg, 700 mg, 1000 mg, 1500 mg o 2000 mg, durante hasta 8 veces, tal como desde 4 a 6 veces. Dicho régimen puede repetirse una o más veces según sea necesario, por ejemplo, después de 6 meses o 12 meses. La dosificación se puede determinar o ajustar midiendo la cantidad de compuesto de la presente invención en la sangre al administrarse, por ejemplo, tomando una muestra biológica y utilizando

anticuerpos anti-idiotípicos que se dirigen a la región de unión al antígeno de los anticuerpos anti-c-Met de la presente invención.

5 Se desvela adicionalmente que los anticuerpos anti-c-Met se pueden administrar por terapia de mantenimiento, tal como, por ejemplo, una vez a la semana durante un periodo de 6 meses o más.

Un anticuerpo anti-c-Met se puede administrar también profilácticamente con el fin de reducir el riesgo de desarrollar un cáncer, el retraso de la aparición de la existencia de un evento en la progresión del cáncer, y/o reducir el riesgo de recurrencia cuando un cáncer está en remisión.

10 Los anticuerpos anti-c-Met también se pueden administrar en una terapia de comparación, es decir, combinados con otros agentes terapéuticos relevantes para la enfermedad o afección que se va a tratar. En consecuencia, en una divulgación adicional, el medicamento que contienen el anticuerpo es para su uso en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales, tales como un agente citotóxico, quimioterápico o anti-angiogénico.

15 Dicha administración combinada puede ser simultánea, por separado o secuencial. Para la administración simultánea los agentes se pueden administrar como una composición o como composiciones separadas, según sea apropiado. Por lo tanto, la presente divulgación proporciona también métodos para el tratamiento de un trastorno que implica células que expresa c-Met como se ha descrito anteriormente, cuyos métodos comprende la administración de un anticuerpo anti-c-Met de la presente invención combinadas con uno o más agentes terapéuticos adicionales como se describe posteriormente.

20 La presente divulgación proporciona un método para el tratamiento de un trastorno que implica células que expresan c-Met en un sujeto, cuyo método comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-c-Met de la presente invención y al menos un agente terapéutico adicional a un sujeto que necesita del mismo.

30 La presente divulgación proporciona un método para el tratamiento o prevención del cáncer, cuyo método comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-c-Met de la presente invención y al menos un agente terapéutico adicional a un sujeto que necesita del mismo.

35 Dicho agente terapéutico adicional se puede seleccionar de entre un antimetabolito tal como el metotrexato, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, citarabina, fludarabina, 5-fluorouracilo, decarbazina, hidroxiurea, asparaginasa, gemcitabina o cladribina.

40 Además, dicho agente terapéutico adicional se puede seleccionar de entre un agente alquilante, tal como mecloretamina, tiotepa, clorambucilo, melfalan, carmustina (BSNU), lomustina (CCNU), ciclofosfamida, busulfan, dibromomanitol, estreptozocina, decarbazina (DTIC), procarbazona, mitomicina C, cisplatino y otros derivados del platino, tales como carboplatino.

45 Se desvela adicionalmente que dicho agente terapéutico adicional se puede seleccionar de entre un agente antimetabólico, tal como taxanos, por ejemplo, docetaxel, y paclitaxel, y alcaloides de la vinca, por ejemplo, vindesina, vincristina, vinblastina, y vinorelbina.

50 Se desvela adicionalmente que dicho agente terapéutico adicional se puede seleccionar de entre un inhibidor de la topoisomerasa, tal como topotecan o irinotecan, o un fármaco citostático, tal como etopósido y tenipósido.

55 Se desvela adicionalmente que un agente terapéutico se puede seleccionar de entre un inhibidor de un factor de crecimiento, tal como un inhibidor de ErbB1 (EGFR) (tal como una anticuerpo anti-EGFR, por ejemplo, zalutumab, cetuximab, panitumumab o nimotuzumab u otros inhibidores del EGFR, tales como gefinitib o erlotinib), un inhibidor de ErbB2 (Her2/neu) (tal como una anticuerpo anti-HER2, por ejemplo, trastuzumab, trastuzumab-DM1 o pertuzumab) o un inhibidor de ambos, el EGFR y HER2, tal como el lapatinib).

60 Se desvela adicionalmente que dicho agente terapéutico adicional se puede seleccionar de entre un inhibidor de la tirosina cinasa, tal como el imatinib (Gleevec, Gleevec STI571) o lapatinib, PTK787/ZK222584.

65 La presente divulgación proporciona un método para el tratamiento de un trastorno que implica células que expresan c-Met en un sujeto, cuyo método comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-c-Met desvelado en el presente documento y al menos un inhibidor de la angiogénesis, neovascularización, y/u otra vascularización a un sujeto que necesita del mismo.

Ejemplos de dichos inhibidores de la angiogénesis son los inhibidores de la urocinasa, inhibidores de la metaloproteasa de la matriz (tales como marimastat, neovastat, BAY 12-9566, AG 3340, BMS-275291 y agentes similares), inhibidores de la migración y proliferación de células endoteliales (tales como TNP-470, escualamina, 2-metoxiestradiol, combretastatinas, endostatina, angiostatina, penicilamina, SCH66336 (Schering-Plough Corp, Madison, NJ), R115777 (Janssen Pharmaceutica, Inc, Titusville, NJ) y agentes similares), antagonistas de los

factores de crecimiento angiogénico (tales como ZD6474, SU6668, anticuerpos contra agentes angiogénicos y/o sus receptores (tales como VEGF (por ejemplo bevacizumab), bFGF, y angiopoyetina-1), talidomida, análogos de la talidomida (tales como el CC-5013), Sugen 5416, SU5402, ribozima anti-angiogénica (tal como angiozima), interferón α (tal como el interferón $\alpha 2a$), suramina y agentes similares), inhibidores de la VEGF-R cinasa y otros
 5 inhibidores de la tirosina cinasa anti-angiogénicos (tales como SU011248), inhibidores de señalización de supervivencia/integrina específicos endoteliales (tales como vitaxin y agentes similares), antagonistas/quelantes del cobre (tales como tetratiomolibdato, captopril y agentes similares), carboxiamido-triazol (CAI), ABT-627, CM 101, interleucina-12 (IL-12), IM862, PNU145156E así como moléculas de nucleótidos que inhiben la angiogénesis (tal
 10 como ADNc-VEGF antisentido, ADNc que codifica angiostatina, ADNc que codifica p53 y ADNc que codifica el receptor 2 del VEGF deficiente).

Otros ejemplos de dichos inhibidores de la angiogénesis, neovascularización, y/u otra vascularización son los derivados de heparina anti-angiogénicos (por ejemplo, heparinasa, III), temozolomida, NK4, factor inhibidor de la migración de macrófagos, inhibidores de la ciclooxigenasa-2, inhibidores del factor 1 inducible por hipoxia,
 15 isoflavonas de soja anti-angiogénicas, oltipraz, fumagilina y análogos de la misma, análogos de somatostatina, polisulfato de pentosano, tecogalan sódico, dalteparin, tumstatina, trombospondina, NM-3, combrestatina, canstatina, avastatina, anticuerpos contra otras dianas, tales como anti-integrina alfa-v/beta-3 y anticuerpos anti-quininostatina.

Además, un agente terapéutico para su uso en combinación con un anticuerpo anti-c-Met para el tratamiento de los trastornos que se describen anteriormente puede ser un inmunógeno anticáncer , tal como el antígeno asociado a tumor/antígeno del cáncer (por ejemplo, una molécula de adhesión celular epitelial (EpCAM/TACSTD1), mucina 1 (MUC1), antígeno carcinoembrionario (CEA), glicoproteína 72 asociada a tumores (TAG-72), gp100, Melan-A, MART-1, KDR, RCAS1, MDA7, vacunas víricas asociadas con el cáncer (por ejemplo, vacunas del papilomavirus humano) o proteínas de choque térmico derivadas de un tumor.
 20
 25

Se desvela adicionalmente que un agente para su uso en combinación con un anticuerpo anti-c-Met para el tratamiento de los trastornos descritos anteriormente puede ser una citocina, quimiocina anticáncer, o una combinación de las mismas. Ejemplos de citocinas y factores de crecimiento adecuados incluyen IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-18, IL-23, IL-24, IL-27, IL-28a, IL-28b, IL-29, KGF, IFN α (por ejemplo, INF $\alpha 2b$), IFN β , GM-CSF, CD40L, ligando de Flt3, factor de células madre, aneastim, y TNF α . Las quimiocinas adecuadas pueden incluir quimiocinas negativas a Glu-Leu-Arg (ELR) tales como IP-10, MCP-3, MIG, y SDF-1 α del CXC humano y familias de quimiocinas C-C. Las citocinas adecuadas incluyen derivados de citocina, variantes de citocina, fragmentos de citocina y proteínas de fusión con citocinas.
 30
 35

Además, un agente terapéutico para su uso en combinación con un anticuerpo anti-c-Met para el tratamiento de trastornos que se describieron anteriormente puede ser un regulador de apoptosis/control de ciclo (o "agente regulador"). Un regulador de la apoptosis/control de ciclo puede incluir moléculas que se dirigen y modulan el control del ciclo celular/reguladores de la apoptosis tales como (i) cdc-25 (tal como NSC 663284), (ii) cinasas dependientes de la ciclina que sobre-estimulan el ciclo celular (tal como el flavopiridol (L868275, HMR1275), 7-hydroxistaurosporina (UCN-01, KW-2401), y roscovitina (R-roscovitina, CYC202)), y (iii) moduladores de la telomerasa (tal como BIBR1532, SOT-095, GRN163 y composiciones descritas por ejemplo en los documentos US 6.440.735 y US 6.713.055). Ejemplos no limitantes de moléculas que interfieren con las rutas apoptóticas incluyen el ligando inductor de apoptosis relacionado con el TNF (TRAIL)/ligando 2 de apoptosis (Apo-2L), anticuerpos que activan los receptores TRAIL, IFN y Bcl-2 antisentido.
 40
 45

Se desvela adicionalmente que un agente terapéutico para su uso en combinación con un anticuerpo anti-c-Met para el tratamiento de los trastornos descritos anteriormente puede ser un agente regulador hormonal, tal como los agentes útiles para la terapia anti-androgénica o anti-estrogénica. Ejemplos de dichos agentes reguladores hormonales son tamoxifeno, idoxifeno, fulvestrant, droloxifeno, toremifeno, raloxifeno, dietilestilbestrol, etinil estradiol/etinil, un anti andrógeno (tal como flutaminda/eulexina), una progestina (tal como caproato de hidroxiprogesterona, medroxiprogesterona/provera, acetato de megesterol/megace), un adrenocorticosteroide (tal como hidrocortisona, prednisona), una hormona liberadora de hormona luteinizante (y análogos de la misma y otros agonistas de la LHRH tal como buserelina y goserelina), un inhibidor de la aromatasas (tal como anastrozol/arimide, aminoglutetimida/citraden, exemestrano) o un inhibidor hormonal (tal como octreotida/sandostatina).
 50
 55

Se desvela adicionalmente que un agente terapéutico para su uso en combinación con un anticuerpo anti-c-Met para el tratamiento de los trastornos descritos anteriormente puede ser un agente anti-anérgico, tal como los compuestos que son moléculas que bloquean la actividad del CTLA-4, por ejemplo, el ipilimumab.
 60

Se desvela adicionalmente que un agente terapéutico para su uso en combinación con un anticuerpo anti-c-Met para el tratamiento de los trastornos descritos anteriormente puede ser un ácido nucleico anticáncer o una molécula inhibidora del ARN anticáncer.

Ejemplos de otros agentes anticáncer, que pueden ser relevantes como agentes terapéuticos para su uso en combinación con un anticuerpo anti-c-Met para el tratamiento de los trastornos descritos anteriormente son agentes
 65

inductores de la diferenciación, análogos del ácido retinoico (tal como todos los ácidos retinoicos trans, ácido retinoico 13-cis y agentes similares, análogos de la vitamina D (tales como el seocalcitol y agentes similares, inhibidores de ErbB3, ErbB4, IGF-IR, receptor insulínico, PDGFRa, PDGFRbeta, Fik2, Flt4, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, TRKA, TRKC, RON (tal como un anticuerpo anti-RON), Sea, Tie, Tie2, Eph, Ret, Ros, Alk, LTK, PTK7 y agentes similares.

Ejemplos de otros agentes anticáncer, que pueden ser relevantes como agentes terapéuticos para su uso en combinación con un anticuerpo anti-c-Met para el tratamiento de los trastornos descritos anteriormente son estramustina y epirrubicina.

Ejemplos de otros agentes anticáncer, que pueden ser relevantes como agentes terapéuticos para su uso en combinación con un anticuerpo anti-c-Met para el tratamiento de los trastornos descritos anteriormente son un inhibidor de la HSP90 tipo 17-alil amino geldanamicina, anticuerpos dirigidos contra un antígeno tumoral tal como PSA, CA125, KSA, integrinas, por ejemplo, integrina β 1, o inhibidores de VCAM.

Ejemplos de otros agentes anticáncer, que pueden ser relevantes como agentes terapéuticos para su uso en combinación con un anticuerpo anti-c-Met para el tratamiento de los trastornos descritos anteriormente son inhibidores de la calcineurina (tales como valspodar, PSC 833 y otros inhibidores de MDR-1 o p-glicoproteínas), inhibidores de TOR (tales como sirolimus, everolimus y rapamicina), e inhibidores de los mecanismos de "asentamiento de linfocitos" (tales como FTY720), y agentes que tienen efectos sobre la señalización celular tales como inhibidores de la molécula de adhesión (por ejemplo, anti-LFA).

Se desvela adicionalmente que el anticuerpo anti-c-Met de la invención puede ser para el uso en combinación con uno o más de otros anticuerpos terapéuticos, tales como el ofatumumab, zanolimumab, daratumumab, ranibizumab, Zenapax, Simulect, Remicade, Humira, Tysabri, Xolair, raptiva y/o rituximab.

Otros anticuerpos terapéuticos que se pueden utilizar en combinación con el anticuerpo de la presente invención son anticuerpos anti-c-Met que se unen a otras regiones del c-Met, tal como los anticuerpos descritos en los documentos WO 2005016382, WO 2006015371, WO 2007090807, WO 2007126799 o WO 2009007427.

También se desvela en el presente documento que se pueden utilizar dos o más anticuerpos diferentes de la invención en combinación para el tratamiento de la enfermedad. Las combinaciones particularmente interesantes incluyen dos o más anticuerpos no competitivos. Dicha terapia de combinación puede dar lugar a la unión de un mayor número de anticuerpos por célula, los que puede aumentar la eficacia, por ejemplo, mediante la lisis mediada por activación del complemento.

Además de todo lo anterior, otras terapias de la divulgación incluyen las siguientes:

- Para el tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas, un anticuerpo anti-c-Met en combinación con inhibidores del EGFR, tal como un anticuerpo anti-EGFR, por ejemplo, zalutumumab, cetuximab, panitumumab o nimotuzumab u otros inhibidores del EGFR, tales como gefitinib o erlotinib), o en combinación con un inhibidor de ErbB2 (Her2/neu) (tal como un anticuerpo anti-HER2, por ejemplo, trastuzumab, trastuzumab-DM1 o pertuzumab) o en combinación con un inhibidor de ambos el EGFR y HER2, tal como lapatinib, o en combinación con un inhibidor de HER3.
- Para el tratamiento del glioma, un anticuerpo anti-c-Met en combinación con temozolomida o un inhibidor de la angiogénesis, tal como bevacizumab.
- Para el tratamiento del cáncer colorrectal un anticuerpo anti-c-Met en combinación con uno o más compuestos seleccionados de entre gemcitabina, bevacizumab, FOLFOX, FOLFIRI, XELOX, IFL, oxaliplatino, irinotecan, 5-FU/LV, Capecitabina, UFT, agentes de direccionamiento contra el EGFR, tales como cetuximab, panitumumab, zalutumumab; inhibidores del VEGF, o inhibidores de la tirosina cinasa tales como el sunitinib.
- Para el tratamiento del cáncer de próstata un anticuerpo anti-c-Met en combinación con uno o más compuestos seleccionados de entre: terapias hormonales/anti-hormonales; tales como anti-andrógenos, agonistas de la hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH), y quimioterápicos tales como taxanos, mitoxantrona, estramustina, 5FU, vinblastina, ixabepilona.

Radioterapia-cirugía

La presente divulgación proporciona un método para el tratamiento de un trastorno que implica las células que expresan c-Met en un sujeto, cuyo método comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-c-Met de la presente invención y radioterapia a un sujeto que necesita del mismo.

La presente divulgación también proporciona un método para el tratamiento o prevención del cáncer, cuyo método comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-c-Met, tal como un anticuerpo anti-c-Met de la presente invención, y radioterapia a un sujeto que necesita del mismo.

La presente divulgación también proporciona el uso de un anticuerpo anti-c-Met, tal como un anticuerpo anti-c-Met de la presente invención, para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento del cáncer que se va a administrar en combinación con radioterapia.

5 La radioterapia puede comprender radiación o la administración de radiofármacos que se proporciona a un paciente. La fuente de radiación puede ser externa o interna al paciente que se va a tratar (el tratamiento con radiación puede ser, por ejemplo, en forma de terapia de radiación por rayo externo (EBRT) o braquiterapia (BT)). Los elementos radioactivos que se pueden utilizar en la práctica de dichos métodos incluyen, por ejemplo, radio, cesio-137, iridio-192, americio-241, oro-198, cobalto-57, cobre-67, tecnecio-99, yodo-123, yodo-131, e indio-111.

10 La presente divulgación también proporciona un método para el tratamiento o prevención del cáncer, cuyo método comprende la administración a un sujeto que lo necesita de una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-c-Met, tal como un anticuerpo anti-c-Met de la presente invención, en combinación con cirugía.

15 Usos diagnósticos

Los anticuerpos anti-c-Met de la invención también se pueden utilizar con fines diagnósticos. Por lo tanto, en un aspecto adicional, la invención se refiere a una composición diagnóstica que comprende un anticuerpo anti-c-Met como se define en el presente documento.

20 Además, los anticuerpos anti-c-Met de la presente divulgación se pueden utilizar *in vivo* o *in vitro* para diagnosticar enfermedades en las que las células que expresan c-Met activadas tienen un papel activo en la patogénesis, detectando los niveles de c-Met, o los niveles de células que contienen c-Met en su superficie de membrana. Esto se puede conseguir, por ejemplo, poniendo en contacto una muestra que se va a ensayar opcionalmente junto con una muestra de control, con el anticuerpo anti-c-Met en condiciones que permitan la formación de un complejo entre el anticuerpo y el c-Met.

25 Por lo tanto, en un aspecto adicional, la invención se refiere a un método para la detección de la presencia de un antígeno c-Met, o una célula que expresa c-Met, en una muestra que comprende.

30 - poner en contacto la muestra con un anticuerpo anti-c-Met de la invención en condiciones que permitan la formación de un complejo entre el anticuerpo y c-Met; y
- analizar si se ha formado el complejo.

35 En una realización, el método se lleva a cabo *in vitro*.

Más específicamente, la presente divulgación proporciona métodos para la identificación de, y el diagnóstico de células y tejidos invasivos, y otras células direccionadas por los anticuerpos anti-c-Met de la presente invención, y para el control del progreso de los tratamientos terapéuticos, estado después del tratamiento, riesgo de desarrollar un cáncer, la progresión del cáncer, y similares.

40 Los marcadores adecuados para el anticuerpo anti-c-Met y/o los anticuerpos secundarios utilizados en dichas técnicas se conocen bien en la técnica.

45 En un aspecto adicional, la invención se refiere a un kit para la detección de la presencia del antígeno c-Met, o una célula que expresa c-Met, en una muestra que comprende:

50 - un anticuerpo anti-c-Met de la invención o una molécula biespecífica de la invención; e
- instrucciones para el uso del kit.

La presente divulgación también proporciona un kit para el diagnóstico del cáncer que comprende un recipiente que comprende un anticuerpo anti-c-Met, y uno o más reactivos para la detección de la unión del anticuerpo anti-c-Met al c-Met. Los reactivos pueden incluir, por ejemplo, marcadores fluorescentes, marcadores enzimáticos, u otros marcadores detectables. Los reactivos también pueden incluir anticuerpos secundarios o terciarios o reactivos para las reacciones enzimáticas, donde las reacciones enzimáticas producen un producto que se puede visualizar.

55 Anticuerpos anti-idiotípicos

60 En un aspecto adicional, la invención se refiere a un anticuerpo anti-idiotípico que se une a un anticuerpo anti-c-Met de la invención como se describe en el presente documento.

65 Un anticuerpo anti-idiotípico (Id) es un anticuerpo que reconoce determinantes únicos asociados en general con el sitio de unión al antígeno de un anticuerpo. Un anticuerpo Id se puede preparar inmunizando un animal de la misma especie que el tipo genético de la fuente de un mAb anti-c-Met con el mAb contra el que se va a preparar un anti-Id. El animal inmunizado normalmente puede reconocer y responder a los determinantes idiotípicos del anticuerpo inmunizante produciendo un anticuerpo contra estos determinantes idiotípicos (el anticuerpo anti-Id).

Una anticuerpo anti-Id también se puede utilizar como un “inmunógeno” para inducir una respuesta inmunitaria en otro animal, produciendo un denominado anticuerpo anti-anti-Id. Un anti-anti-Id puede ser epítópicamente idéntico al mAb original, que induce el anti-Id. Por lo tanto, utilizando anticuerpos contra los determinantes idiotípicos de un mAb, es posible identificar otros clones que expresan anticuerpos con especificidad idéntica.

5 La presente invención se ilustra adicionalmente por los siguientes ejemplos.

Ejemplo

10 **Ejemplo 1: Construcciones de expresión de c-Met**

Las construcciones con el codón optimizado para la expresión de c-Met, el dominio extracelular (ECD) (aa 1-932 y un marcador His6 en el extremo C o el dominio SEMA de c-Met 8aa 1-567 y un marcador His 9 en el extremo C), se generaron en células HEK o CHO. Las proteínas codificadas por estas construcciones son idénticas al registro de GenBank NM000245 para el c-Met. Las construcciones contenían los sitios de restricción adecuados para la clonación y una secuencia Kozak óptima (Kozak et al. (1999) Gene 234: 187-208). Las construcciones se clonaron en el vector de expresión en mamíferos pEE13.4 (Lonza Biologics) (Bebington (1992) Biotechnology (NY) 10:169-175), obteniendo pEE13.4cMet, pEE13.4cMetECDHis y pEE13.4cMetSEMA-567His8.

20 **Ejemplo 2: Construcciones de expresión para 5D5v1, 5D5 y G11-HZ**

Las construcciones con el codón optimizado para la expresión de la cadena pesada (HC) y la cadena ligera (LC) de los anticuerpos IgG15D5v1, 5D5 y G11-HZ, se generaron en células HEK. Las proteínas codificadas por estas construcciones son idénticas a las que se describen en la Patente de EE. UU. 6468529 (número de secuencia 3 y 4) para la cadena pesada y cadena ligera 5D5v1, el documento WO 2006/015371 A2 (fig. 13) para la cadena pesada y la cadena ligera 5D5 y el documento WO 2009/007427 A2 (la secuencia se extrajo a partir de múltiples figuras) para la cadena pesada y ligera 224G11. El 224G11 también se denomina G11-Hz en el presente documento.

30 **Ejemplo 3: Expresión transitoria den células HEK-293F**

Las células Freestyle™ 293F (un subclon de HEK-293 adaptado al crecimiento en suspensión y un medio Freestyle definido químicamente, (HEK-293f)) se obtuvieron en Invitrogen y se transfectaron con el ADN plasmídico apropiado, utilizando 293fectina (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La expresión de c-Met se ensayó mediante análisis FACS como se describe posteriormente. En el caso de la expresión de anticuerpos, los vectores de expresión apropiados de cadena pesada y cadena ligera se co-expresaron.

Ejemplo 4: Expresión transitoria en células CHO

El pEE13.4cMet se transfectó transitoriamente en la línea celular Freestyle™ CHO-S (Invitrogen) utilizando el reactivo de transfección Freestyle MAX (Invitrogen). La expresión de c-Met se ensayó por medio de análisis FACS como se describe posteriormente.

Ejemplo 5: Clonación y expresión de anticuerpos monovalentes (moléculas UniBody®)

45 Para la expresión de anticuerpos monovalentes en células de mamíferos se sintetizó la región constante de HC de IgG4, que omitía la región bisagra (Ch) (aminoácidos E99-P110) y que contenía las 2 mutaciones F405T e Y407E en la región CH3, como una construcción con el codón optimizado en el vector de expresión en mamíferos pcDNA3.3 (Invitrogen) y se llamó PUniTE. Se construyó un vector diferente insertando la región constante con codón optimizado de la región de cadena ligera kappa humana en el pcDNA3.3 y se llamó pKappa.

50 Las regiones VH y VL relevantes se insertaron respectivamente en el pUniTE y pKappa dando como resultado los vectores para la expresión de las cadenas pesada y ligera de los anticuerpos específicos. La co-transfección de los vectores de cadena pesada y ligera de un anticuerpo específico en las células HEK-293F (Invitrogen) daba como resultado la producción transitoria de anticuerpos monovalentes con las especificidades deseadas. La purificación se llevó a cabo utilizando una cromatografía en columna de afinidad de Proteína A (como se describe en el Ejemplo 11).

Ejemplo 6: Purificación de c-Met marcado con His

60 Se expresaron el cMetECDHis y cMetSEMAHis se expresaron en células HEK-293F. El marcador His en cMetECDHis y cMetSEMAHis hacía posible la purificación con cromatografía de afinidad en metal inmovilizado. En este proceso, se carga un quelante fijado en la resina cromatográfica con cationes Co^{2+} . cMetECDHis y cMetSEMAHis contienen sobrenadantes cuando se incubaban con la resina en un modo discontinuo (es decir, en solución). La proteína marcada con His se une fuertemente a las perlas de resina, mientras que otras proteínas presentes en el sobrenadante del cultivo no se unen fuertemente. Después de la incubación se recuperan las perlas del sobrenadante y se empaquetan en una columna. La columna se lava con el fin de retirar las proteínas unidas

débilmente. Las proteínas fuertemente unidas a cMetECDHis y cMetSEMAHis se eluyeron entonces con un tampón que contenía imidazol, que compite con la unión de His con Co^{2+} . El eluyente se retiró de la proteína por un tampón de intercambio en una columna de desalación.

5 Ejemplo 7: Procedimiento de inmunización de ratones transgénicos

Los anticuerpos 005, 006, 007, 008, 011, 012, 016, 017, 022, 024, 025, 028, 031, 035, 039, 040, 045, 093, 095, 096, 101 y 104 se derivaron de las siguientes inmunizaciones: un ratón HCo20 81 hembra, de estripe GG2713), un ratón HCo17 (hembra, estripe GG2714) y dos ratones HCo2-Balb/C (2 hembras, estripe GG2811) (Medarex, San Jose, CA, USA; para referencias véase el párrafo de ratón HuMab anteriormente, documento WO2009097006 y US2005191293) se inmunizaron cada cuarta noche alternando con 5×10^6 células tumorales NCI-H441 por vía intraperitoneal (IP) y 20 μg de proteína cMetECDHis acoplada al hapteno de hemocianina de lapa californiana (KLH) por vía subcutánea (SC).

Los anticuerpos 058, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 068, 069, 078, 082, 084, 087, 089, 098 y 181 se derivaron de las siguientes inmunizaciones: dos ratones HCo20 (1 macho y 1 hembra, estripe GG2713) y un ratón HCo12-Balb/C (1 macho, estripe GG2811) (Medarex, San Jose, CA, USA; para referencias véase el párrafo de ratón HuMab anteriormente) se inmunizaron cada cuarta noche alternado con 5×10^6 células CHO-K1SV transfectadas transitoriamente con cMetECDHis intraperitoneal (IP) y 20 μg de proteína cMetECDHis acoplada al hapteno de hemocianina de lapa californiana (KLH) por vía subcutánea (SC).

Se llevó a cabo un máximo de ocho inmunizaciones por ratón, cuatro inmunizaciones por vía IP y cuatro por vía SC en la base de la cola. La primera inmunización con células se hizo en adyuvante completo de Freund (CFA; Difco Laboratories, Detroit, MI, USA). Para el resto de las inmunizaciones, se inyectaron por vía IP las células en PBS y se inyectó por vía SC cMetECD acoplada a KLH utilizando adyuvante incompleto de Freund (IFA; Difco Laboratories, Detroit, MI, USA). Se fusionaron los ratones con al menos dos títulos de anticuerpo específico de c-Met secuenciales de 200 (diluciones de suero de 1/200) o mayor, detectado en el ensayo FMAT de exploración como se describe en el Ejemplo 8.

30 Ejemplo 8: Ensayo de exploración específica de antígenos homogéneos

La presencia de anticuerpos anti-c-Met en el suero de los ratones inmunizados o HuMab (anticuerpo monoclonal humano) del sobrenadante del cultivo de hibridoma o transfectoma se determinó por ensayos de exploración específica de antígeno homogéneo (cuatro cuadrantes) utilizando una Tecnología de ensayo de Micro volumen Fluorométrico (FMAT; Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Para esto, se utilizó una combinación de ensayos basados en 3 células y un ensayo basado en perlas. En los ensayos basados en células, se determinó la unión a TH1016-cMet (células HEK-293F que expresan transitoriamente el dominio extracelular del receptor de c-Met; producido como se describe anteriormente) y HT29 (que expresan c-Met en la superficie celular) así como células HEK293 de tipo silvestre (control negativo que no expresa c-Met). Para el ensayo basado en perlas, se determinó la unión a SB1016-cMet (cMetECDHis obtenido a partir de células HEK-293F transfectadas transitoriamente como se ha descrito anteriormente, biotiniladas y acopladas a perlas revestidas de estreptavidina). Las muestras se añadieron en las células/perlas para permitir la unión al c-Met. Posteriormente, se detectó la unión de HuMab utilizando un conjugado fluorescente (de cabra anti-IgG humana-Cy5; Jackson ImmunoResearch). El anticuerpo específico de c-Met quimérico 5D5v1 (producido en células HEK-293F) se utilizó como control positivo y se utilizaron el suero agrupado de ratón HuMab y HuMab-KLH como controles negativos. Las muestras se exploraron utilizando un Sistema de detección celular 8200 Applied Biosystems (8200 CDS) y se utilizó "recuentos x fluorescencia" como lectura. Las muestras se establecieron como positivas cuando los recuentos eran mayores de 50 y los recuentos x fluorescencia eran al menos tres veces mayores que el control negativo HuMab-KLH.

50 Ejemplo 9: generación de hibridoma HuMab

Los ratones HuMab con suficiente desarrollo de título específico de antígeno (definido como anteriormente) se sacrificaron y el bazo y los ganglios linfáticos que flanquean la aorta abdominal y la vena cava se recolectaron. Se hizo una fusión de los esplenocitos y células de los ganglios linfáticos con una línea celular de mieloma de ratón por electrofusión utilizando un Sistema de Electrofusión CEEF 50 (Cyto Pulse Sciences, Glen Burnie, MD, USA), esencialmente de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las placas de fusión se exploraron con el ensayo de unión específica al antígeno como se ha descrito anteriormente y los positivos de este ensayo se ensayaron en un ensayo de fosforilación de ERK Alphascreen® SureFire® y un ensayo Octet de clasificación por afinidad como se describe posteriormente. Los anticuerpos 031, 035, 087 y 089 se expandieron y cultivaron basándose en protocolos convencionales (por ejemplo, como se describe en Coligan J.E., Bierer, B.E., Margulies, D.H., Shevach, E.M. y Strober, W., eds. Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Inc., 2006).

En paralelo, los anticuerpos 005, 006, 007, 008, 011, 012, 016, 017, 022, 024, 025, 028, 035, 039, 040, 045, 058, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 068, 069, 078, 082, 084, 093, 095, 096, 098, 101, 104 y 181 se clonaron utilizando el sistema ClonePix (Genetix, Hampshire, UK). Los hibridomas de los pocillos primarios específicos se sembraron en un medio semisólido (fabricado con un 40 % de CloneMedia (Genetix, Hampshire, UK) y un 60 % de medio completo

HyQ 2x Hyclone, Waltham, USA) y se escogieron aproximadamente 100 subclones de cada pocillo primario. Los subclones se re-ensayaron en un ensayo de unión específica de antígeno como se ha descrito previamente y se midieron los niveles de IgG utilizando el Octet con el fin de seleccionar el mejor clon específico y productor por cada pocillo primario para su expansión posterior. La expansión posterior y el cultivo de los hibridomas HuMab resultante se hizo basándose en protocolos convencionales (por ejemplo, como se describe en Coligan J.E., Bierer, B.E., Margulies, D.H., Shevach, E.M. y Strober, W., eds. Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Inc., 2006).

Ejemplo 10: Espectrometría de masas de los anticuerpos purificados

Se purificaron pequeñas alícuotas de 0,8 ml que contenían sobrenadante de hibridoma de 6 pocillos o estadio Hiperflask utilizando columnas PhyTip que contenían resina de Proteína G (PhyNexus Inc., San Jose, USA) una estación de trabajo Sciclone ALH 3000 (Caliper Lifesciences, Hopkinton, USA). Las columnas PhyTip se utilizaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante, pero los tampones se reemplazaron por: Tampón de unión PBS (B. Braun, Medical B.V., Oss, Holanda) y tampón de elución 0,1 M de Glicina-HCl pH 2,7 (Fluka Riedel-de Haën, Buchs, Alemania). Después de la purificación, las muestras se neutralizaron con 2 M de Tris-HCl pH 9,0 (Sigma-Aldrich, Zwijndrecht, Holanda). De manera alternativa, en algunos casos se purificaron volúmenes más grandes de sobrenadante del cultivo utilizando una cromatografía en columna de afinidad de Proteína A.

Después de la purificación, las muestras se colocaron en una placa de 384 pocillos (Waters, placa de pocillos cuadrada de 100 ul componente nº 186002631). Las muestras se desglucosilaron durante una noche a 37 °C con N-glicosidasa F. Se añadió DTT (15 mg/ml) (1 µl/pocillo) y se incubó durante 1 h a 37 °C. Las muestras (de 5 o 6 ul) se desalaron en un Acquity UPLC™ (Waters, Milford, USA) con una columna BEH300 C18, de 1,7 mm, 2,1 x 50 mm a 60 °C. Se utilizaron agua MQ y acetonitrilo de calidad de LC-MS (Biosolve, nº de cat. 01204101, Valkenswaard, Holanda) ambos con un 0,1 % de ácido fórmico (Fluka, cat no 56302, Buchs, Alemania), se utilizaron como Eluyente A y B, respectivamente. Se registraron los espectros de masas con ionización por electropulverización con tiempo de vuelo en línea en un espectrómetro de masas micrOTOF™ (Bruker, Bremen, Alemania) operando en el modo de ion positivo. Antes de los análisis, se calibró una escala de 900-3000 m/z con una tuning mix ES (Agilent Technologies, Santa Clara, USA). Los espectros de masas se desglosaron con el software DataAnalysis™ v. 3.4 (Bruker) utilizando el algoritmo de Máxima Entropía buscando pesos moleculares entre 5 y 80 kDa.

Después del desglose las masas de la cadena pesada y ligera resultantes para todas las muestras se compararon con el fin de encontrar anticuerpos duplicados. En la comparación de las cadenas pesadas se tuvo en cuenta la posible presencia de variantes de lisina en el extremo C. Esto daba como resultado una lista de anticuerpos únicos, donde único se define como una combinación única de cadenas pesadas y ligeras. En el caso de encontrar anticuerpos duplicados, los resultados de otros ensayos se utilizaron para decidir qué anticuerpo era el mejor material para continuar con los experimentos.

Ejemplo 11: Análisis de secuencia de los dominios variables del anticuerpo anti-c-Met y clonación en vectores de expresión

El ARN total de los HuMab anti-c-Met se preparó a partir de 5 x 10⁶ células de hibridoma y se preparó el 5'-RACE-ADN complementario (ADNc) a partir de 100 ng de ARN total, utilizando el kit de amplificación SMART RACE cDNA (Clontech), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las regiones codificantes de VH (región variable de cadena pesada) y VL (región variable de cadena ligera) se amplificaron por PCR y se clonaron en fase en los vectores de región constante pG1f (que contenía la región constante completamente sintética con el codón optimizado de la cadena pesada de la IgG1 humana (alotipo f) en el vector de expresión pEE6.4 (Lonza Biologics, Slough, UK (Bebbington et al. (1992) Biotechnology 10:169-175)) y pKappa (que contenía la región constante kappa humana de cadena ligera con el codón optimizado completamente sintético (alotipo Km3) en el vector de expresión pEE12.4 (Lonza Biologics, Slough, UK (Bebbington et al. (1992) Biotechnology 10:169-175)) utilizando una estrategia de clonación por unión independiente (Aslanidis et al. 1990 Nucleic Acids Res. 18:6069-6074). Para cada HuMab, se secuenciaron 12 clones de la VL y 8 clones de la VH y sus masas teóricas se calcularon y compararon con los datos de espectrometría de masas de anticuerpo disponibles. Las secuencias se dan en el Listado de secuencias y en la Tabla 1 a continuación. Las secuencias CDR se definen de acuerdo con Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991). La Tabla 2 y Tabla 3 dan una visión de la información de secuencia de anticuerpo y las secuencias más homólogas de la línea germinal,

Tabla 1: Región variable de cadena pesada (VH), región variable de cadena ligera (VL) y secuencias de CDR de HuMab

SEQ ID No: 1	VH 005	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYGFG WVRQAPGQGLEWMGRISPILGIANYAQMFQGRVTIT ADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDVGYDWPDT FDIWGQGTMTIVVSS
--------------	--------	--

ES 2 705 686 T3

SEQ ID No: 2	VH 005, CDR1	SYGFG
SEQ ID No: 3	VH 005, CDR2	RISPILGIANYAQMFQG
SEQ ID No: 4	VH 005, CDR3	DVGYDWPDTFDI
SEQ ID No: 5	VL 005	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSWLAWY QQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQYNSFPPTFGQGTVKVEIK
SEQ ID No: 6	VL 005, CDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID No: 7	VL 005, CDR2	AASSLQS
SEQ ID No: 8	VL 005, CDR3	QQYNSFPPT
SEQ ID No: 9	VH 006	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSFGIG WVRQAPGQGLEWMGRIFPILGTANYAQMFGGRVTIT ADKSTSTAYMELTSLRSEDYAVYYCARDVGYDSADAF DIWGQGTMTVSS
SEQ ID No: 10	VH 006, CDR1	SFGIG
SEQ ID No: 11	VH 006, CDR2	RIFPILGTANYAQMFGQG
SEQ ID No: 12	VH 006, CDR3	DVGYSADAFDI
SEQ ID No: 13	VL 006	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSWLAWY QQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQYNSYPPTFGQGTVKVEIK
SEQ ID No: 14	VL 006, CDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID No: 15	VL 006, CDR2	AASSLQS
SEQ ID No: 16	VL 006, CDR3	QQYNSYPPT
SEQ ID No: 17	VH 008	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGW VRQMPGKGLEWMGIYPGDSEYRSPSFGGQVTISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEITGEFDYW GQGTLVTVSS

ES 2 705 686 T3

SEQ ID No: 18	VH 008, CDR1	SYWIG
SEQ ID No: 19	VH 008, CDR2	IYPGDSETRYSPSFQG
SEQ ID No: 20	VH 008, CDR3	QEITGEFDY
SEQ ID No: 21	VL 008	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQ QKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQFNSYPRTFGQGTKVEIK
SEQ ID No: 22	VL 008, CDR1	RASQGISSALA
SEQ ID No: 23	VL 008, CDR2	DASSLES
SEQ ID No: 24	VL 008, CDR3	QQFNSYPRT
SEQ ID No: 25	VH 022	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARELLWFGELW GYFDLWGRGTLVTVSS
SEQ ID No: 26	VH 022, CDR1	SYAMH
SEQ ID No: 27	VH 022, CDR2	VISYDGSNKYYADSVKG
SEQ ID No: 28	VH 022, CDR3	ELLWFGELWGYFDL
SEQ ID No: 29	VL 022	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGDFTL TISSLQPEDFATYYCQEASSFTWTFGQGTKVEIK
SEQ ID No: 30	VL 022, CDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID No: 31	VL 022, CDR2	AASSLQS
SEQ ID No: 32	VL 022, CDR3	QEASSFTWT
SEQ ID No: 33	VH 024	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSSYAMSW VRQAPGKGLEWVSAISGSSGGSTYYVDSVKGRFTIS RANSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLDRGWMG YFGYWGGTGLVTVSS

ES 2 705 686 T3

SEQ ID No: 34	VH 024, CDR1	SYAMS
SEQ ID No: 35	VH 024, CDR2	AISGSSGGSTYYVDSVKG
SEQ ID No: 36	VH 024, CDR3	DLDRGWMGYFGY
SEQ ID No: 37	VL 024	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISSWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANSFPTFGQGTRLEIK
SEQ ID No: 38	VL 024, CDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID No: 39	VL 024, CDR2	AASSLQS
SEQ ID No: 40	VL 024, CDR3	QQANSFPT
SEQ ID No: 41	VH 035	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGW VRQMPGKGLEWMGIYPGDS DTRYSPSFQGGVTISA DKSISTAYLQWNSLKASDTAMYCARQEITGEFDYW GGTLTVSS
SEQ ID No: 42	VH 035, CDR1	SYWIG
SEQ ID No: 43	VH 035, CDR2	IYPGDS DTRYSPSFQG
SEQ ID No: 44	VH 035, CDR3	QEITGEFDY
SEQ ID No: 45	VL 035	AIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSALAWYQ QKPGKAPKLLIYDASSLESVPSRFSGSGSGDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQFNSYPMYTFGGGTKLEIK
SEQ ID No: 46	VL 035, CDR1	RASQGISSALA
SEQ ID No: 47	VL 035, CDR2	DASSLES
SEQ ID No: 48	VL 035, CDR3	QQFNSYPMYT
SEQ ID No: 49	VH 045	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYAMSW VRQAPGKGLEWVSVISGSGGITYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGWGS DYW GGTLTVSS

ES 2 705 686 T3

SEQ ID No: 50	VH 045, CDR1	SYAMS
SEQ ID No: 51	VH 045, CDR2	VISGSGGITYYADSVKG
SEQ ID No: 52	VH 045, CDR3	DRGWGSDY
SEQ ID No: 53	VL 045	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQRSNWPFTFGPGTKVDIK
SEQ ID No: 54	VL 045, CDR1	RASQSVSSYLA
SEQ ID No: 55	VL 045, CDR2	DASNRAT
SEQ ID No: 56	VL 045, CDR3	QQRSNWPFT
SEQ ID No: 57	VH 058	EVQLVESGGGLVVKPGGSLKLSAASGFTFSDYYMYW VRQTPEKRLEWVATISDDGSYTYYPDSVKGRFTISRD NAKNNLYLQMSSLKSEDTAMYYCAREGLYYYGSGSY YNQDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID No: 58	VH 058, CDR1	DYYMY
SEQ ID No: 59	VH 058, CDR2	TISDDGSYTYYPDSVKG
SEQ ID No: 60	VH 058, CDR3	EGLYYYGSGSYYNQDY
SEQ ID No: 61	VL 058	AIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGLSSALAWYR QKPGKAPKLLIYDASSLESVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQFTSYPQITFGQGTRLEIK
SEQ ID No: 62	VL 058, CDR1	RASQGLSSALA
SEQ ID No: 63	VL 058, CDR2	DASSLES
SEQ ID No: 64	VL 058, CDR3	QQFTSYPQIT
SEQ ID No: 65	VH 061	QLQLQESGSGLVKPSQTLTLTCAVSGGSISSGGHWS SWIRQPPGKGLEWIGX1IYHSGNTYDNP SLKSRVTIA VDRSKNQLSLKLSFLTAADTAVYYCARSSYDFLTDWG QGTLVTVSS, donde X1 es cualquier aminoácido, preferentemente C, S, Y o A

ES 2 705 686 T3

SEQ ID No: 66	VH 061, CDR1	SGGHSWS
SEQ ID No: 67	VH 061, CDR2	X1IYHSGNTYDNPSLKS, donde X1 es cualquier aminoácido, preferentemente C, S, Y o A
SEQ ID No: 68	VH 061, CDR3	SSYDFLTD
SEQ ID No: 69	VL 061	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGSSWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANGFPITFGQGTRLEIK
SEQ ID No: 70	VL 061, CDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID No: 71	VL 061, CDR2	AASSLQS
SEQ ID No: 72	VL 061, CDR3	QQANGFPIT
SEQ ID No: 73	VH 062	QLQLQESGSGLVKPSQTLTLTCAVSGGSISSGGHSW SWIRQPPGKGLEWIGX1IYHSGNTYDNPSLKSRTIA VDRSKNQLSLKLSFVTAADTA VYYCARSSYDILTDWG QGTLTVSS, donde X1 es cualquier aminoácido, preferentemente C, S, Y o A
SEQ ID No: 74	VH 062, CDR1	SGGHSWS
SEQ ID No: 75	VH 062, CDR2	X1IYHSGNTYDNPSLKS, donde X1 es cualquier aminoácido, preferentemente C, S, Y o A
SEQ ID No: 76	VH 062, CDR3	SSYDILTD
SEQ ID No: 77	VL 062	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGSSWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANGFPITFGQGTRLEIK
SEQ ID No: 78	VL 062, CDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID No: 79	VL 062, CDR2	AASSLQS
SEQ ID No: 80	VL 062, CDR3	QQANGFPIT
SEQ ID No: 81	VH 064	QLQLQESGSGLVKPSQTLTLTCAVSGGSISSGGHSW SWIRQPPGKGLEWIGX1IYHSGNTYDNPSLKSRTIS VDRSKNQVSLKLSVTAADTAVYYCARSSYDILTDW GQGLTVSS, donde X1 es cualquier aminoácido, preferentemente C, S, Y o A

ES 2 705 686 T3

SEQ ID No: 82	VH 064, CDR1	SGGHSWS
SEQ ID No: 83	VH 064, CDR2	X1IYHSGNTYDNPSLKS, donde X1 es cualquier aminoácido, preferentemente C, S, Y o A
SEQ ID No: 84	VH 064, CDR3	SSYDILTD
SEQ ID No: 85	VL 064	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGSSWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANGFPITFGQGTRLEIK
SEQ ID No: 86	VL 064, CDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID No: 87	VL 064, CDR2	AASSLQS
SEQ ID No: 88	VL 064, CDR3	QQANGFPIT
SEQ ID No: 89	VH 068	QLQLQESGSLVKPSQTLTLTCAVSGGSISSGGYSW SWIRQPPGKGLEWIGX1IYHSGSTYYNPSLKSRTIS VDRSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARSSYDILTDW GQGTLVTVSS, donde X1 es cualquier aminoácido, preferentemente C, S, Y o A
SEQ ID No: 90	VH 068, CDR1	SGGYSWS
SEQ ID No: 91	VH 068, CDR2	X1IYHSGSTYYNPSLKS, donde X1 es cualquier aminoácido, preferentemente C, S, Y o A
SEQ ID No: 92	VH 068, CDR3	SSYDILTD
SEQ ID No: 93	VL 068	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGSSWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGTRLEIK
SEQ ID No: 94	VL 068, CDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID No: 95	VL 068, CDR2	AASSLQS
SEQ ID No: 96	VL 068, CDR3	QQANSFPIT
SEQ ID No: 97	VH 069	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCETSGYTFTSYGISW VRQAPGHGLEWMGWISAYNGYTNYAQKLQGRVTMT TDTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTNYFDY WGQGTLVTVSS

ES 2 705 686 T3

SEQ ID No: 98	VH 069, CDR1	SYGIS
SEQ ID No: 99	VH 069, CDR2	WISAYNGYTNYAQLQG
SEQ ID No: 100	VH 069, CDR3	DLRGTNYFDY
SEQ ID No: 101	VL 069	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISNWLAWF QHKPGKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGTRLEIK
SEQ ID No: 102	VL 069, CDR1	RASQGISNWL
SEQ ID No: 103	VL 069, CDR2	AASSLLS
SEQ ID No: 104	VL 069, CDR3	QQANSFPIT
SEQ ID No: 105	VH 096	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGW VRQMPGKGLEWMGIYPGDS DTRYSPSFQGVQVTISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEITGDFDYW GGGTLVTVSS
SEQ ID No: 106	VH 096, CDR1	SYWIG
SEQ ID No: 107	VH 096, CDR2	IYPGDS DTRYSPSFQG
SEQ ID No: 108	VH 096, CDR3	QEITGDFDY
SEQ ID No: 109	VL 096	AIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSALAWYQ QKPGKAPNLLIYAASSLESVPSRFSGSGSGDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIK
SEQ ID No: 110	VL 096, CDR1	RASQGISSALA
SEQ ID No: 111	VL 096, CDR2	AASSLES
SEQ ID No: 112	VL 096, CDR3	QQFNSYPLT
SEQ ID No: 113	VH 098	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTNFGISW VRQAPGQGLEWMGWISAFNGHTDYSQKVQGRVTM TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVFYCARSHYYGSGSP FDYWGGGTLVTVSS

ES 2 705 686 T3

SEQ ID No: 114	VH 098, CDR1	NFGIS
SEQ ID No: 115	VH 098, CDR2	WISAFNGHTDYSQKVQG
SEQ ID No: 116	VH 098, CDR3	SHYYGSGSPFDY
SEQ ID No: 117	VL 098	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWY QQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCHQYKSYPTWTFGQGTKEIK
SEQ ID No: 118	VL 098, CDR1	RASQGISNWL
SEQ ID No: 119	VL 098, CDR2	AASSLQS
SEQ ID No: 120	VL 098, CDR3	HQYKSYPT
SEQ ID No: 121	VH 101	QVQLVQSGGEVKKPGASVKVSKASGYTFRHGITW VRQAPGGLEWMGWISADNGNTNYAQKFQDRVMT TDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYFCARVFRYFDWLL PYFDYWGGTLVTVST
SEQ ID No: 122	VH 101, CDR1	RHGIT
SEQ ID No: 123	VH 101, CDR2	WISADNGNTNYAQKFQD
SEQ ID No: 124	VH 101, CDR3	VFRYFDWLLPYFDY
SEQ ID No: 125	VL 101	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWY QQKPGQAPRLLIYGVFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPYTFGQGTKEIK
SEQ ID No: 126	VL 101, CDR1	RASQSVSSSYLA
SEQ ID No: 127	VL 101, CDR2	GVFSRAT
SEQ ID No: 128	VL 101, CDR3	QQYGSSPYT
SEQ ID No: 129	VH 181	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYGISW VRQAPGGLEWMGWISTYNGYNTNYAQKLQGRVTMT TDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTAYFDY WGQGTLVTVSS

ES 2 705 686 T3

SEQ ID No: 130	VH 181, CDR1	SYGIS
SEQ ID No: 131	VH 181, CDR2	WISTYNGYTNYAQLQG
SEQ ID No: 132	VH 181, CDR3	DLRGTAYFDY
SEQ ID No: 133	VL 181	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISNWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGTRLEIK
SEQ ID No: 134	VL 181, CDR1	RASQGISNWL
SEQ ID No: 135	VL 181, CDR2	AASSLLS
SEQ ID No: 136	VL 181, CDR3	QQANSFPIT
SEQ ID No: 137	VH 066	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCEASGYTFTSYGISW VRQAPGHGLEWMGWISAYNGYTNYAQLQGRVTMT ADTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTNYFDY WGQGLVTVSS
SEQ ID No: 138	VL 066	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISNWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGTRLEIK
SEQ ID No: 139	VH 065	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCEASGYTFTNYGISW VRQAPGHGLEWMGWISAYNGYTNYAQLQGRVTMT TDTSI 1 IAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTNYFDY WGQGLVTVSS
SEQ ID No: 140	VL 065	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISNWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGTRLEIK
SEQ ID No: 141	VH 082	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCETSGYTFTSYGISW VRQAPGHGLEWMGWISAYNGYTNYAQLQGRVTMT TDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTNYFDY WGQGLVTVSS
SEQ ID No: 142	VL 082	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISNWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGTRLEIK
SEQ ID No: 143	VH 089	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCETSGYTFTSYGISW VRQAPGHGLEWMGWISAYNGYTNYAQLQGRVTMT TDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTNYFDY WGQGLVTVSS
SEQ ID No: 144	VL 089	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISNWLAWF QHKPGKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGTRLEIK
SEQ ID No: 145	VH 031	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYGF WVRQAPGQGLEWMGRISPILGITNYAQMFGGRVTIT ADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDVGYDWPDT FDIWGQGTMVIVSS

ES 2 705 686 T3

SEQ ID No: 146	VL 031	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWY QQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQYNSFPPTFGQGTKVEIK
SEQ ID No: 147	VH 007	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYGIG WVRQAPGQGLEWMGRIFPILGTANYAQMFQGRVTIT ADKSTSTAYIELTSLRSEDVAVYYCARDVGYDSADAF DIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID No: 148	VL 007	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWY QQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQYNSYPPTFGQGTKVEIK
SEQ ID No: 149	VH 011	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYGIG WVRQAPGQGLEWMGRVFPILGTANYAQMFQGRVTI TADKSTSTAYMELTSLRSEDVAVYYCARDVGYDSAD AFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID No: 150	VL 011	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWY QQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQYNSYPPTFGQGTKVEIK
SEQ ID No: 151	VH 017	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGKGLEWVAFISYDGSNKYFADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARELLWFGELW GYFDLWGRGTLTVTVSS
SEQ ID No: 152	VL 017	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQEANSFTWTFQGQTKVEIK
SEQ ID No: 153	VH 025	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGKGLEWVAFISYDGSNKDYADSVKGRFTIF RDNSKNTLYLQMSSLRAADTAVYYCARELLWFGELW GYFDLWGRGTLTVTVSS
SEQ ID No: 154	VL 025	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQTNSFTWTFQGQTKVEIK
SEQ ID No: 155	VH 040	EVQLLES GGGLVQP GGS LRLSCAASGFTFSSYAMTW VRQAPGKGLEWVSVISGSGGITYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRWGSDYW QGGLTVTVSS
SEQ ID No: 156	VL 040	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQRSNWPFTFGPGTKVDIK
SEQ ID No: 157	VH 039	EVQLLES GGGLVQP GGS LRLSCAASGFTFN NYAMSW VRQAPGKGLEWVSAISGSGGITYYADSEKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDRGWGSDCWG QGGLTVTVSS
SEQ ID No: 158	VL 039	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQRSNWPFTFGPGTKVDIK
SEQ ID No: 159	VH 078	QLQLQESGSLVKPSQTLTCAVSGGSISSGGHSW SWIRQPPGKLEWIGCLYHSGNTYYNPSLKSRVTISV DRSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARSSYDILT DWG QGILVTVSS
SEQ ID No: 160	VL 078	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGTREIK

ES 2 705 686 T3

SEQ ID No: 161	VH 084	QLQLQESGSLVKPSQTLSTCGVSGGSISSGGHSW SWIRQPPGKLEWIGLYHSGNTYYNPSLKSRVTISV DRSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARSSYDILTDWG QGTLVTVSS
SEQ ID No: 162	VL 084	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGTRLEIK
SEQ ID No: 163	VH 063	QLQLQESGSLVKPSQTLSTCAVSGGSISSGGHSW SWIRQPPGKLEWIGCIYHSGNTYDNPSLKSRVTIAV DRSKNQLSLKLSFVTAADTAVYYCARSSYDILTDWG QGTLVTVSS
SEQ ID No: 164	VL 063	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANGFPITFGQGTRLEIK
SEQ ID No: 165	VH 087	QLQLQESGSLVKPSQTLSTCAVSGGSISSGGHSW SWIRQPPGKLEWIGCIYHSGNTYDNPSLKSRVTISV DRSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARSSYDILTDWG QGTLVTVSS
SEQ ID No: 166	VL 087	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWLAWY QHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANGFPITFGQGTRLEIK
SEQ ID No: 167	VH 016	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYIFTSYWIGW VRQMPGKLEWMGIIPGDS TRYSPSFQGGQVTISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEVTDGDFDYW GGTLVTVSS
SEQ ID No: 168	VL 016	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQ QKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQFNYSYPLTFGGGTKVEIK
SEQ ID No: 169	VH 028	EVQLVQSGGEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGW VRQMPGKLEWMGIIPGDS TRYSPSFQGGQVTISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEVTDGDFDYW GGTLVTVSS
SEQ ID No: 170	VL 028	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQ QKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQFNYSYPLTFGGGTKVEIK
SEQ ID No: 171	VH 012	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGW VRQMPGKLEWMGIIPGDS TRYSPSFQGGQVTISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEITGDFDYW GGTLVTVSS
SEQ ID No: 172	VL 012	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQ QKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQFNYSYPRTFGGGTKVEIK
SEQ ID No: 173	VH 095	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGW VRQMPGKLEWMGIIPGDSNTRYSPSFQGGQVTISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEITGDFDYW GGTLVTVSS
SEQ ID No: 174	VL 095	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQ QKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQFNYSYPLTFGGGTKVEIK

ES 2 705 686 T3

SEQ ID No: 175	VH 093	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGW VRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGV TISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARQEITGDFDYW GQGTLTVSS
SEQ ID No: 176	VL 093	AIQLTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQGISSALAWYQ QKPGKAPNLLIYAASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQFN SYPLTFGGGTKVEIK
SEQ ID No: 177	VH 104	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFISYWIGW VRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGV TISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARQEITGDFDYW GQGTLTVSS
SEQ ID No: 178	VL 104	AIQLTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQGISSALAWYQ QKPGKAPKLLIYVASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTI TSLQPEDFATYYCQQFN SYPI TFQGQTRLEIK

Tabla 2: Homologías de origen y secuencia de cadena pesada de ratón

Anticuerpo:	Número de ratón:	Estirpe de ratón:	Línea germinal de la VH:
TH1016-005	339732	HCo12B, C1	IgHV1-69-4
TH1016-006	339732	HCo12B, C1	IgHV1-69-4
TH1016-008	339732	HCo12B, C1	IgHV5-51-1
TH1016-022	339733	HCo12B, C1	IgHV3-30-3*1
TH1016-024	339733	HCo12B, C1	IgHV3-23-1
TH1016-035-D09	339732	HCo12B, C1	IgHV5-51-1
TH1016-045	339282	HCo17, C1	IgHV3-23-1
TH1016-058	343191	HCo12B, C2	IgHV3-11-3
TH1016-061	348072	HCo20, C2	IgHV4-30-2*1
TH1016-062	348072	HCo20, C2	IgHV4-30-2*1
TH1016-064	348072	HCo20, C2	IgHV4-30-2*1
TH1016-068	348072	HCo20, C2	IgHV4-30-2*1
TH1016-069	348072	HCo20, C2	IgHV1-18-1
TH1016-096	339732	HCo12B, C1	IgHV5-51-1
TH1016-098	347330	HCo20, C2	IgHV1-18-1
TH1016-101	340659	HCo20, C1	IgHV1-18-1
TH1016-181	348072	HCo20, C2	IgHV1-18-1

Tabla 3: Homologías de origen y secuencia de cadena ligera de ratón

Anticuerpo:	Número de ratón:	Estirpe de ratón:	Línea germinal:
PC1016-005	339732	HCo12B, C1	IGKV1D-16*01
PC1016-006	339732	HCo12B, C1	IGKV1D-16*01
PC1016-008	339732	HCo12B, C1	IGKV1-13*02
PC1016-022	339733	HCo12B, C1	IGKV1-12*01
PC1016-024	339733	HCo12B, C1	IGKV1-12*01
P1016-035	339732	HCo12B, C1	IGKV1-13*02
PC1016-045	339282	HCo17, C1	IGKV3-11*01

Anticuerpo:	Número de ratón:	Estirpe de ratón:	Línea germinal:
PC1016-058	343191	HCo12B, C2	IGKV1-13*02
PC1016-061	348072	HCo20, C2	IGKV1-12*01
PC1016-062	348072	HCo20, C2	IGKV1-12*01
PC1016-064	348072	HCo20, C2	IGKV1-12*01
PC1016-068	348072	HCo20, C2	IGKV1-12*01
PC1016-069	348072	HCo20, C2	IGKV1-12*01
PC1016-096	339732	HCo12B, C1	IGKV1-13*02
PC1016-098	347330	HCo20, C2	IGKV1D-16*01
PC1016-101	340659	HCo20, C1	IGKV3-20*01
PC1016-181	348072	HCo20, C2	IGKV1-12*01

Las **Figuras 1 y 2** dan el alineamiento de secuencias de HuMab. Basándose en estas secuencias, se puede definir la secuencia de consenso para algunas de las secuencias de las CDR. Estas secuencias de consenso se dan en la Tabla 4.

5

Tabla 4: Secuencias de consenso

SEQ ID No: 179 005-006	IgHV1-69-4	CDR1	SX1X2X3X4	donde X1=Y o F, X2=A o G, X3=F o I, X4=S o G. Preferentemente, donde X1=Y o F, X2=G, X3=F o I y X4=G.
SEQ ID No: 180 005-006	IgHV1-69-4	CDR2	RX1X2PILGX3X4NYAQX5FQG	donde X1=I o V, X2=I, S o F, X3=I o T, X4=A o T, X5=K o M. Preferentemente, donde X1=I o V, X2=S o F, X3=I o T, X4=A o T y X5=M.
SEQ ID No: 181 005-006	IgHV1-69-4	CDR3	DVGYDX1X2DX3FDI	donde X1=W o S, X2=P o A, X3=T o A
SEQ ID No: 182 008-035	IgHV5-51-1	CDR2	IIPGDSX1TRYSPSFQG	donde X1=D, E o N
SEQ ID No: 183 008-035-096	IgHV5-51-1	CDR3	QEX1TGX2FDY	donde X1=V o I, X2=E o D
SEQ ID No: 184 022	IgHV3-30-3*1	CDR2	X1ISYDGSX2KX3X4ADSVKG	donde X1=V o F, X2=N o S, X3=D o Y, X4=Y o F
SEQ ID No: 185 024	IgHV3-23-1	CDR2	AISGSX1GGSTYYX2DSVKG	donde X1=S o no aa, X2=V o A
SEQ ID No: 186 045	IgHV3-23-1	CDR1	X1YAMX2	donde X1=S o N, X2=S o T
SEQ ID No: 187 045	IgHV3-23-1	CDR2	X1ISGSGGX2TYYADXSX3KG	donde X1=A o V, X2=S o I, X3=V o E. Preferentemente, donde X1=A o V, X2=I y X3=V o E.
SEQ ID No: 188 045	IgHV3-23-1	CDR3	DRGWGSDX1	donde X1=Y o C
SEQ ID No: 189 058	IgHV3-11-3	CDR1	DYYMX1	donde X1=Y o S

ES 2 705 686 T3

SEQ ID No: 190 058	IgHV3-11-3	CDR2	X1ISX2X3X4SYTX5YX6DSVKG	donde X1=T o Y, X2=D o S, X3=D o S, X4=G o S, X5=Y o N, X6=P o A
SEQ ID No: 191 062-064-068	IgHV4-30-2*1	CDR1	SGGX1SWS	donde X1=Y o H
SEQ ID No: 192 062-064-068	IgHV4-30-2*1	CDR2	X1X2YHSGX3TYX4NPSLKS	donde X1=cualquier aminoácido, Preferentemente C, Y, S o A, X2=I o L, X3=S o N, X4=Y o D
SEQ ID No: 193 062-064-068	IgHV4-30-2*1	CDR3	SSYDX1LTD	donde X1=F o I
SEQ ID No: 194 069-181	IgHV1-18-1	CDR1	X1YGIS	donde X1=S o N
SEQ ID No: 195 069-181	IgHV1-18-1	CDR2	WISX1YNGX2TNYAQKLQG	donde X1=A o T, X2=N o Y. Preferentemente donde X1=A o T y X2=Y
SEQ ID No: 196 069-181	IgHV1-18-1	CDR3	DLRGTX1YFDY	donde X1=A o N
SEQ ID No: 197 098	IgHV1-18-1	CDR1	X1X2GIS	donde X1=N o S, X2=F o Y
SEQ ID No: 198 098	IgHV1-18-1	CDR2	WISAX1NGX2TX3YX4QKX5QG	donde X1=F o Y, X2=H o N, X3=D o N, X4=S o A, X5=V o L
SEQ ID No: 199 101	IgHV1-18-1	CDR1	X1X2GIX3	donde X1=R o S, X2=H o Y, X3=T o S
SEQ ID No: 200 101	IgHV1-18-1	CDR2	WISAX1NGNTNYAQKX2QX3	donde X1=D o Y, X2=F o L, X3=D o G
SEQ ID No: 201 101	IgHV1-18-1	CDR3	VX1RYFDWLLX2YFDY	donde X1=F o L, X2=P o no aa
SEQ ID No: 202 005-006	IGKV1D-16*01	CDR3	QQYNSX1PX2T	donde X1=Y o F, X2=P o W. Preferentemente, donde X1=Y o F y X2=P
SEQ ID No: 203 008-035	IGKV1-13*02	CDR2	X1ASSLES	donde X1=D, V o A
SEQ ID No: 204 008-035	IGKV1-13*02	CDR3	QQFNSYPLX1T	donde X1=R, I, L, W o MY
SEQ ID No: 205 022	IGKV1-12*01	CDR3	QX1X2X3SFX4WT	donde X1=Q o E, X2=A o T, X3=N o S; X4=P o T
SEQ ID No: 206 024	IGKV1-12*01	CDR3	QQANSFPX1T	donde X1=I o no aa
SEQ ID No: 207 058	IGKV1-13*02	CDR3	QQFX1SYPX2IT	donde X1=T o N, X2=Q o no aa
SEQ ID No: 208 062-064-068	IGKV1-12*01	CDR3	QQANX1FPIT	donde X1=G o S
SEQ ID No: 209 069-181	IGKV1-12*01	CDR1	RASQGIX1WLA	donde X1=S o N

SEQ ID No: 210 069-181	IGKV1-12*01	CDR2	AASSLX1S	donde X1=Q o L
SEQ ID No: 211 098	IGKV1D- 16*01	CDR3	X1QYX2SYPWT	donde X1=H o Q, X2=K o N
SEQ ID No: 212 101	IGKV3-20*01	CDR2	GX1X2SRAT	donde X1=V o A, X2=F o S

Ejemplo 12: Purificación de anticuerpos

5 El sobrenadante del cultivo se filtró con filtros sin salida de 0,2 mm y se cargaron en columnas MabSelect SuRe de 5 ml (GE HealthCare) y se eluyeron con 0,1 M de citrato sódico-NaOH, pH 3. El eluido se neutralizó inmediatamente con 2 M de Tris-HCl, pH 9 y se dializó durante una noche a 12,6 mM de NaH_2PO_4 , 140 mM de NaCl, pH 7,4 (B. Braun). De manera alternativa, después de la purificación el eluido se carga en una columna de desalación HiPrep y el anticuerpo se intercambia a un tampón de 12,6 mM de NaH_2PO_4 , 140 mM de NaCl, pH 7,4 (B. Braun). Después de la diálisis o el intercambio de tampón, las muestras se esterilizan por filtración en filtros sin salida de 0,2 mm. La pureza se determinó por SDS-PAGE y se midió la concentración por nefelometría y absorbancia a 280 nm. Los anticuerpos purificados se almacenaron a 4 °C. Se llevó a cabo la espectrometría de masas para identificar la masa molecular de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo que expresaban los hibridomas como se describe en el Ejemplo 10.

15 Ejemplo 13: Unión de los clones anti-c-Met a las células tumorales que expresan c-Met unido a la membrana medido por medio de análisis FACS

20 La unión de los anticuerpos anti-c-Met y las formas monovalentes de los mismos (también denominados “moléculas UniBody” en el presente documento, véase el Ejemplo 5) contra las células A431 que expresan c-Met unido a la membrana (adquiridas en la ATCC CRL-1555) se ensayaron utilizando citometría de flujo (FACS Canto II, BD Biosciences). El análisis Qifi (Dako, Glostrup, Dinamarca) reveló que las células A431 expresan de medio 30.000 copias de proteína c-Met por célula. La unión de los anticuerpos anti-c-Met y moléculas UniBody se detectó utilizando un anticuerpo de cabra anti-IgG humana conjugado con Ficoeritrina (Jackson). Se utilizó la IgG1-5D5 como anticuerpo de control positivo y se utilizó HuMab-KLH como anticuerpo de control de isotipo. Se determinaron los valores de la CE_{50} mediante regresión no lineal (respuesta a la dosis sigmoidal con pendiente variable) utilizando el software GraphPad Prism V4.03 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

30 La Figura 3 muestra que todos los anticuerpos anti-c-Met ensayados y las moléculas UniBody se unían al c-Met que se expresaban en las células A431 de una manera dependiente de la dosis. Los valores de CE_{50} para la unión variaba entre 0,28-1,92 nM para la IgG y de 0,52-13,89 nM para las moléculas UniBody. De manera interesante, el anticuerpo IgG1-024 demostró altos niveles de unión no saturada con las células A541, lo que no se observó cuando se ensayó la unión a las células HT-29 (adquiridas en la ATCC, HTB-38™) (datos no mostrados). Para los anticuerpos 022, 024, 062, 064, 069, 098, 101 y 181, se observaron ninguna o menos de 2 veces de disminución en los valores de la CE_{50} entre IgG1 y moléculas UniBody de clones idénticos. Tampoco cambiaron los niveles máximos de unión entre IgG2 y moléculas UniBody. Para los anticuerpos 005, 006, 008, 035, 045 y 058, por otra parte, se observaba una disminución de más de dos veces en el valor de la CE_{50} , así como una disminución en el nivel de unión máxima cuando se comparaba la IgG1 con su equivalente UniBody. Esto se debía más probablemente a las velocidades de disociación menores (K_d) de estos anticuerpos (véase el Ejemplo 14).

40 Ejemplo 14: Ensayo Octet de clasificación de afinidad

45 Se analizó la unión del anticuerpo a cMetECDHis mediante una tecnología Interferometría Bio-Layer (BLI) en el Sistema Octet (Fortebio, Menlo Park, USA). Se utilizaron biosensores revestidos de anti-IgG humana (específica de Fc) para capturar los anticuerpos anti-c-Met de acuerdo con el procedimiento recomendado por el fabricante. Se cargó el cMetECDHis derivado de las células HEK293 en la parte superior de los anticuerpos anti-c-Met inmovilizados colocando el biosensor cargado en un pocillo que contenía 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de cMetECDHis diluido en 10 veces de tampón Kinetics diluido (Fortebio). La diferencia en la reflexión de la luz ($\Delta\lambda$, nm) de la superficie del biosensor debido a la unión de cMetECDHis se midió en tiempo real durante aproximadamente 10 minutos y se utilizó para el software Octet (V4.0 Fortebio) para calcular la constante de asociación (k_a [1/M x s]). A continuación, el biosensor cargado se colocó en un pocillo que contenía solo tampón kinetics (diluido 10 veces en PBS) para determinar la constante de disociación (k_d [1/s]). Se llevó a cabo el análisis kinetics para determinar la afinidad (K_D [M]) utilizando el modelo 1:1 (Langmuir). Como control positivo, se utilizaron 0,2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de IgG1-5D5 producida en células HEK293.

55 La Tabla 5 muestra que todos los anticuerpos anti-c-Met se unían a cMetECDHis con afinidades nanomolares en el intervalo de 0,6-13,9 nM.

Tabla 5: constantes cinéticas (k_a , k_d y K_D) de los anticuerpos de la unión con cMetECDHis

Clon	k_a [1/Ms]	k_d [1/s]	K_D [M]
5D5	2,14E+05	1,25E-03	5,86E-09
005	3,18E+05	2,52E-03	7,92E-09
006	4,25E+05	4,20E-03	9,89E-09
008	3,08E+05	1,57E-03	5,12E-09
022	2,36E+05	2,51E-04	1,06E-09
024	1,45E+05	2,28E-04	1,57E-09
035	2,64E+05	3,68E-03	1,39E-08
045	7,21E+05	2,07E-03	2,87E-09
058	4,64E+05	1,25E-03	2,70E-09
061	2,56E+05	1,53E-04	5,96E-10
062	2,73E+05	3,19E-04	1,17E-09
064	2,84E+05	3,24E-04	1,14E-09
068	3,21E+05	1,35E-03	4,21E-09
069	2,12E+05	2,67E-04	1,26E-09
096	1,96E+05	5,00E-04	2,55E-09
098	1,64E+05	2,97E-04	1,82E-09
101	1,69E+05	2,14E-04	1,27E-09
181	2,37E+05	5,31E-04	2,23E-09
Excepto para 5D5, cada muestra se midió una vez			

Ejemplo 15: Unión de los anticuerpos anti-c-Met al c-Met unido a la membrana expresado en células epiteliales de mono Rhesus medido por medio del análisis FACS

5 Para determinar la reactividad cruzada con el c-Met de mono Rhesus, se ensayó la unión de anticuerpos anti-c-Met a las células epiteliales de mono Rhesus positivas a c-Met (4MBr-5 obtenidas en la ATCC) utilizando citometría de flujo (FACS Canto II, BD Biosciences). Se utilizó un anticuerpo de cabra anti-IgG humana conjugado con ficoeritrina (Jackson) como conjugado secundario. Se utilizó el HuMab-KLH como anticuerpo de control de isotipo.

10 La Figura 4 demuestra que todos los anticuerpos anti-c-Met ensayados eran reactivos de manera cruzada con el c-Met de mono Rhesus. A las dos concentraciones ensayadas (0,5 $\mu\text{g/ml}$ y 10 $\mu\text{g/ml}$) los anticuerpos anti-c-Met eran capaces de unirse específicamente con el c-Met de mono Rhesus. Para todos los anticuerpos, la señal era al menos 4 veces mayor que el anticuerpo de control de isotipo HuMab-KLH. De manera interesante, el P1016-035 demostró niveles de fluorescencia superior mucho mayores (MFI de ~ 200.000) en comparación con otros anticuerpos específicos de c-Met. Esta diferencia no se observaba en las líneas celulares que expresaban el receptor de c-Met humano.

Ejemplo 16: Bloqueo de la unión del HGF con el dominio extracelular de c-Met determinado con un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA)

20 Se llevó a cabo un ELISA para analizar si los anticuerpos anti-c-Met podían bloquear la unión del factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) al receptor de c-Met. Por lo tanto, incubó el dominio extracelular de c-Met de revestimiento con un anticuerpo anti-c-Met sin marcar y HGF marcado fluorescentemente. Los anticuerpos no bloqueantes no competían con el HGF marcado por la unión con c-Met, dando como resultado una señal fluorescente máxima. Los anticuerpos bloqueantes compiten con el HGF marcado por la unión con c-Met, dando como resultado una disminución de la señal fluorescente.

30 El HGF (ProSpec Tany, Rehovot, Israel) se marcó fluorescentemente por conjugación con Europio³⁺ (PerkinElmer, Turku, Finlandia). Los pocillos de ELISA se revistieron durante una noche a 4 °C con 0,5 $\mu\text{g/ml}$ de dominio extracelular de c-Met humano (R&D systems, Minneapolis, USA) diluido en PBS. A continuación, los pocillos de ELISA se lavaron con PBST (PBS suplementado con un 0,05 % de Tween-20 [Sigma-Aldrich, Zwijndrecht, Holanda]) y se bloquearon durante una hora a temperatura ambiente (TA) con PBST suplementado con un 2 % (v/v) de suero

de pollo (Gibco, Paisley, Escocia). Después de un lavado con PBST, los pocillos de ELISA se incubaron durante una hora a TA protegidos de la luz con una mezcla de 50 µl de anticuerpo anti-c-Met diluido en serie (de 0,128-10.000 ng/ml en diluciones de 5 veces) y 50 µl de 0,44 µg/ml de HGF conjugado con Europio³⁺ en PBST. A continuación, el HGF conjugado con Europio³⁺ no unido se lavó con PBST y el HGF conjugado con Europio³⁺ unido se incubó durante 30 minutos a TA en oscuridad con solución de amplificación Delfia (PerkinElmer) para aumentar la señal fluorescente. Se midió la intensidad de fluorescencia media a 615 nm utilizando el lector EnVision 2101 Multilabel (PerkinElmer) aplicando los siguientes ajustes: espejo dual Lance/Delfia, filtro de emisión 615, filtro de excitación 340 nm, tiempo de demora 400 ms, ventana 400 ms, 100 flashes, 2000 ms por ciclo y lectura bidireccional fila a fila. Para determinar los valores de la CI₅₀, se analizaron las curvas de unión con regresión no lineal (respuesta a la dosis sigmoidal con pendiente variable, valores superiores restringidos a un valor compartido para todos los conjuntos de datos) utilizando un software GraphPad Prism V4.03 GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

La Figura 5 representa ejemplos de curvas de inhibición de la unión a HGF de los anticuerpos anti-c-Met de la unión con el dominio extracelular del c-Met humano recombinante. Se utilizó el 5D5 como anticuerpo de control positivo. Todos los anticuerpos anti-c-Met del experimento demostraban que eran capaces de competir con el HGF conjugado con Europio³⁺ por la unión con el c-Met recombinante. Los valores de la CI₅₀ variaban entre 0,0011-0,0794 µg/ml. Sin añadir el HGF conjugado con Europio³⁺, se detectaban aproximadamente ~ 600 unidades de fluorescencia relativa (UFR), que indicaba la señal a la que se consigue la máxima inhibición. Cuando no se inhibía la unión del HGF conjugado con Europio³⁺, se detectaban aproximadamente ~66.000 UFR. Los anticuerpos 005, 006, 0058, 101 y el anticuerpo de control positivo 5D5 eran capaces de inhibir el 84,5-92,1 % de la unión de HGF al receptor de c-Met. Todos los demás anticuerpos eran capaces de inhibir al menos un 55 % de la unión de HGF al c-Met. Aunque el HGF puede unirse al receptor de c-Met en el dominio SEMA y la región de Ig, algunos anticuerpos pueden inhibir solo una de estas interacciones. Para determinar cuál interacción se inhibió, se llevó a cabo un ensayo de inhibición de Transferencia de Energía por Resonancia de Fluorescencia Resuelta en el Tiempo basado en cMetSEMAHis (TR-FRET).

Ejemplo 17: Competición de anticuerpos anti-c-Met para la unión con cMetECDHis soluble medida con un ELISA sándwich

Primero, se determinaron las concentraciones de revestimiento óptimas de los anticuerpos anti-c-Met ensayados y la concentración óptima de cMetECDHis. Por lo tanto, los pocillos de ELISA se revistieron durante una noche a 4 °C con los HuMab anti-c-Met diluidos en serie en PBS (8 µg/ml en diluciones de dos veces). A continuación, los pocillos de ELISA se lavaron con PBST (PBS suplementado con un 0,05 % de Tween-20 [Sigma-Aldrich, Zwijndrecht, Holanda]) y se bloquearon durante una hora a temperatura ambiente (TA) con PBSTC (PBST suplementado con un 2 % (v/v) de suero de pollo [Gibco, Paisley, Escocia]). Posteriormente se lavaron los pocillos de ELISA con PBST y se incubaron durante una hora a TA con cMetECDHis biotinilado diluido en serie en PBSTC (1 µg/ml en diluciones de 2 veces). El cMetECDHis biotinilado no unido se lavó con PBST, y el cMetECDHis biotinilado unido se incubó durante una hora a TA con 0,1 µg/ml de poli-HRP-estreptavidina (Sanquin, Ámsterdam, Holanda) diluido en PBST. Después del lavado, la reacción se visualizó mediante una incubación de 15 minutos con ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzo-tiazolina-6-sulfónico (ABTS: se diluye un comprimido de ABTS en 50 ml de tampón ABTS [Roche Diagnostics, Almere, Holanda]) a TA protegido de la luz. La coloración se paró añadiendo un volumen igual de ácido oxálico (Sigma-Aldrich, Zwijndrecht, Holanda). Se midió la fluorescencia a 405 nm en un lector de placas de microtitulación (Biotek Instruments, Winooski, USA). Las condiciones que daban como resultado la unión sub-óptima (aprox. un 80 %) de cada anticuerpo se determinó y utilizó para los siguientes experimentos de bloqueo cruzado.

Los pocillos de ELISA se revistieron con anticuerpo anti-c-Met a una dosis sub-óptima como se ha descrito anteriormente. Después de bloquear los pocillos de ELISA se incubaron con la concentración predeterminada de cMetECDHis biotinilado en presencia de un exceso de anticuerpo anti-c-Met. La reacción se desarrolló como se ha descrito anteriormente. La unión residual se expresó como el porcentaje respecto a la unión observada en ausencia del anticuerpo competidor.

Tabla 6: Cuando se añadía como competidor, todos los anticuerpos anti-c-Met eran capaces de competir por la unión con sus equivalentes inmovilizados. Cuando se añadían los 022, 058 y 5D5 como anticuerpos competidores, competían con los anticuerpos 005 y 006. Sin embargo, la reacción inversa revelaba solo una competición parcial con los anticuerpos 005 y 006. Estas diferencias se pueden explicar por las afinidades menores de los anticuerpos 005 y 006 por el cMetECDHis biotinilado. El anticuerpo 5D5, cuando se añade como anticuerpo competidor, también demostraba una competición parcial con los anticuerpos 008 y 045, mientras que no se observaba o mínimamente una competición en la reacción inversa. Además, los anticuerpos 024, 062, 064, 068 y 181, cuando se añadían como anticuerpos competidores, demostraron una competición parcial con el anticuerpo 101, mientras que la reacción inversa demostraba una inhibición completa de la unión con cMetECDHis. Los valores más altos del 100 % se puede explicar por los efectos de avidéz y la formación de complejos de anticuerpo-cMetECDHis que contienen dos anticuerpos no competidores.

Los anticuerpos 024, 062, 064, 068, 069, 098, 101 y 181 compiten entre ellos por la unión con el cMetECDHis. Se consideró que los anticuerpos 005, 006, 022 y 058 pertenecen a un grupo de bloqueo cruzado, un grupo que se caracteriza por la competición completa con 005, 006, 022, 058 y 5D5. Sin embargo, el anticuerpo 5D5 era el único

anticuerpo que era capaz también de competir por la unión con el anticuerpo 045. Otro grupo de anticuerpos que compite por la unión con cMetECDHis está formado por 008, 035 y G11-HZ.

Tabla 6: Competición de anticuerpos anti-c-Met por la unión al cMetECDHis biotinilado
Anticuerpo competidor

Anticuerpo inmovilizado	005	006	008	022	024	035	045	058
005	7,7 ±1,1	18,2 ±3,6	81,9 ±3,1	4,9 ±1,3	113,5 ±5,0	84,9 ±0,2	116,9 ±7,0	3,6 ±0,1
006	11,3 ±0,9	14,6 ±0,7	58,8 ±2,2	4,6 ±0,3	113,3 ±1,0	67,5 ±4,2	114,5 ±3,5	3,6 ±0,3
008	63,9 ±3,1	47,3 ±1,2	5,4 ±0,3	82,1 ±3,0	103,2 ±0,4	32,9 ±1,0	100,4 ±3,8	40,8 ±0,8
022	37,9 ±3,9	60,5 ±4,0	94,1 ±3,5	3,8 ±1,2	99,4 ±4,8	92,4 ±0,4	95,7 ±3,5	5,8 ±0,0
024	98,4 ±10,4	101,4* ±16,7	104,2* ±12,7	100,2 * ±9,0	5,4 ±0,5	108,1* ±5,8	98,1* ±11,9	102,8* ±12,8
035	36,7 ±1,0	33,0 ±17,6	7,2 ±1,7	54,6 ±6,5	121,4 ±27,8	10,6 ±0,3	125,0 ±16,8	18,5 ±2,5
045	111,4 ±1,5	110,6 ±3,5	98,5 ±3,1	105,3 ±2,5	102,4 ±5,6	105,4 ±5,5	21,3 ±0,1	115,3* ±6,5
058	31,4 ±3,6	43,6 ±2,1	90,2 ±2,5	6,8 ±0,3	109,0 ±4,1	90,1 ±5,4	111,7 ±4,9	4,0 ±0,2
062	95,8 ±5,1	95,2 ±6,8	97,4 ±5,3	94,6 ±4,0	7,3 ±2,9	90,6 ±11,5	97,0 ±3,0	94,4 ±4,3
064	90,4 ±1,9	90,1* ±1,4	94,6* ±0,5	94,2 ±3,6	7,5 ±2,5	83,5 ±12,2	95,0 ±4,9	95,5 ±0,6
068	101,1 ±7,6	98,5 ±6,7	101,7 ±5,5	99,6 ±4,0	4,7 ±2,3	88,6 ±12,7	100,4 ±9,0	101,5 ±5,1
069	102,3 ±11,2	100,3 ±12,3	102,1 ±12,8	97,8 ±12,5	6,6 ±4,1	91,7 ±27,3	99,8 ±14,4	100,6 ±14,1
098	99,6 ±6,3	97,9 ±6,7	99,8 ±4,2	95,8 ±5,4	12,9 ±4,2	89,4 ±20,6	96,7 ±3,7	98,6 ±2,9
101	91,5 ±7,2	89,7 ±7,9	94,0 ±6,3	90,7 ±5,3	40,5 ±5,4	96,7 ±1,9	94,7 ±5,1	93,1 ±5,2
181	95,9 ±7,8	93,7 ±8,4	98,7 ±5,8	92,5 ±7,4	4,3 ±1,9	96,0 ±9,6	96,8 ±6,7	98,9 ±9,8
5D5	42,3 ±14,7	58,8 ±19,4	90,2 ±9,9	12,4 ±4,7	94,2 ±9,7	98,1	83,9 ±13,4	6,6 ±3,2
G11-HZ	50,5 ±7,6	47,7 ±2,9	33,3 ±0,2	54,3 ±3,7	98,8 ±5,6	32,8 ±4,0	72,0 ±9,9	27,6 ±4,3

5

Competición del 75 - >100 %
Competición del 25 - 74 %
Competición del 0 - 24 %

10

Anticuerpo de competición

Anticuerpo inmovilizado	062	064	068	069	098	101	181	5D5	G11-HZ
005	117,7 ±10,7	118,2 ±7,8	128,7 ±9,5	124,0 ±8,0	110,4 ±7,6	103,2 ±5,0	131,0 ±7,7	2,9 ±0,1	76,8 ±4,4
006	118,8 ±8,4	122,2 ±5,3	128,6 ±6,5	124,5 ±1,0	110,6 ±2,3	105,9 ±4,1	123,5 ±6,1	3,1 ±0,0	54,0 ±35,1
008	100,5 ±2,5	107,1 ±6,2	112,2 ±5,1	104,1 ±4,4	106,6 ±2,6	101,0 ±2,5	111,3 ±1,3	32,4 ±0,8	2,7 ±0,2
022	99,4 ±2,0	101,9 ±3,2	104,1 ±3,3	99,6 ±6,0	104,8 ±4,0	103,6 ±5,1	107,1 ±5,2	4,2 ±2,1	85,9 ±8,3
024	2,3 ±0,6	2,3 ±0,6	12,0 ±5,5	2,9 ±0,5	10,4 ±4,2	4,8 ±1,0	7,1 ±2,8	95,5* ±1,1	98,2* ±1,3
035	119,6 ±11,2	131,7 ±20,0	175,1 ±30,2	150,9 ±24,9	126,2 ±19,9	113,0 ±4,6	159,1 ±12,9	25,5 ±9,9	7,8 ±3,2
045	103,1 ±3,5	103,7 ±5,7	113,1 ±1,4	97,0 ±5,2	76,4 ±11,7	101,5 ±5,1	99,4 ±3,8	27,8 ±3,9	99,3 ±5,3
058	109,1 ±4,6	108,8 ±4,4	118,8 ±4,2	112,6 ±4,0	111,8 ±6,2	104,4 ±0,8	121,3 ±3,1	2,8 ±0,4	81,5 ±8,6
062	2,4 ±0,5	2,2 ±0,2	14,2 ±1,8	2,9 ±0,1	13,2 ±0,9	7,8 ±1,1	9,4 ±1,6	97,7 ±8,5	101,3 ±0,9
064	2,2 ±0,6	2,0 ±0,2	13,0 ±0,9	2,7 ±0,2	14,7 ±1,2	7,6 ±0,8	10,1 ±3,0	94,9* ±4,6	102,0 ±10,5
068	2,0 ±0,3	2,0 ±0,3	6,6 ±0,7	2,4 ±0,4	8,2 ±1,3	4,8 ±0,7	5,2 ±0,6	94,8 ±2,7	110,3 ±6,6
069	2,2 ±0,4	2,3 ±0,5	10,1 ±2,6	2,4 ±0,7	12,5 ±3,1	3,9 ±0,5	6,3 ±1,0	99,4 ±16,2	110,4 ±13,2
098	8,8 ±0,6	9,3 ±1,3	18,0 ±2,5	3,4 ±0,6	2,6 ±0,4	4,0 ±0,6	12,0 ±2,1	94,9 ±1,2	99,6 ±1,2
101	36,9 ±3,3	37,4 ±3,7	45,9 ±4,3	9,5 ±1,2	9,7 ±1,5	3,7 ±2,4	41,9 ±0,8	97,2 ±4,6	98,3 ±2,1
181	2,0 ±0,2	2,1 ±0,3	6,5 ±1,1	2,2 ±0,3	5,1 ±1,1	2,4 ±0,2	3,6 ±0,2	94,2 ±4,5	98,7 ±6,7
5D5	97,6 ±8,1	97,1 ±12,7	97,8 ±6,6	99,6 ±3,9	97,6 ±4,9	97,9 ±10,6	103,4 ±4,3	4,1 ±1,5	97,3
G11-HZ	95,3 ±3,1	99,2 ±0,6	102,6 ±1,3	95,0 ±8,4	96,2 ±11,8	90,1 ±6,8	101,1 ±5,2	29,1 ±9,2	2,6 ±0,4

Los datos que se muestran son porcentajes de inhibición de la unión ± la desv. típ. de 3 experimentos independientes. Para los anticuerpos 035, 5D5 y G11-HZ se llevó a cabo el ELISA de bloqueo cruzado solo dos veces. Además, varias reacciones de competición (*) daba como resultado valores de Densidad Óptima mayores de 5.0, que está por encima del límite de detección del lector de ELISA. Estos resultados se desecharon del análisis que resultaban en mediciones duplicadas.

5

10 Ejemplo 18: Bloqueo de la unión del HGF al cMetSEMA-567His8 determinado por medio de Transferencia de Energía por Resonancia de Fluorescencia Resuelta en el Tiempo (TR-FRET)

El HGF se puede unir al receptor de c-Met tanto en el dominio SEMA como en la región de la IgG. Sin embargo, se descubrió que solamente la unión al dominio SEMA era crucial para la activación del receptor. Por lo tanto, la interacción de los anticuerpos anti-c-Met con el dominio SEMA del receptor de c-Met se estudió utilizando la tecnología TR-FRET. Con el fin de llevar a cabo este ensayo basado en la proximidad homogénea, el factor de crecimiento del hepatocito (HGF, ProSpec Tany, Rehovot, Israel) se conjugó con un colorante receptor fluorescente:

15

AlexaFluor-647 (Invitrogen, Breda, Holanda). El cMetSEMA-567His8 se marcó con una molécula donante de fluorescencia dirigida contra el marcador de histidina (Anti-6xhis Europio³⁺, PerkinElmer, Turku, Finlandia). La unión del HGF conjugado con AlexaFluor-647 al cMetSEMA-567His8 marcado con Europio³⁺ hacía posible una transferencia de energía de la molécula donante (excitación 340 nm) a la molécula receptora (emisión 665 nm). La intensidad de fluorescencia media a 665 nm se midió en el lector EnVision 2101 Multilabel (PerkinElmer). La competición de anticuerpos anti-c-Met no marcados con el HGF conjugado con AlexaFluor-647 se midió por la disminución de la señal de TR-FRET a 665 nm, debido a su estado no unido, la distancia entre los fluoróforos donante y receptor es demasiado grande para que se produzca la transferencia de energía.

10 Todas las diluciones se hicieron en 0,5x de tampón de detección Lance (PerkinElmer) y un 0,03 % (v/v) de Tween-20 (Riedel de Haen, Seelze, Alemania). Se añadieron 25 µl de cMetSEMA-567His8 a 25 µl de HGF conjugado con AlexaFluor-647, 25 µl de anti-6xhis Europio³⁺ y 25 µl de anticuerpo anti-c-Met sin marcar en una placa opti-white de 96 pocillos (PerkinElmer). Se obtuvo una concentración final de 2,93 µg/ml de cMetSEMA-567His8, 0,96 µg/ml de HGF conjugado con AlexaFluor-647 y 0,4 µg/ml de anti-6xhis. Se ensayó una dilución en serie de 4 veces de anticuerpo anti-c-Met sin marcar que variaba desde 0,49-8000 ng/ml. Después de una noche de incubación a 4 °C en oscuridad, se midió la intensidad de fluorescencia media a 665 nm utilizando el lector EnVision 2101 Multilabel aplicando los siguientes ajustes: espejo dual Lance/Delfia, filtro de emisión 615, filtro de excitación 340 nm, tiempo de demora 400 ms, ventana 400 ms, 100 flashes, 2000 ms por ciclo y lectura bidireccional fila a fila. Para determinar los valores de la CI₅₀, se analizaron las curvas de unión con regresión no lineal (respuesta a la dosis sigmoidal con pendiente variable, valores superiores restringidos a un valor compartido para todos los conjuntos de datos) utilizando un software GraphPad Prism V4.03 GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

25 La Figura 6 muestra las curvas de inhibición de HGF de los distintos anticuerpos anti-c-Met de la unión de cMetSEMA-567His8 ensayada por TR-FRET. Excepto para los anticuerpos 008, 035 y 096, todos los anticuerpos eran capaz de competir con el HGF conjugado con el AlexaFluor-647 por la unión a cMetSEMA-567His8. El anticuerpo 022 era capaz de inhibir ~ 80 % de la unión de HGF, mientras que los anticuerpos 005, 006, 024, 045, 058, 061, 062, 064, 068, 069, 098, 101, 181 y el anticuerpo de control positivo 5D5 eran capaces de inhibir >90 % de la unión de HGF a cMetSEMA-567His8. Se determinaron valores de la IC₅₀ que variaban de 0,082-0,623 µg/ml.

30 **Tabla 7: Valores de la CI₅₀ (µg/ml) y porcentaje de inhibición del ligando de anticuerpos anti-c-Met de la unión a cMetSEMA-567His8 determinados por TR-FRET**

mAb	CI ₅₀	% inhibición	
	005	0,16	92
	006	0,16	92
	008	ND	4
	022	0,37	77
	024	0,39	95
	035	ND	19
	045	0,17	92
	058	0,15	99
	061	0,49	96
	062	0,58	97
	064	0,07	97
	068	0,26	96
	069	0,54	97
	096	ND	16
	098	0,55	98
	101	0,53	96
	181	0,34	93
	5D5	0,2	95

Los datos que se muestran son la MFI media de experimentos independientes.

35 **Ejemplo 19: Ensayo de viabilidad de KP4**

40 Los anticuerpos c-Met se ensayaron en cuanto a su capacidad para inhibir la viabilidad de las células KP4 (Riken BioResource Center Cell Bank, RCB1005). Las células KP4, que expresan altos niveles de c-MET y HGF de una manera autocrina, se sembraron en una placa de cultivo tisular de 96 pocillos (Greiner bio-one, Frickenhausen, Alemania) (10.000 células/pocillo) en un medio libre de suero (1 parte de HAM F12K [Cambrex, East Rutherford, New Jersey] y 1 parte de DMEM [Cambrex]). Se prepararon 66,7 nM de una dilución de anticuerpo anti-c-Met en medio libre de suero y se añadió a las células. Después de 3 días de incubación, se cuantificó la cantidad de células

viabiles con azul Alamar (BioSource International, San Francisco, US) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se controló la fluorescencia utilizando el lector EnVision 2101 Multilabel (PerkinElmer, Turku, Finlandia) con los ajustes convencionales de azul Alamar. La señal de azul Alamar de las células tratadas con anticuerpo se graficó como un porcentaje de señal en comparación con las células sin tratar.

5 La Figura 7 representa el porcentaje de inhibición de las células KP4 viables después del tratamiento con anticuerpo anti-c-Met en comparación con las células sin tratar (un 0%). Los clones encuadrados son los anticuerpos que compiten de manera cruzada entre ellos como se ha descrito en el Ejemplo 17. De manera interesante, los anticuerpos 024, 062, 064, 068, 069, 098, 101 y 181, que pertenecen al mismo grupo de bloqueo cruzado, eran capaces de inhibir la viabilidad de KP4 (18-46%), ambos como IgG1 y como molécula UniBody. También las moléculas de IgG1 de anticuerpos 008, 061 y 096 eran capaces de inhibir la viabilidad de KP4. Por el contrario, el anticuerpo 045 no inhibía la viabilidad de KP4 como IgG1 ni como molécula UniBody. Para el Uni-1016-045-TE esto se puede deber a su afinidad aparente baja por el c-Met unido a la membrana, según se mide por el análisis FACS (Ejemplo 13). De manera interesante, también el IgG4-1016-058 demostraba alguna inhibición de la viabilidad de KP4. Esto no se observaba con el IgG4-5D5.

El total de los datos indica que, para algunos grupos de bloqueo cruzado, es necesaria la unión monovalente para inhibir la viabilidad de KP4, mientras que otros grupos de bloqueo cruzado de anticuerpos con unión monovalente y bivalente puede inhibir la viabilidad de KP4.

20 **Ejemplo 20: Modelo de xenoinjerto tumoral KP4 en ratones SCID**

Se llevó a cabo un modelo de xenoinjerto tumoral KP4 en ratones SCID para determinar la eficacia de los HuMab anti-c-Met para inhibir el crecimiento tumoral *in vivo*. Se adquirieron ratones SCID, de la estirpe C.B-17/lcrPrkdc-scid/CRL, hembras de siete a once semanas de edad en Charles River Laboratories Nederland (Maastricht, Holanda) y se mantuvieron en condiciones estériles en jaulas con filtro superior con agua y alimento ad libitum. Se colocaron microchips (PLEXX BV, Elst, Holanda) para la identificación de cada ratón. Todos los experimentos se aprobaron por el comité de ética animal de la universidad de Utrecht.

30 El día 0, se inocularon por vía subcutánea 10×10^6 células en 200 μ l de PBS en el costado derecho. Los ratones se examinaron al menos dos veces a la semana en cuanto a signos clínicos de enfermedad. El tamaño tumoral se determinó al menos una vez a la semana. Se calcularon los volúmenes (mm^3) mediante un calibre (PLEXX) como $0,52 \times (\text{longitud}) \times (\text{anchura})^2$, comenzando el día 16. El día 9, se midieron los tamaños tumorales medios y los ratones se dividieron en 8 grupos de 7 ratones cada uno. Se inyectaron por vía intraperitoneal los anticuerpos anti-c-Met (008, 058, 069 y 098). Se utilizó el anticuerpo G11-HZ como anticuerpo de control positivo, mientras que el 5D5 y el control de isotipo se utilizaron como anticuerpos de control negativo. Los ratones recibieron una dosis de carga de 400 μ g/ratón seguido semanalmente con una dosis de mantenimiento de 200 μ g/ratón, con una duración de 7 semanas.

40 Adicionalmente, se recolectaron muestras de plasma antes de la administración de la 1^a, 3^a y 5^a dosis de mantenimiento y cuando los ratones terminaron, se verificó la presencia de IgG humana utilizando perlas de látex en el nefelómetro BNII (Dade Behring, Atterbury, UK).

45 Las Figuras 8 y 9 muestran que el crecimiento tumoral de las células KP4 se inhibía por los HuMab 008, 069, 098 y el control positivo G11-HZ. La inhibición se comparó con el tratamiento con el anticuerpo del control de isotipo. El crecimiento tumoral de células KP4 se retrasó, pero no se inhibía completamente por el anticuerpo de control G11-HZ. Los clones 069 y 098 presentaban una inhibición más potente en comparación con los clones 008 y G11-HZ. Los anticuerpos 5D5 y 058 no inhibían el crecimiento tumoral. Esto era consistente con los datos *in vitro* descritos en el Ejemplo 19. En conjunto estos datos indican que para algunos grupos de bloqueo cruzado los anticuerpos de unión bivalente pueden inhibir el crecimiento tumoral de KP4.

50 **Ejemplo 21: Modelo de xenoinjerto tumoral MKN45**

Se utilizó un modelo de xenoinjerto de tumor MKN45 de adenocarcinoma gástrico humano en ratones desnudos para determinar la eficacia de los HuMab anti-c-Met para inhibir el crecimiento del tumor *in vivo*.

55 Las células de adeno carcinoma humano MKN45 se cultivaron a 37 °C y un 5 % de CO₂ en medio RPMI-1640 que contenía 100 unidades/ml de penicilina G sódica, 100 μ g/ml de sulfato de estreptomina, 25 μ g/ml de gentamicina, un 20 % de suero fetal bovino, y 2 mM de glutamina. Se utilizaron ratones desnudos hembras de siete a ocho semanas de edad (nu/nu Harlan) con pesos corporales que variaban desde 17,0 a 26,4 g al principio del estudio). Los animales se alimentaron con agua y alimento ad libitum. Los ratones se alojaron en condiciones que cumplieran las recomendaciones de la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorios. El programa de cuidado y uso de los animales fue acreditado por el AAALAC. El día 0, se inocularon 1×10^7 células MKN45 por vía subcutánea en 200 μ l de matrigel al 50 % en PBS en el costado de cada animal. El día 7, los animales se clasificaron en cinco grupos (n = 10) con un volumen tumoral medio de 80 a 10 mm^3 y se inició el tratamiento. Los anticuerpos anti-c-Met (008, 058, 069) se inyectaron en la vena caudal (iv). El anticuerpo G11-HZ se utilizó como anticuerpo de control

positivo y se utilizó un anticuerpo de control de isotipo como control negativo. Todos los ratones recibieron 40 mg/kg de anticuerpo el día 7 y 20 mg/kg de anticuerpo los días 14, 21 y 28.

5 Los tumores se midieron dos veces por semana utilizando calibres hasta un volumen final del tumor de 700 mm³ o hasta el final del estudio (día 62). Las Figuras 10 y 11 muestran que el crecimiento tumoral de las células MKN45 se retrasaba significativamente por los anticuerpos 008, 058, 069 y el anticuerpo de control G11-HZ en comparación con el anticuerpo de control de isotipo.

10 **Ejemplo 22: Disminución de la actividad residual de anticuerpos IgG1 c-Met reduciendo la flexibilidad conformacional**

15 El ligando natural de c-Met, el HGF, es un dímero funcional que induce la dimerización de dos moléculas de c-Met. La posterior fosforilación intracelular del dominio intracelular de c-Met da como resultado la activación de varias rutas de señalización que están implicadas en la proliferación, invasión y supervivencia de las células. La mayoría de los anticuerpos bivalentes que se originan contra c-Met muestran efectos comparables al HGF sobre el destino celular, especialmente cuando los epítopos de unión del anticuerpo se localizan cerca o en el dominio SEMA del c-Met.

20 Para minimizar la potencial actividad agonista residual de los anticuerpos IgG1 bivalentes, se empleó una estrategia para reducir la flexibilidad conformacional. En una IgG hay un grado grande de libertad para los brazos Fab para moverse con respecto al dominio Fc. Los cambios conformacionales más grandes son el resultado de la flexibilidad de la bisagra, que perite un amplio intervalo de ángulos Fab-Fc (Ollmann Saphire, E., R.L. Stanfield, M.D.M. Crispin, P.W.H.I. Parren, P.M. Rudd, R.A. Dwek, D.R. Burton y I.A. Wilson. 2002. Contrasting IgG structures reveal extreme asymmetry and flexibility. J. Mol. Biol. 319: 9-18). Una manera de reducir la flexibilidad del brazo Fab en las inmunoglobulinas es evitar la formación de enlaces disulfuro entre la cadena ligera y pesada mediante modificación genética. En un anticuerpo IgG1 natural, la cadena ligera se conecta covalentemente a la cadena pesada mediante un enlace disulfuro, que conecta la cisteína del extremo C de la cadena ligera a la cisteína en la posición 220 (C220 en la numeración EU) en la bisagra de la Fc de la cadena pesada. Por mutación del aminoácido C220 a serina o cualquier otro aminoácido natural, retirando el C22, retirando la bisagra completa, o reemplazando la bisagra de IgG1 con una bisagra de IgG3, se forma una molécula en la que las cadenas ligeras se conectan mediante sus cisteínas en el extremo C, análogo a lo que pasa en la situación que se encuentra en el isotipo humano IgA2m (1). Esto da como resultado una reducción de la flexibilidad de los Fab con respecto al Fc y en consecuencia una reducción de la capacidad de entrecruzarse, como se muestra en los estudios comparativos con los formatos IgA2m (1) e IgG1 de un anticuerpo c-Met agonista (5D5) en un ensayo de viabilidad de KP4 (Figura 12).

35 Otra estrategia para reducir la flexibilidad de una molécula de IgG1 es reemplazar la bisagra IgG1 con la bisagra IgG2 o una bisagra tipo IgG2 (Dangl et al. EMBO J. 1988; 7:1989-94). Esta región de la bisagra tiene dos propiedades distintas de la de IgG1, que se consideran que hacen que las moléculas sean menos flexibles. Primero, en comparación con la bisagra de IgG1 la bisagra de IgG2 es 3 aminoácidos más corta. Segundo, la bisagra de IgG 2 contiene una cisteína adicional, por tanto, se formarán tres puentes disulfuro en vez de dos entre las cadenas pesadas. De manera alternativa, se puede introducir una variante de la bisagra de IgG1 que se parece a la bisagra de IgG2. Este mutante (TH7Δ6-9) (documento WO2010063746) contiene la mutación T223C y dos eliminaciones (K222 y T225) con el fin de crear una bisagra más corta con una cisteína adicional.

45 **Ejemplo 23: Generación de moléculas de IgG1 con flexibilidad reducida (moléculas IgG1 endurecidas)**

Clonación y expresión

50 Los anticuerpos IgG1 mutantes se diseñaron y clonaron utilizando técnicas de biología molecular convencionales. Una visión de las secuencias de todas las mutaciones generadas en la región de la bisagra se muestra en la Tabla 8 posterior.

Tabla 8: Secuencia de aminoácidos de la bisagra de los anticuerpos IgG1 mutantes. Las eliminaciones se marcan con '- ', y las mutaciones se subrayan

IgG1 TS	EPKSCDKTHTCPPCP
IgG1 Hinge-IgG2	ER <u>K</u> CC <u>V</u> E---CPPCP
IgG1 ΔC220	EPKS-DKTHTCPPCP
IgG1 C220S	EPKSSDKTHTCPPCP
IgG1 TH7Δ6-9	EPKSCD- <u>C</u> H-CPPCP
Bisagra eliminada de IgG1 (Uni-IgG1)	-----
IgG1 Hinge-IgG3	<u>EL</u> K <u>T</u> PLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRC

Para la expresión de los anticuerpos de IgG1 endurecidos resultantes en células de mamífero, la región constante HC de IgG1, contenía mutaciones en la región de la bisagra (véase la Tabla 8 anterior), se sintetizaron como una construcción con el codón optimizado en un vector de expresión en mamíferos pcDNA3.3 (Invitrogen). Se construyó un vector diferente insertando el codón optimizado de la región constante de la región kappa de la cadena ligera humana en el pcDNA3.3. Las regiones VH y VL del clon 069 y el anticuerpo de control 5D5 se insertaron en el plásmido de la región constante HC y el plásmido de cadena ligera Kappa respectivamente dando como resultado, vectores de la expresión de las cadenas pesada y ligera (mutadas) de los anticuerpos específicos. La co-transfección de los vectores de cadena pesada y ligera de un anticuerpo específico en células HEK-293F (Invitrogen), daba como resultado la producción transitoria de anticuerpos mutantes. La purificación de los anticuerpos puede llevarse a cabo utilizando una cromatografía en columna de afinidad de Proteína A (como se describe en el Ejemplo 11).

Caracterización bioquímica

15 *Expresión transitoria*

Todos los mutantes se expresaban a niveles suficientes y no presentaban formación aberrante de multímeros como se determina por MS (>99 % de pureza) y SDS-PAGE.

20 Los resultados de la SDS-PAGE se muestran en la Figura 13. En los mutantes C220 (C220S y ΔC220) y las variantes de IgG1 con la bisagra eliminada (las variantes de IgG1 con la bisagra eliminada se denominan también UniBody-IgG1 o Uni-IgG1) se observaba el emparejamiento de cadenas ligeras, visible como una banda proteica de alrededor de 50 kD en el análisis de SDS-PAGE no reducida. La variante con la bisagra de IgG3 también mostraba el emparejamiento de cadenas ligeras, mientras que la variante con una bisagra de IgG2 y el mutante IgG1 TH7Δ6-9 presentaban un emparejamiento de cadena ligera-pesada normal.

Ejemplo 24: Propiedades de unión a c-Met de los mutantes

30 Las propiedades de unión al c-Met de los mutantes se ensayaron en un EISA. Los pocillos de la placa de ELISA se revistieron durante una noche a 4 °C con rhHGF R/Fc Chimera (R&D Systems; Cat.358MT/CF) en PBS (1 μg/ml). A continuación, los pocillos se lavaron con PBST (PBS suplementado con un 0,05 % de Tween-20 Sigma-Aldrich, Zwijndrecht, Holanda) y se bloquearon durante una hora a temperatura ambiente (TA) con PBSTC (PBST suplementado con un 2 % (v/v) de suero de pollo) [Gibco, Paisley, Escocia]). Posteriormente, los pocillos se lavaron con PBST y se incubaron durante una hora a TA con los anticuerpos anti-c-Met y las variantes diluidas en serie en PBSTC (10 μg/ml en diluciones de 4 veces). El anticuerpo no unido se lavó con PBST, y el anticuerpo unido al revestimiento se detectó incubando durante una hora a TA con anticuerpo de cabra anti-F(ab')₂ de IgG humano-HRP diluido en PBST (Jackson nº de cat. 109-035-097). Después del lavado, la reacción se visualizó por una incubación de 15 min con ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS; diluyendo un comprimido de ABTS en 50 ml de tampón ABTS [Roche Diagnostics, Almere, Holanda]) a TA protegido de la luz. La coloración se paró añadiendo un volumen igual de ácido oxálico (Sigma-Aldrich, Zwijndrecht, Holanda). Se midió la fluorescencia a 405 nm en un lector de placas de microtitulación (Biotek Instruments, Winooski, USA). Todos los mutantes unidos con una afinidad aparente comparable (CE50) al c-Met (Figura 14). La Tabla 10 muestra los valores de la CE50 de los mutantes obtenidos en este experimento.

Tabla 9: Valores de CE₅₀ determinados por ELISA

	IgG1-1016-069	IgG1-1016-069-AC220	IgG1-1016-069-C220S	IgG1-1016-069-Hinge IgG2	IgG2-1016-069	IgG1-1016-069-TH7A6-9	Uni-1016-069-TE	IgG1-1016-069	IgG1-1016-069-Hinge IgG3	Uni-IgG1-1016-069
CE50 (ng/ml)	49,5	18,87	15,66	23,03	29,61	18,81	30,08	45,43	14,18	15,39

Ejemplo 25: Reducción del efecto agonista de los anticuerpos IgG1 c-Met endurecidos*Fosforilación del receptor*

5 Para determinar las propiedades agonistas de los anticuerpos endurecidos se llevó a cabo el efecto de los anticuerpos sobre la fosforilación de c-Met. Al dimerizarse dos receptores de c-Met adyacentes por el ligando natural HGF o los anticuerpos más bivalentes, se fosforilaban de manera cruzada tres restos de tirosina (posición 1230, 1234, 1235) en el dominio intracelular de c-Met, que continúa con la fosforilación posterior de otros varios aminoácidos en el dominio intracelular y la activación de varias cascadas de señalización. La dimerización y
10 activación de c-Met pueden controlarse, por lo tanto, utilizando anticuerpos específicos para el receptor fosforilado en esas posiciones, y por lo tanto se utilizan como resultado del agonismo potencial de los anticuerpos anti-c-Met.

Se cultivaron células A549, CCL-185 obtenidas en la ATCC, en medio DMEM que contenía suero hasta alcanzar una confluencia del 70 %. Después de la tripsinización y lavado de las células se colocaron en placas en una placa
15 de cultivo de 6 pocillos a 1×10^6 células/pocillo, en medio de cultivo que contenía suero. Después de una noche de incubación, las células se trataron con HGF (R&D systems; cat. 294-HG) (50 ng/ml) o el panel de anticuerpos (30 μ g/ml) y se incubaron durante 15 minutos a 37 °C. Las células se lavaron entonces dos veces con PBS enfriado en hielo y se lisaron con tampón de lisis (Cell Signaling; cat. 9803) suplementado con un coctel inhibidor de proteasas (Roche; cat. 11836170001) y las muestras se almacenaron a -80 °C. Se determinó la activación del receptor
20 midiendo la fosforilación mediante transferencia de Western utilizando los anticuerpos específicos de fosfo c-Met. Las proteínas de lisado celular se separaron en un gel de SDS-PAGE al 4-12 % y se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa que se tiñó posteriormente con un anticuerpo específico para el c-Met fosforilado (Y1234/1235) (Cell Signaling, cat. 3129). Para controlar la carga de gel, se utilizaron anticuerpos contra c-Met total y beta-actina. Los resultados de las transferencias de Western se muestran en la Figura 15.

25 Los controles de medio de cultivo celular y las células tratadas con el formato monovalente UniBody del anticuerpo 5D5 no presentaban fosforilación del receptor. Por el contrario, el análisis de transferencia de Western de las células tratadas con el HGF de control positivo o el anticuerpo agonista IgG1-1016-058 presentaban una banda clara en la altura esperada. El anticuerpo IgG1-1016-069 presentaba una fosforilación del receptor baja, pero detectable
30 indicando que tenía lugar algún entrecruzamiento del receptor. Sin embargo, las variantes que se diseñaron para reducir la flexibilidad de la molécula de anticuerpo presentaban una activación mínima del receptor, por debajo de un nivel comparable a los niveles detectados en las células tratadas con el control monovalente Uni-5D5-TE. (Figura 15).

Efecto de los anticuerpos c-Met sobre la proliferación de NCI-H441 in vitro

La potencial actividad agonista proliferativa de los anticuerpos c-Met se ensayó utilizando la línea celular NCI-H441 de adenocarcinoma de pulmón (ATCC, HTB-174™), que expresa altos niveles de c-Met, pero no produce su ligando HGF. Las células NCI-H441 se sembraron en una placa de cultivo tisular de 96 pocillos (Greiner bio-one,
40 Frickenhausen, Alemania) (5.000 células/pocillo) en RPMI (Lonza) sin suero. Se prepararon diluciones de anticuerpo anti-c-Met (66,7 nM) en RPMI sin suero y se añadieron a las células. Después de 7 días de incubación a 37 °C/5 % de CO₂, se cuantificó la cantidad de células viables con azul Alamar (BioSource International, San Francisco, US) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se controló la fluorescencia utilizando el lector EnVision 2101 Multilabel (PerkinElmer, Turku, Finlandia) con los ajustes de azul Alamar convencionales.

45 Según parece por la Figura 17, la proliferación de células NCI-H441 estaba fuertemente inducida por los mAb agonistas de control IgG1-058 y IgG1-5D5. El anticuerpo IgG1-1016-069 también presentaba algún efecto agonista en comparación con las células tratadas con el control de isotopo. La actividad agonista de la IgG1-1016-069 podía eliminarse completamente introduciendo los mutantes C220 C220S y -del, y parcialmente con las variantes con la bisagra de IgG2 y TH7Δ6-9 o estructura de IgG2. Las muestras de control tratadas con el control de isotipo y la
50 versión monovalente de 5D5 (Uni-5D5-TE) no inducían el crecimiento de las células.

Ensayo de viabilidad de KP4

55 La capacidad para inhibir las células dependientes de HGF también se determinaron para los mutantes de anticuerpo anti-c-Met en un ensayo de viabilidad de KP4 (véase el Ejemplo 19 para los procedimientos experimentales). Los resultados se muestran en la Figura 17. La eficacia de los mutantes basados en la IgG1-1016-069 se retenía completamente o ligeramente mejor en los mutantes C220. De manera extraordinaria, la mutación C220 en el anticuerpo agonista 5D5 daba como resultado en una marcada reducción de la viabilidad de KP4. No se observó ningún efecto agonista de los anticuerpos 058 y 5D5 en el formato IgG1 debido a la alta expresión de HGF por las KP4 (bucle autocrino de HGF).
60

Regulación negativa

65 La regulación negativa de c-Met inducida por los anticuerpos antagonistas representa un mecanismo de acción de los anticuerpos c-Met terapéuticos. En consecuencia, en una realización, los anticuerpos con propiedades agonistas

reducidas, pero que retienen la capacidad para inducir la modulación negativa de c-Met son deseables. Para determinar el potencial de modulación negativa de los anticuerpos, se sembraron células A549 (CCL-185 obtenidas en la ATCC) en placas de cultivo celular de 6 pocillos (500.000 células/pocillo) en medio de cultivo celular que contenía suero y se cultivaron durante una noche a 37 °C. A la mañana siguiente, se añadieron los anticuerpos anti-c-Met a una concentración final de 10 µg/ml y la placa se incubó durante otros 2 días a 37 °C. Después del lavado con PBS, las células se lisaron incubándolas 30 min a temperatura ambiente con 250 µl de tampón de lisis Cell signaling, Danvers, USA). Se cuantificaron los niveles proteicos totales utilizando el reactivo del ensayo proteico de ácido biciconínico (BCA) (Pierce) siguiendo el protocolo del fabricante. Los niveles proteicos de c-Met en los lisados celulares se cuantificaron utilizando un ELISA sándwich específico de c-Met. En este extremo, los pocillos de las placas de ELISA se revistieron durante una noche a 4 °C con anticuerpo de cabra anti-c-Met humano dirigido contra el dominio extracelular de c-Met (R&D systems), diluido en PBS (1 µg/ml). A continuación, los pocillos se lavaron con PBST (PBS suplementado con un 0,05 % de Tween-20 [Sigma-Aldrich, Zwijndrecht, Holanda]) y se bloquearon durante una hora a TA con PBSTC (PBST suplementado con un 2 % (v/v) de suero de pollo [Gibco, Paisley, Scotland]). Los lisados sin diluir se añadieron (100 µl) y se incubaron durante una hora a TA. Después del lavado con PBST, los pocillos se incubaron durante una hora a TA con un anticuerpo de ratón dirigido contra el resto de tirosina-1234 intracelular del c-Met humano (Cell signaling), se diluyó 1:1000 en PBST. Los pocillos se lavaron de nuevo con PBST y se incubaron una hora a TA con un anticuerpo de cabra anti-Fc de ratón-HRP (Jackson) diluido 1:5000 en PBST. A continuación del lavado con PBST, se visualizó la reacción mediante una incubación de 30 minutos con ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS: diluyendo un comprimido en 50 ml de tampón ABTS [Roche Diagnostics, Almere, Holanda]) a TA protegida de la luz. La coloración se detuvo añadiendo un volumen igual de ácido oxálico (Sigma-Aldrich, Zwijndrecht, Holanda). Se midió la fluorescencia a 405 nm en un lector de placas de microtitulación (Biotek Instruments, Winooski, USA). Como parece por la Figura 18 todos los mutantes de anticuerpo 069 eran capaces de inducir una modulación negativa.

25 **Ejemplo 26: Citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC)**

Se recolectaron células MKN45 (adquiridas en RIKEN BioResource Center, Tsukuba, Japón, RCB1001) (5×10^6 célula), se lavaron (dos veces en PBS, 1500 rpm, 5 min) y se recolectaron en 1 ml de medio RPMI 1640 suplementado con un 10 % de suero de ternero cósmico (CCS) (HyClone, Logan, UT, USA), al que se añadieron 200 µCi de ^{51}Cr (Cromo-51; Amersham Biosciences Europe GmbH, Roosendaal, Holanda) La mezcla se incubó en un baño de agua con agitado durante 1,5 horas a 37 °C. después del lavado de las células (dos veces en PBS, 1500 rpm, 5 min), se resuspendieron las células en medio RPMI 1640 suplementado con un 10 % de CCS, se contaron mediante exclusión por azul tripano y se diluyeron hasta una concentración de 1×10^5 células/ml.

Entre tanto, se aislaron células mononucleares de sangre periférica (PMBC) de una capa leucocítica reciente (Sanquin, Ámsterdam, Holanda) utilizando una centrifugación con densidad de Ficoll convencional de acuerdo con las instrucciones del fabricante (medio de separación de linfocitos; Lonza, Verviers, Francia). Después de la resuspensión de las células en medio RPMI 1640 suplementado con un 10 % de CCS, se contaron las células por exclusión con azul tripano y se concentró hasta 1×10^7 células/ml.

Para cada experimento de ADCC se preincubaron 50 µl de células MKN34 marcadas con ^{51}Cr (5.000 células) con 15 µg/ml de anticuerpo c-Met en un volumen total de 100 µl de medio RPMI suplementado con un 10 % de CCS en una placa de microtitulación de 96 pocillos. Después de 15 min a TA, se añadieron 50 µl de PMBC (500.000 células), dando como resultado una relación de células efectoras respecto a células diana de 100:1. Se determinó la máxima cantidad de lisis celular incubando 50 µl de células MKN45 marcadas con ^{51}Cr (5.000 células) con 100 µl de Triton-X100 al 5 %. La cantidad de lisis espontánea se determinó incubando 5.000 células MKN45 en 150 µl de medio, sin anticuerpos ni células efectoras. El nivel de lisis celular independiente del anticuerpo se determinó incubando 5.000 células MKN45 con 500.000 PMBC sin anticuerpo. Posteriormente, las células se incubaron 4 horas a 37 °C, 5 % de CO₂. Las células se centrifugaron (1200 rpm, 3 min) y se transfirieron 75 µl de sobrenadante a tubos micronic, después de lo cual se contó el ^{51}Cr liberado con un contador gamma. Los recuentos por minutos medidos (cpm) se utilizaron para calcular el porcentaje de lisis mediada por el anticuerpo de la siguiente manera:

$$(\text{cpm de la muestra-cpm de lisis independiente de anticuerpo}) / (\text{cpm de lisis máx.-cpm de lisis espontánea}) \times 100 \%$$

Distintas publicaciones han demostrado la correlación entre la reducción de fucosilación central y el aumento de la actividad ADCC *in vitro* (Shields RL. 2002 JBC; 277:26733-26740, Shinkawa T. 2003 JBC; 278(5):3466-3473). La Figura 19 demuestra que el anticuerpo 069 no induce la lisis de las células MKN45 mediante ADCC. Sin embargo, cuando se reducía la fucosilación central debido a la presencia de cifunensina durante la producción de mAb en células HEK, el anticuerpo 069 era capaz de inducir más del 50 % de lisis en las células MKN45. Además, se observaba ya lisis a una concentración de anticuerpos por debajo de 0,01 µg/ml. Los valores representados son los porcentajes máximos de la media de liberación de $^{51}\text{Cr} \pm$ la desv. típ. de un experimento representativo de la ADCC *in vitro* con células MKN45. El 069 con fucosa baja se produjo en células HEK293 en presencia de cifunensina, dando como resultado ~ 99,5 % de no fucosilación central, como se determina por cromatografía de intercambio aniónico de altas prestaciones acoplada a detección amperométrica pulsada (HPAEC-PAD) (datos no mostrados).

65

Ejemplo 27: Falta de unión de los anticuerpos c-Met a las células de sangre periférica humanas

En el fin de afrontar la unión del clon 069 a tres tipos de células (células B, monocitos y granulocitos) presentes en la sangre periférica se llevó a cabo un ensayo de unión por FACS. Se utilizó el clon 069 marcado fluorescentemente para hacer posible la medición directa por FACS sin el uso de una detección con anticuerpo secundario. Las poblaciones celulares de la sangre se identificaron en el ensayo utilizando anticuerpos comerciales fluorescentemente contra marcadores específicos de las células de interés.

Se diluyó la sangre periférica de voluntarios sanos (University Medical Center Utrecht) diez veces en tampón FACS (PBS + un 0,4 % de BSA + un 0,02 % de NaN₃) y se incubó con anticuerpos c-Met conjugado con Alexa⁴⁸⁸ y anticuerpos anti-CD19, -CD16 y -CD14 marcados con ficoeritrina (PE) (BD Biosciences, San Jose CA) para identificar las poblaciones celulares (resp. Células B, granulocitos y monocitos) en un volumen final de 100 µl. Después de 30 minutos a 4 °C, las muestras se centrifugaron (300 g, 3 min), se retiró el sobrenadante, se lisaron los eritrocitos por incubación (10 min, 4 °C) con 200 µl de solución Ery-lisis (155 mM de NH₄Cl, 10 mM de KHCO₃, 0,1 mM de EDTA [pH 7,4], y las muestras se lavaron dos veces en tampón FACS. Las muestras se resuspendieron en 100 ml de tampón FACS y se analizaron utilizando un FACS Canto II (BD Biosciences).

La Figura 20 es un gráfico representativo del FACS que demuestra que el 069 conjugado con Alexa⁴⁸⁸ no se une a la población de células B (células CD19-PE⁺ en la regulación de linfocitos). La unión de rituximab conjugado con Alexa⁴⁸⁸ se utilizó como control positivo. La unión a otras poblaciones celulares se analizó de manera similar y se representaron también los resultados representativos de 1 de 3 donantes en la Figura 21. El anticuerpo 069-Alexa⁴⁸⁸ no se unía a las células B, monocitos o granulocitos, mientras que los anticuerpos de control positivo demostraban una unión específica.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Genmab A/S

<120> Anticuerpos monoclonales contra c-Met

<130> P/59.WO

<160> 178

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 121

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 1

ES 2 705 686 T3

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

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

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

Gly Arg Ile Ser Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Met Phe
50 55 60

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

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

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

Gln Gly Thr Met Val Ile Val Ser Ser
115 120

<210> 2
<211> 5
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

5

<400> 2

Ser Tyr Gly Phe Gly
1 5

10

<210> 3
<211> 17
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

15

<400> 3

Arg Ile Ser Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Met Phe Gln
1 5 10 15

Gly

20

<210> 4
<211> 12
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

25

<400> 4

Asp Val Gly Tyr Asp Trp Pro Asp Thr Phe Asp Ile
1 5 10

ES 2 705 686 T3

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

5 <400> 5

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

10 <210> 6
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 6

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
 1 5 10

20 <210> 7
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 7

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
 1 5

30 <210> 8
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 8

Gln Gln Tyr Asn Ser Phe Pro Pro Thr
 1 5

ES 2 705 686 T3

<210> 9
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 9

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

10 <210> 10
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 10

Ser Phe Gly Ile Gly
 1 5

20 <210> 11
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 11

Arg Ile Phe Pro Ile Leu Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Met Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

30 <210> 12
 <211> 12
 <212> PRT

ES 2 705 686 T3

<213> *Homo sapiens*

<400> 12

5 Asp Val Gly Tyr Asp Ser Ala Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 13

<211> 107

<212> PRT

10 <213> *Homo sapiens*

<400> 13

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

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

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

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

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

15 <210> 14
<211> 11
<212> PRT
20 <213> *Homo sapiens*

<400> 14

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
1 5 10

25 <210> 15
<211> 7
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

30 <400> 15

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

35 <210> 16
<211> 9

ES 2 705 686 T3

<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 16

5

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro Thr
1 5

<210> 17
<211> 118
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

10

<400> 17

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Glu Ile Thr Gly Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

15

<210> 18
<211> 5
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

20

<400> 18

Ser Tyr Trp Ile Gly
1 5

25

<210> 19
<211> 17
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

30

<400> 19

ES 2 705 686 T3

Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Glu Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

5 <210> 20
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 20

Gln Glu Ile Thr Gly Glu Phe Asp Tyr
 1 5

10 <210> 21
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 15 <400> 21

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
 20 25 30

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

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
 85 90 95

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

20 <210> 22
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 25 <400> 22

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
 1 5 10

30

ES 2 705 686 T3

<210> 23
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 23

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
 1 5

10 <210> 24
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 24

Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr
 1 5

20 <210> 25
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 25

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

30 <210> 26
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 26

ES 2 705 686 T3

ser Tyr Ala Met His
1 5

5 <210> 27
<211> 17
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 27

Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

10 Gly

15 <210> 28
<211> 14
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 28

Glu Leu Leu Trp Phe Gly Glu Leu Trp Gly Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

20 <210> 29
<211> 107
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
25 <400> 29

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Glu Ala Ser Ser Phe Thr Trp
85 90 95

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

30 <210> 30
<211> 11
<212> PRT

ES 2 705 686 T3

<213> *Homo sapiens*

<400> 30

5 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 31

<211> 7

<212> PRT

10 <213> *Homo sapiens*

<400> 31

15 Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

20 <400> 32

Gln Glu Ala Ser Ser Phe Thr Trp Thr
1 5

25 <210> 33

<211> 122

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

30 <400> 33

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Val Asp Ser
50 55 60

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Ala Asn Ser Lys Asn Thr Leu

65 70 75 80

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

Cys Ala Lys Asp Leu Asp Arg Gly Trp Met Gly Tyr Phe Gly Tyr Trp
100 105 110

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

ES 2 705 686 T3

5 <210> 34
<211> 5
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 34

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

10 <210> 35
<211> 18
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
15 <400> 35

Ala Ile Ser Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val
1 5 10 15

Lys Gly

20 <210> 36
<211> 12
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
25 <400> 36

Asp Leu Asp Arg Gly Trp Met Gly Tyr Phe Gly Tyr
1 5 10

30 <210> 37
<211> 106
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 37

ES 2 705 686 T3

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 20 25 30

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

5 <210> 38
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 38

10 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
 1 5 10

15 <210> 39
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 39

20 Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
 1 5

25 <210> 40
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 40

30 Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Thr
 1 5

<210> 41
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

ES 2 705 686 T3

<400> 41

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

5 <210> 42
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 42

Ser Tyr Trp Ile Gly
 1 5

15 <210> 43
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 43

Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

25 <210> 44
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 44

ES 2 705 686 T3

Gln Glu Ile Thr Gly Glu Phe Asp Tyr
 1 5

5 <210> 45
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 45

Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
 20 25 30

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

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Met
 85 90 95

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

10
 15 <210> 46
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 46

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
 1 5 10

20 <210> 47
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 25 <400> 47

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
 1 5

30 <210> 48
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

ES 2 705 686 T3

<400> 48

Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Met Tyr Thr
 1 5 10

5 <210> 49
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 49

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Val Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

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

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

Val Thr Val Ser Ser
 115

15 <210> 50
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 50

Ser Tyr Ala Met Ser
 1 5

25 <210> 51
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 51

ES 2 705 686 T3

Val Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

5 <210> 52
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 52

10 Asp Arg Gly Trp Gly Ser Asp Tyr
 1 5

15 <210> 53
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 53

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Phe
 85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
 100 105

20 <210> 54
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 54

30 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
 1 5 10

<210> 55
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

ES 2 705 686 T3

<400> 55

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

5 <210> 56
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

10 <400> 56

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Phe Thr
1 5

15 <210> 57
<211> 125
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

20 <400> 57

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

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

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Thr Ile Ser Asp Asp Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Gly Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Asn Gln
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

25 <210> 58
<211> 5
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 58

Asp Tyr Tyr Met Tyr
1 5

30

ES 2 705 686 T3

<210> 59
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 59

Thr Ile Ser Asp Asp Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

10 <210> 60
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 60

Glu Gly Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Asn Gln Asp Tyr
 1 5 10 15

20 <210> 61
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 61

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

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

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

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

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

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

30 <210> 62
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 62

ES 2 705 686 T3

Arg Ala Ser Gln Gly Leu Ser Ser Ala Leu Ala
 1 5 10

5
 <210> 63
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 63

10 Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
 1 5

15
 <210> 64
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 64

20 Gln Gln Phe Thr Ser Tyr Pro Gln Ile Thr
 1 5 10

25
 <210> 65
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (52)..(52)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
 30
 <400> 65

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

ES 2 705 686 T3

<210> 66
<211> 7
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
5
<400> 66

Ser Gly Gly His Ser Trp Ser
1 5

10 <210> 67
<211> 16
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

15 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

20 <400> 67

Xaa Ile Tyr His Ser Gly Asn Thr Tyr Asp Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

25 <210> 68
<211> 8
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 68

30 Ser Ser Tyr Asp Phe Leu Thr Asp
1 5

35 <210> 69
<211> 107
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 69

ES 2 705 686 T3

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

5 <210> 70
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 70

10 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
 1 5 10

15 <210> 71
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 71

20 Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
 1 5

25 <210> 72
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 72

30 Gln Gln Ala Asn Gly Phe Pro Ile Thr
 1 5

35 <210> 73
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> misc_feature

ES 2 705 686 T3

<222> (52)..(52)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<400> 73

5

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

<210> 74
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10

<400> 74

Ser Gly Gly His Ser Trp Ser
 1 5

15

<210> 75
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

20

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

25

<400> 75

Xaa Ile Tyr His Ser Gly Asn Thr Tyr Asp Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

30

<210> 76
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

ES 2 705 686 T3

<400> 76

Ser Ser Tyr Asp Ile Leu Thr Asp
 1 5

5 <210> 77
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 77

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

15 <210> 78
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 78

Arg Ala Ser Gln gly Ile ser ser Trp Leu Ala
 1 5 10

25 <210> 79
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 79

30 Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
 1 5

<210> 80
 <211> 9

ES 2 705 686 T3

<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 80

5

Gln Gln Ala Asn Gly Phe Pro Ile Thr
1 5

<210> 81
<211> 118
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

10

<220>
<221> misc_feature
<222> (52)..(52)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

15

<400> 81

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

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

Gly His Ser Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Xaa Ile Tyr His Ser Gly Asn Thr Tyr Asp Asn Pro Ser
50 55 60

20

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ser Ser Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 82
<211> 7
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

25

<400> 82

30

ser gly gly His Ser Trp Ser
1 5

<210> 83
<211> 16
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

35

ES 2 705 686 T3

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

5 <400> 83

Xaa Ile Tyr His Ser Gly Asn Thr Tyr Asp Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

10 <210> 84
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 84

Ser Ser Tyr Asp Ile Leu Thr Asp
 1 5

20 <210> 85
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 85

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

30 <210> 86
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 86

ES 2 705 686 T3

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
 1 5 10

5
 <210> 87
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 87

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
 1 5

10
 <210> 88
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 88

Gln Gln Ala Asn Gly Phe Pro Ile Thr
 1 5

20
 <210> 89
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 25
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (52)..(52)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural
 30
 <400> 89

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

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

Gly Tyr Ser Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45

Trp Ile Gly Xaa Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Gln Phe
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Ala Arg Ser Ser Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

ES 2 705 686 T3

<210> 90
<211> 7
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

5

<400> 90

Ser Gly Gly Tyr Ser Trp Ser
1 5

10

<210> 91
<211> 16
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

15

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

20

<400> 91

Xaa Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

25

<210> 92
<211> 8
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

30

<400> 92

Ser Ser Tyr Asp Ile Leu Thr Asp
1 5

35

<210> 93
<211> 107
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 93

ES 2 705 686 T3

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 94
<211> 11
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

5

<400> 94

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
1 5 10

10

<210> 95
<211> 7
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 95

15

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

20

<210> 96
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

25

<400> 96

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile Thr
1 5

30

<210> 97
<211> 119
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

35

<400> 97

ES 2 705 686 T3

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
 50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

5 <210> 98
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 98

10 Ser Tyr Gly Ile Ser
 1 5

15 <210> 99
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 99

Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln
 1 5 10 15

Gly

20 <210> 100
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 100

Asp Leu Arg Gly Thr Asn Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10

ES 2 705 686 T3

<210> 101
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 101

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

10 <210> 102
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 102

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp Leu Ala
 1 5 10

20 <210> 103
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 103

Ala Ala Ser Ser Leu Leu Ser
 1 5

30 <210> 104
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 104

35 Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile Thr
 1 5

ES 2 705 686 T3

<210> 105
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 105

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

10 <210> 106
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 106

Ser Tyr Trp Ile Gly
 1 5

20 <210> 107
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 107

Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

30 <210> 108
 <211> 9
 <212> PRT

ES 2 705 686 T3

<213> *Homo sapiens*

<400> 108

5 Gln Glu Ile Thr Gly Asp Phe Asp Tyr
1 5

<210> 109

<211> 107

<212> PRT

10 <213> *Homo sapiens*

<400> 109

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

15 <210> 110

<211> 11

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

20 <400> 110

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10

25 <210> 111

<211> 7

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

30 <400> 111

Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

35 <210> 112

<211> 9

<212> PRT

ES 2 705 686 T3

<213> *Homo sapiens*
<400> 112

Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

5

<210> 113
<211> 121
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

10

<400> 113

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

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

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

Gly Trp Ile Ser Ala Phe Asn Gly His Thr Asp Tyr Ser Gln Lys Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser His Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Pro Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

15

<210> 114
<211> 5
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

20

<400> 114

Asn Phe Gly Ile Ser
1 5

25

<210> 115
<211> 17
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

30

<400> 115

ES 2 705 686 T3

Trp Ile Ser Ala Phe Asn Gly His Thr Asp Tyr Ser Gln Lys Val Gln
 1 5 10 15

Gly

5 <210> 116
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 116

Ser His Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Pro Phe Asp Tyr
 1 5 10

10 <210> 117
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 15 <400> 117

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
 35 40 45

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Lys Ser Tyr Pro Trp
 85 90 95

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

20 <210> 118
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 25 <400> 118

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp Leu Ala
 1 5 10

30 <210> 119
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

ES 2 705 686 T3

<400> 119

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

5 <210> 120
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

10 <400> 120

His Gln Tyr Lys Ser Tyr Pro Trp Thr
1 5

15 <210> 121
<211> 123
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

20 <400> 121

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

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

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

Gly Trp Ile Ser Ala Asp Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Val Phe Arg Tyr Phe Asp Trp Leu Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

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

25 <210> 122
<211> 5
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 122

30 Arg His Gly Ile Thr
1 5

ES 2 705 686 T3

<210> 123
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 123

Trp Ile Ser Ala Asp Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Asp

10 <210> 124
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 124

Val Phe Arg Tyr Phe Asp Trp Leu Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10

20 <210> 125
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 125

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

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

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

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

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

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

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

30 <210> 126
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 126

ES 2 705 686 T3

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
 1 5 10

5
 <210> 127
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 127

Gly Val Phe Ser Arg Ala Thr
 1 5

10
 <210> 128
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 128

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Tyr Thr
 1 5

20
 <210> 129
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 129

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

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

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

Gly Trp Ile Ser Thr Tyr Asn Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
 50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Leu Arg Gly Thr Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

30

ES 2 705 686 T3

5 <210> 130
<211> 5
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 130

Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5

10 <210> 131
<211> 17
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
15 <400> 131

Trp Ile Ser Thr Tyr Asn Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln
1 5 10 15

Gly

20 <210> 132
<211> 10
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
25 <400> 132

Asp Leu Arg Gly Thr Ala Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

30 <210> 133
<211> 107
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 133

ES 2 705 686 T3

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

5 <210> 134
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 134

10 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp Leu Ala
 1 5 10

15 <210> 135
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 135

20 Ala Ala Ser Ser Leu Leu Ser
 1 5

25 <210> 136
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 136

30 Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile Thr
 1 5

<210> 137
 <211> 119
 <212> PRT

ES 2 705 686 T3

<213> *Homo sapiens*

<400> 137

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

5

<210> 138

<211> 107

<212> PRT

10 <213> *Homo sapiens*

<400> 138

ES 2 705 686 T3

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

<210> 139
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 139

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

10

<210> 140

ES 2 705 686 T3

<211> 107
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 140

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

10 <210> 141
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 141

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

ES 2 705 686 T3

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

<210> 144
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 144

5

10

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

ES 2 705 686 T3

<210> 145
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 145

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

10 <210> 146
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 146

ES 2 705 686 T3

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

<210> 147
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 147

5

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

10

<210> 148
 <211> 107

ES 2 705 686 T3

<212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 148

5

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

<210> 149
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10

<400> 149

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

15

ES 2 705 686 T3

<210> 150
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5
 <400> 150

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

10
 <210> 151
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 15
 <400> 151

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

ES 2 705 686 T3

<210> 152
<211> 107
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

5

<400> 152

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

10

<210> 153
<211> 123
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

15

<400> 153

ES 2 705 686 T3

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

5 <210> 154
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 154

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

10 <210> 155
 <211> 117
 <212> PRT

ES 2 705 686 T3

<213> *Homo sapiens*

<400> 155

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

5

<210> 156

<211> 107

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

10

<400> 156

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

15

ES 2 705 686 T3

<210> 157
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 157

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

10 <210> 158
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 158

ES 2 705 686 T3

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

<210> 159
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 159

5

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

10

<210> 160

ES 2 705 686 T3

<211> 107
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 160

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

10 <210> 161
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 161

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

ES 2 705 686 T3

50

55

60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ser Ser Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

5

<210> 162
<211> 107
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 162

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

10

15

<210> 163
<211> 118
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 163

ES 2 705 686 T3

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

5

<210> 164
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 164

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

10

<210> 165
 <211> 118

ES 2 705 686 T3

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

<210> 167
 <211> 118
 5 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 167

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

10
 <210> 168

ES 2 705 686 T3

<211> 107
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

5 <400> 168

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
20 25 30

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

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

10 <210> 169
<211> 118
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

15 <400> 169

ES 2 705 686 T3

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

5

<210> 170
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 170

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

10

<210> 171

ES 2 705 686 T3

<211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 171

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

<210> 172
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10

<400> 172

15

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

ES 2 705 686 T3

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
 85 90 95

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

5 <210> 173
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 173

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

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

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

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gln Glu Ile Thr Gly Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

10 <210> 174
 <211> 107
 <212> PRT
 15 <213> *Homo sapiens*
 <400> 174

ES 2 705 686 T3

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

<210> 175
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 175

5

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

10

ES 2 705 686 T3

<210> 176
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 176

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

10 <210> 177
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 177

ES 2 705 686 T3

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

5

<210> 178
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 178

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

10

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo monoclonal que se une al c-Met humano, donde el anticuerpo comprende:

- 5 a) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 34, 35 y 36 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 38, 39 y 40, **(024)**, o
 b) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 74, 75 y 76 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 78, 79 y 80, **(062)**, o
 10 c) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 82, 83 y 84 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 86, 87 y 88, **(064)**, o
 d) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 90, 91 y 92 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 94, 95 y 96, **(068)**, o
 e) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 98, 99 y 100 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 102, 103 y 104, **(069)**, o
 15 f) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 130, 131 y 132 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 134, 135 y 136, **(181)**
 g) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 114, 115 y 116 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 118, 119 y 120 **(098)**, o
 20 h) una región VH que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 122, 123 y 124 y una región VL que comprende las secuencias de CDR1, 2 y 3 de SEQ ID NO: 126, 127 y 128 **(101)**.

2. El anticuerpo de la reivindicación 1 que comprende:

- 25 a) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 33 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 37 **(024)**
 b) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 73 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 77 **(062)**
 c) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 81 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 85 **(064)**
 30 d) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 89 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 93 **(068)**
 e) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 97 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 101 **(069)**
 35 f) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 113 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 117 **(098)**
 g) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 121 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 125 **(101)**
 h) una región VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 129 y una región VL que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 133 **(181)**, o
 40 i) una variante de cualquiera de dichos anticuerpos, donde dicha variante tiene preferentemente como mucho 1, 2, o 3 modificaciones de aminoácidos, más preferentemente sustituciones de aminoácidos, tales como sustituciones conservadoras de aminoácidos en dichas secuencias.

45 3. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, donde el anticuerpo se une al dominio SEMA de c-Met, preferentemente donde el anticuerpo es capaz de inhibir la unión del HGF al dominio SEMA con una CI50 de menos de 10 µg/ml, tal como menos de 2 µg/ml como se describe en el Ejemplo 18.

50 4. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el anticuerpo se une a las células A431 con una CE50 de 10 nM o menos, tal como un CE50 de 2 nM o menos, preferentemente como se determina de acuerdo con el Ejemplo 13.

5. El anticuerpo de la reivindicación 4, donde el anticuerpo es un anticuerpo bivalente.

55 6. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el anticuerpo se une al c-Met con una constante de afinidad (K_D) de 20 nM o menos, tal como una afinidad de 5 nM o menos, preferentemente como se determina de acuerdo con el Ejemplo 14.

60 7. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el anticuerpo inhibe la unión de HGF al dominio extracelular de c-Met, preferentemente donde el anticuerpo inhibe la unión más del 40 %, tal como más del 50 %, por ejemplo, más del 60 %, por ejemplo, más del 70 %, por ejemplo, más del 80 %, por ejemplo, más del 90 % como se determina de acuerdo con el Ejemplo 16.

65 8. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el anticuerpo es capaz de inhibir la viabilidad de las células KP4, preferentemente donde el anticuerpo es capaz de inhibir la viabilidad más del 10 %, tal como más del 25 %, por ejemplo, más del 40 %, preferentemente como se describe en el Ejemplo 19.

ambas cadenas ligera y pesada de un anticuerpo unidas operativamente.

22. Una célula huésped eucariota o procariota que produce un anticuerpo como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19.

5 23. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

24. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 para su uso como un medicamento.

10 25. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 para su uso en el tratamiento del cáncer, tal como un cáncer dependiente de HGF o un cáncer independiente de HGF.

15 26. Un método para la producción de un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, comprendiendo dicho método las etapas de

- a) el cultivo de una célula huésped de la reivindicación 22, y
- b) la purificación del anticuerpo del medio de cultivo.

20 27. Un método para la detección de la presencia de c-Met en una muestra, que comprende:

- poner en contacto la muestra con un anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 en condiciones que permiten la formación de un complejo entre el anticuerpo y el c-Met; y
- analizar si se ha formado un complejo.

25 28. Un kit para la detección de la presencia de c-Met en una muestra que comprende

- un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19; y
- instrucciones para el uso del kit.

30 29. Un anticuerpo anti-idiotípico contra un anticuerpo de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 17.

Figura 1

VH, comparación 1:

IgHV1-18-1 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGGLEWMGWISAYNGYITNYAQ
VH1016-181 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGGLEWMGWISAYNGYITNYAQ
 VH1016-066 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGGLEWMGWISAYNGYITNYAQ
 VH1016-065 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGGLEWMGWISAYNGYITNYAQ
VH1016-069 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGGLEWMGWISAYNGYITNYAQ
 VH1016-082 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGGLEWMGWISAYNGYITNYAQ
 VH1016-089 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGGLEWMGWISAYNGYITNYAQ
 Consenso QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGGLEWMGWISAYNGYITNYAQ

IgHV1-18-1 KLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR-----
VH1016-181 KLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTYFDYWGQGLTVIVSS
 VH1016-066 KLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTYFDYWGQGLTVIVSS
 VH1016-065 KLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTYFDYWGQGLTVIVSS
VH1016-069 KLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTYFDYWGQGLTVIVSS
 VH1016-082 KLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTYFDYWGQGLTVIVSS
 VH1016-089 KLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTYFDYWGQGLTVIVSS
 Consenso KLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTYFDYWGQGLTVIVSS

VH, comparación 2:

IgHV1-69-4 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYIGISWVRQAPGQGLEWMGRIFPILGTANYAQ
VH1016-005 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYIGISWVRQAPGQGLEWMGRIFPILGTANYAQ
 VH1016-031 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYIGISWVRQAPGQGLEWMGRIFPILGTANYAQ
VH1016-006 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYIGISWVRQAPGQGLEWMGRIFPILGTANYAQ
 VH1016-007 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYIGISWVRQAPGQGLEWMGRIFPILGTANYAQ
 VH1016-011 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYIGISWVRQAPGQGLEWMGRIFPILGTANYAQ
 Consenso QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYIGISWVRQAPGQGLEWMGRIFPILGTANYAQ

IgHV1-69-4 MFQGRVTITADKSTSTAYMELSLRSEDVAVYYCAR-----
VH1016-005 MFQGRVTITADKSTSTAYMELSLRSEDVAVYYCARDVGYDSDAFDIWGQGLTMVIVSS
 VH1016-031 MFQGRVTITADKSTSTAYMELSLRSEDVAVYYCARDVGYDSDAFDIWGQGLTMVIVSS
VH1016-006 MFQGRVTITADKSTSTAYMELSLRSEDVAVYYCARDVGYDSDAFDIWGQGLTMVIVSS
 VH1016-007 MFQGRVTITADKSTSTAYMELSLRSEDVAVYYCARDVGYDSDAFDIWGQGLTMVIVSS
 VH1016-011 MFQGRVTITADKSTSTAYMELSLRSEDVAVYYCARDVGYDSDAFDIWGQGLTMVIVSS
 Consenso MFQGRVTITADKSTSTAYMELSLRSEDVAVYYCARDVGYDSDAFDIWGQGLTMVIVSS

VH, comparación 3:

IgHV3-30-3-1 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKLEWVAVISYDGSNKYYAD
 VH1016-017 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKLEWVAVISYDGSNKYYAD
 VH1016-025 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKLEWVAVISYDGSNKYYAD
VH1016-022 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKLEWVAVISYDGSNKYYAD
 Consenso QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKLEWVAVISYDGSNKYYAD

IgHV3-30-3-1 SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR-----
 VH1016-017 SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARELLWFGELWGYFDLWGRGTLVTVSS
 VH1016-025 SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARELLWFGELWGYFDLWGRGTLVTVSS
VH1016-022 SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARELLWFGELWGYFDLWGRGTLVTVSS
 Consenso SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARELLWFGELWGYFDLWGRGTLVTVSS

VH, comparación 4:

IgHV3-23-1 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKLEWVSAISGSGGITYYAD
 VH1016-040 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKLEWVSAISGSGGITYYAD
VH1016-045 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKLEWVSAISGSGGITYYAD
 VH1016-039 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKLEWVSAISGSGGITYYAD
 Consenso EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKLEWVSAISGSGGITYYAD

Figura 1 (continuación)

IgHV3-23-1 SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAK-----
 VH1016-040 SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKDRGWGSDYWGQGLVTVSS
VH1016-045 SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKDRGWGSDYWGQGLVTVSS
 VH1016-039 SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKDRGWGSDYWGQGLVTVSS
 Consenso SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKDRGWGSDYWGQGLVTVSS

VH, comparación 5:

IgHV4-30-2-1 QLQLQESGSGLVKPSQTL SLTCAVSGGS ISSGGH SWSWIRQPPGKLEWIGCIYHSGNTY
VH1016-068 QLQLQESGSGLVKPSQTL SLTCAVSGGS ISSGGH SWSWIRQPPGKLEWIGCIYHSGNTY
 VH1016-078 QLQLQESGSGLVKPSQTL SLTCAVSGGS ISSGGH SWSWIRQPPGKLEWIGCIYHSGNTY
 VH1016-084 QLQLQESGSGLVKPSQTL SLTCAVSGGS ISSGGH SWSWIRQPPGKLEWIGCIYHSGNTY
VH1016-061 QLQLQESGSGLVKPSQTL SLTCAVSGGS ISSGGH SWSWIRQPPGKLEWIGCIYHSGNTY
VH1016-062 QLQLQESGSGLVKPSQTL SLTCAVSGGS ISSGGH SWSWIRQPPGKLEWIGCIYHSGNTY
 VH1016-063 QLQLQESGSGLVKPSQTL SLTCAVSGGS ISSGGH SWSWIRQPPGKLEWIGCIYHSGNTY
VH1016-064 QLQLQESGSGLVKPSQTL SLTCAVSGGS ISSGGH SWSWIRQPPGKLEWIGCIYHSGNTY
 VH1016-087 QLQLQESGSGLVKPSQTL SLTCAVSGGS ISSGGH SWSWIRQPPGKLEWIGCIYHSGNTY
 Consenso QLQLQESGSGLVKPSQTL SLTCAVSGGS ISSGGH SWSWIRQPPGKLEWIGCIYHSGNTY

IgHV4-30-2-1 NPSLKSRVTIIVDRSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCAR-----
VH1016-068 NPSLKSRVTIIVDRSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARSSYDILTDWGQGLVTVSS
 VH1016-078 NPSLKSRVTIIVDRSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARSSYDILTDWGQGLVTVSS
 VH1016-084 NPSLKSRVTIIVDRSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARSSYDILTDWGQGLVTVSS
VH1016-061 NPSLKSRVTIIVDRSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARSSYDILTDWGQGLVTVSS
VH1016-062 NPSLKSRVTIIVDRSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARSSYDILTDWGQGLVTVSS
 VH1016-063 NPSLKSRVTIIVDRSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARSSYDILTDWGQGLVTVSS
VH1016-064 NPSLKSRVTIIVDRSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARSSYDILTDWGQGLVTVSS
 VH1016-087 NPSLKSRVTIIVDRSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARSSYDILTDWGQGLVTVSS
 Consenso NPSLKSRVTIIVDRSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARSSYDILTDWGQGLVTVSS

VH, comparación 6:

IgHV5-51-1 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFISYWIGWVRQMPGKLEWMGI IYPGDS
 VH1016-016 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFISYWIGWVRQMPGKLEWMGI IYPGDS
 VH1016-028 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFISYWIGWVRQMPGKLEWMGI IYPGDS
VH1016-008 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFISYWIGWVRQMPGKLEWMGI IYPGDS
 VH1016-012 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFISYWIGWVRQMPGKLEWMGI IYPGDS
VH1016-035 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFISYWIGWVRQMPGKLEWMGI IYPGDS
 VH1016-095 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFISYWIGWVRQMPGKLEWMGI IYPGDS
 VH1016-093 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFISYWIGWVRQMPGKLEWMGI IYPGDS
VH1016-096 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFISYWIGWVRQMPGKLEWMGI IYPGDS
 VH1016-104 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFISYWIGWVRQMPGKLEWMGI IYPGDS
 Consenso EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFISYWIGWVRQMPGKLEWMGI IYPGDS

IgHV5-51-1 TRYSPSFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCAR-----
 VH1016-016 TRYSPSFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEIITGDFDYWGQGLVTVSS
 VH1016-028 TRYSPSFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEIITGDFDYWGQGLVTVSS
VH1016-008 TRYSPSFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEIITGDFDYWGQGLVTVSS
 VH1016-012 TRYSPSFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEIITGDFDYWGQGLVTVSS
VH1016-035 TRYSPSFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEIITGDFDYWGQGLVTVSS
 VH1016-095 TRYSPSFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEIITGDFDYWGQGLVTVSS
 VH1016-093 TRYSPSFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEIITGDFDYWGQGLVTVSS
VH1016-096 TRYSPSFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEIITGDFDYWGQGLVTVSS
 VH1016-104 TRYSPSFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEIITGDFDYWGQGLVTVSS
 Consenso TRYSPSFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARQEIITGDFDYWGQGLVTVSS

Figura 2

IGKV1-12*01 DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQHKKP
 VL1016-065 MDMMVPAQLLGLLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQHKKP
 VL1016-066 MDMMVPAQLLGLLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQHKKP
VL1016-069 MDMMVPAQLLGLLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQHKKP
 VL1016-089 MDMMVPAQLLGLLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQHKKP
 VL1016-082 MDMMVPAQLLGLLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQHKKP
VL1016-181 MDMMVPAQLLGLLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQHKKP
 Consenso MDMMVPAQLLGLLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQHKKP

IGKV1-12*01 GKAPKLLIYAASSLISGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPIITFGQGTREIK
 VL1016-065 GKAPKLLIYAASSLISGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPIITFGQGTREIK
 VL1016-066 GKAPKLLIYAASSLISGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPIITFGQGTREIK
VL1016-069 GKAPKLLIYAASSLISGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPIITFGQGTREIK
 VL1016-089 GKAPKLLIYAASSLISGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPIITFGQGTREIK
 VL1016-082 GKAPKLLIYAASSLISGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPIITFGQGTREIK
VL1016-181 GKAPKLLIYAASSLISGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPIITFGQGTREIK
 Consenso GKAPKLLIYAASSLISGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPIITFGQGTREIK

IGKV1D-16*01 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPE
VL1016-005 MDMRVLAQLLGLLLLCPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPE
 VL1016-031 MDMRVLAQLLGLLLLCPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPE
VL1016-006 MDMRVLAQLLGLLLLCPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPE
 VL1016-007 MDMRVLAQLLGLLLLCPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPE
 VL1016-011 MDMRVLAQLLGLLLLCPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPE
 Consenso MDMRVLAQLLGLLLLCPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPE

IGKV1D-16*01 KAPKSLIYAASSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSYPTITFGQGTKEIK
VL1016-005 KAPKSLIYAASSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSYPTITFGQGTKEIK
 VL1016-031 KAPKSLIYAASSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSYPTITFGQGTKEIK
VL1016-006 KAPKSLIYAASSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSYPTITFGQGTKEIK
 VL1016-007 KAPKSLIYAASSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSYPTITFGQGTKEIK
 VL1016-011 KAPKSLIYAASSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSYPTITFGQGTKEIK
 Consenso KAPKSLIYAASSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSYPTITFGQGTKEIK

IGKV1-12*01 DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPG
 VL1016-017 MDMMVPAQLLGLLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQHKKPG
VL1016-022 MDMMVPAQLLGLLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQHKKPG
 VL1016-025 MDMMVPAQLLGLLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQHKKPG
 Consenso MDMMVPAQLLGLLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQHKKPG

IGKV1-12*01 KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQEAANSFTWTFGQGTKEIK
 VL1016-017 KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQEAANSFTWTFGQGTKEIK
VL1016-022 KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQEAANSFTWTFGQGTKEIK
 VL1016-025 KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQEAANSFTWTFGQGTKEIK
 Consenso KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQEAANSFTWTFGQGTKEIK

IGKV3-11*01 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQ
 VL1016-039 MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQ
 VL1016-040 MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQ
VL1016-045 MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQ
 Consenso MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQ

IGKV3-11*01 APRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQRSNWPFITFGPGTKVDIK
 VL1016-039 APRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQRSNWPFITFGPGTKVDIK
 VL1016-040 APRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQRSNWPFITFGPGTKVDIK
VL1016-045 APRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQRSNWPFITFGPGTKVDIK
 Consenso APRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQRSNWPFITFGPGTKVDIK

Figura 2 (continuación)

IGKV1-12*01 DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWLAWYQHKKPG
VL1016-061 MDMMVPAQLLGLLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWLAWYQHKKPG
VL1016-062 MDMMVPAQLLGLLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWLAWYQHKKPG
 VL1016-063 MDMMVPAQLLGLLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWLAWYQHKKPG
VL1016-064 MDMMVPAQLLGLLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWLAWYQHKKPG
VL1016-068 MDMMVPAQLLGLLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWLAWYQHKKPG
 VL1016-084 MDMMVPAQLLGLLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWLAWYQHKKPG
 Consenso MDMMVPAQLLGLLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWLAWYQHKKPG

IGKV1-12*01 KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPIITFGQGTREIK
VL1016-061 KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPIITFGQGTREIK
VL1016-062 KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPIITFGQGTREIK
 VL1016-063 KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPIITFGQGTREIK
VL1016-064 KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPIITFGQGTREIK
VL1016-068 KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPIITFGQGTREIK
 VL1016-084 KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPIITFGQGTREIK
 Consenso KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANGFPIITFGQGTREIK

IGKV1-13*02 AIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQQKPG
VL1016-008 MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQQKPG
 VL1016-012 MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQQKPG
VL1016-035 MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQQKPG
 VL1016-104 MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQQKPG
 VL1016-093 MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQQKPG
VL1016-096 MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQQKPG
 VL1016-016 MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQQKPG
 VL1016-028 MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQQKPG
 VL1016-095 MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQQKPG
 Consenso MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQQKPG

IGKV1-13*02 KAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGKVEIK
VL1016-008 KAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGKVEIK
 VL1016-012 KAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGKVEIK
VL1016-035 KAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGKVEIK
 VL1016-104 KAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGKVEIK
 VL1016-093 KAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGKVEIK
VL1016-096 KAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGKVEIK
 VL1016-016 KAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGKVEIK
 VL1016-028 KAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGKVEIK
 VL1016-095 KAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGKVEIK
 Consenso KAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGKVEIK

Figura 3

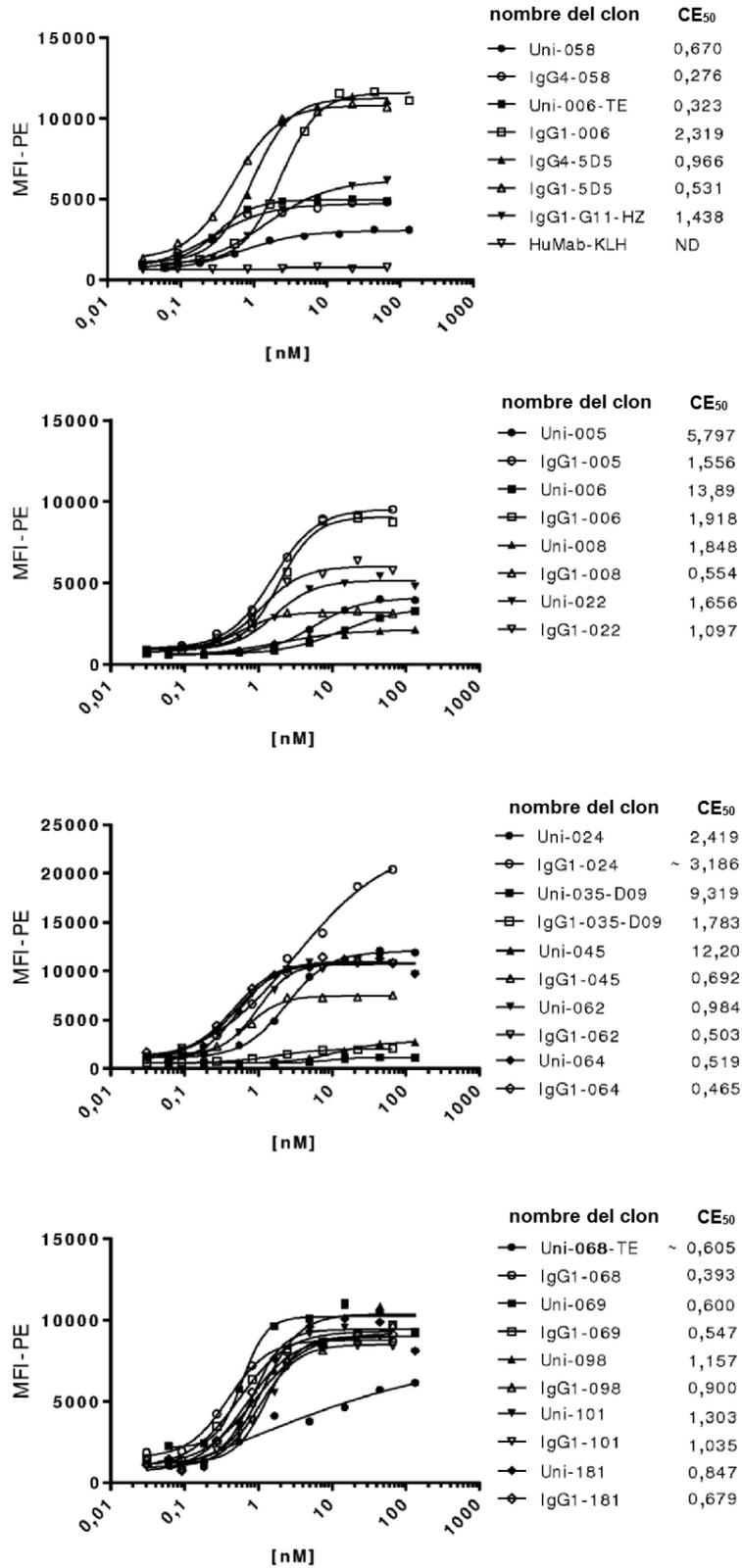


Figura 4

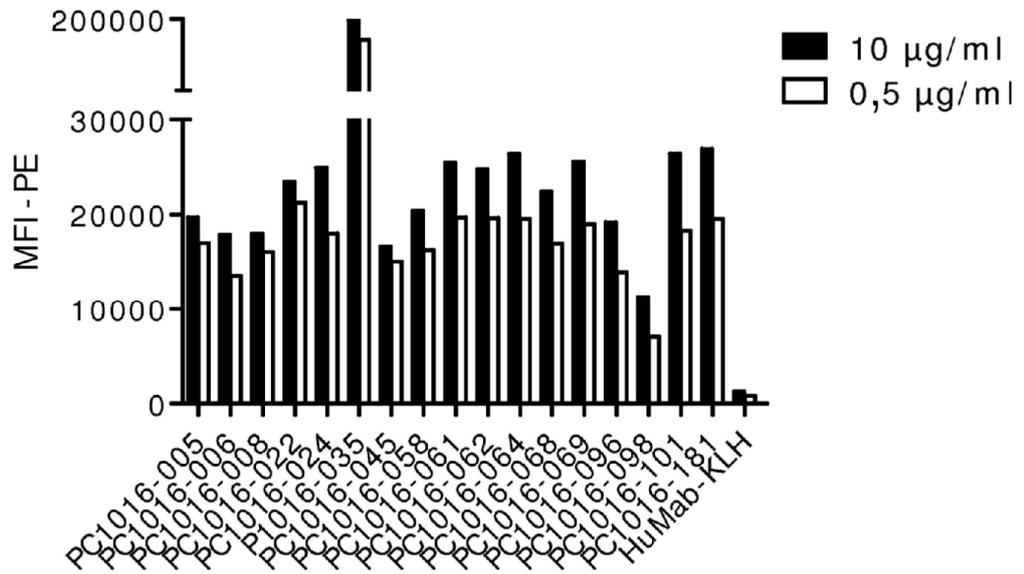


Figura 5

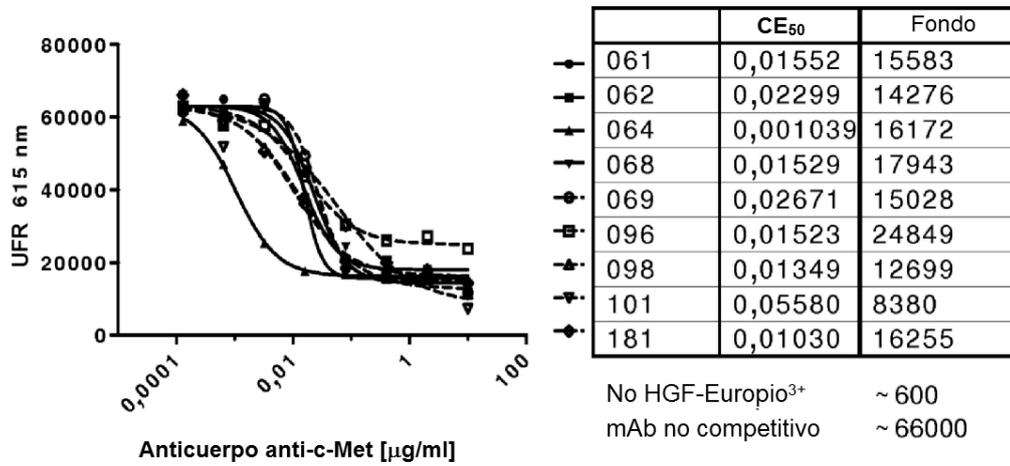
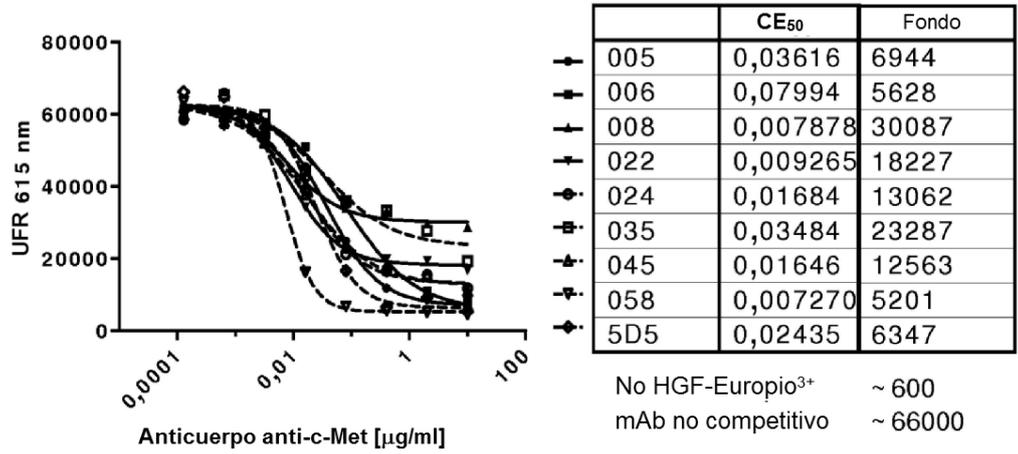


Figura 6

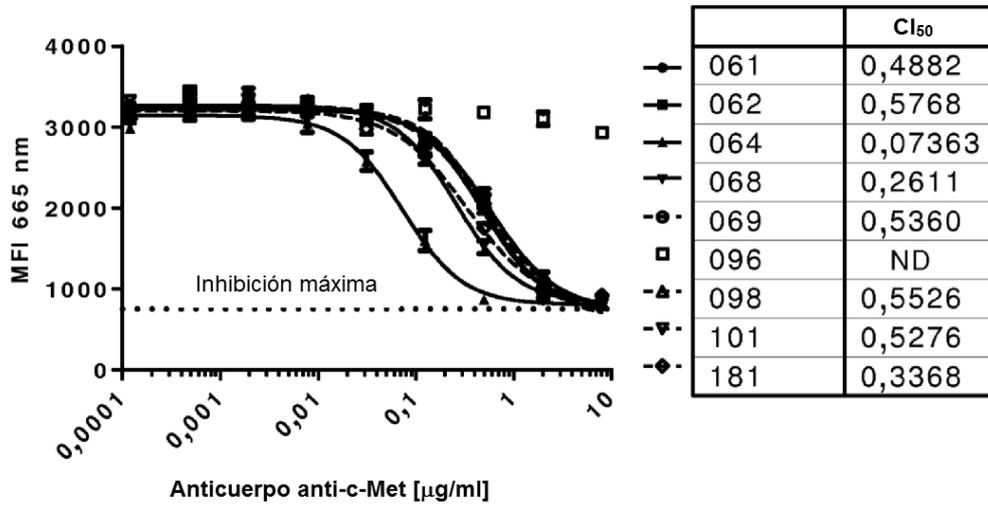
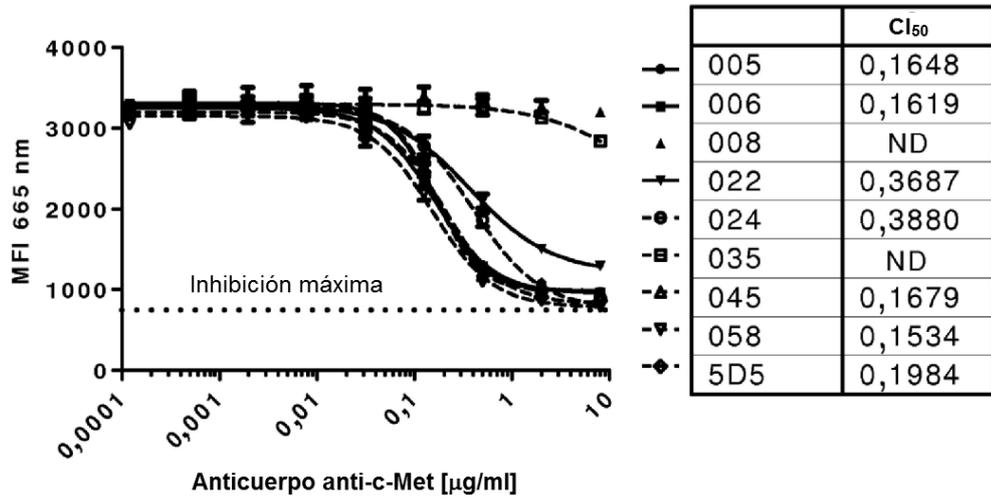


Figura 7

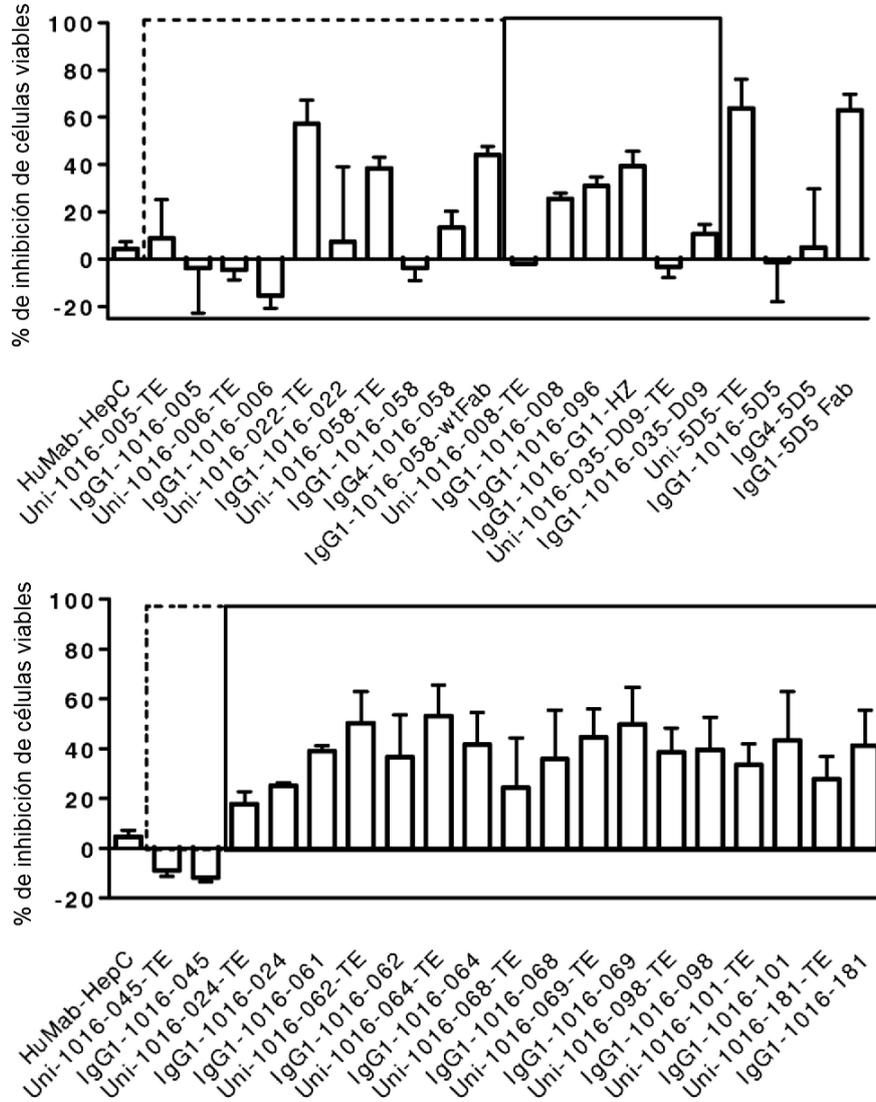


Figura 8

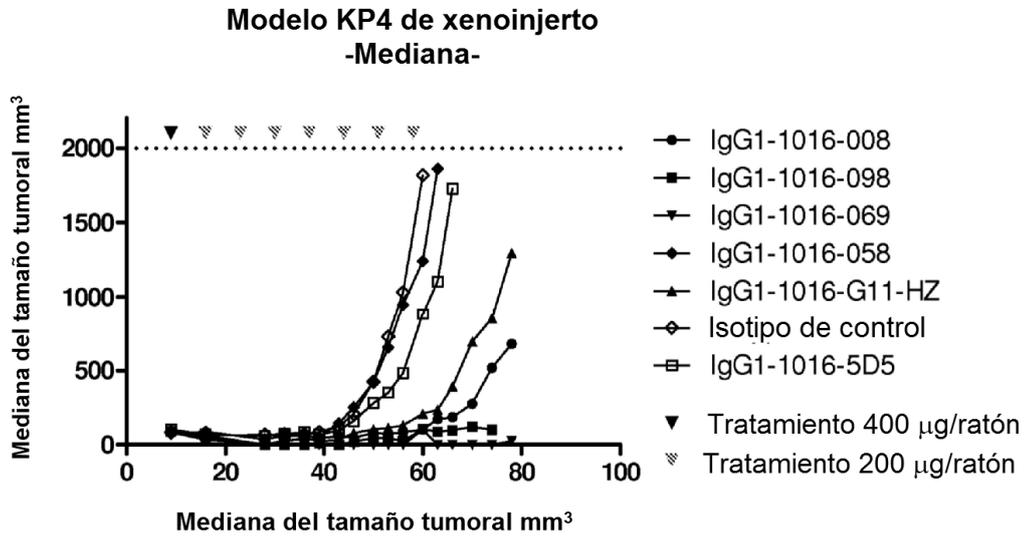


Figura 9

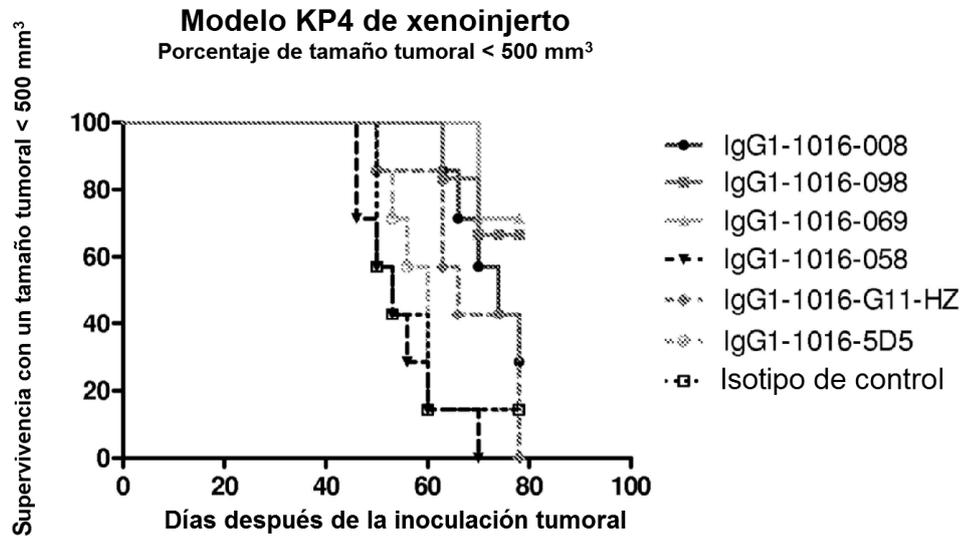


Figura 10

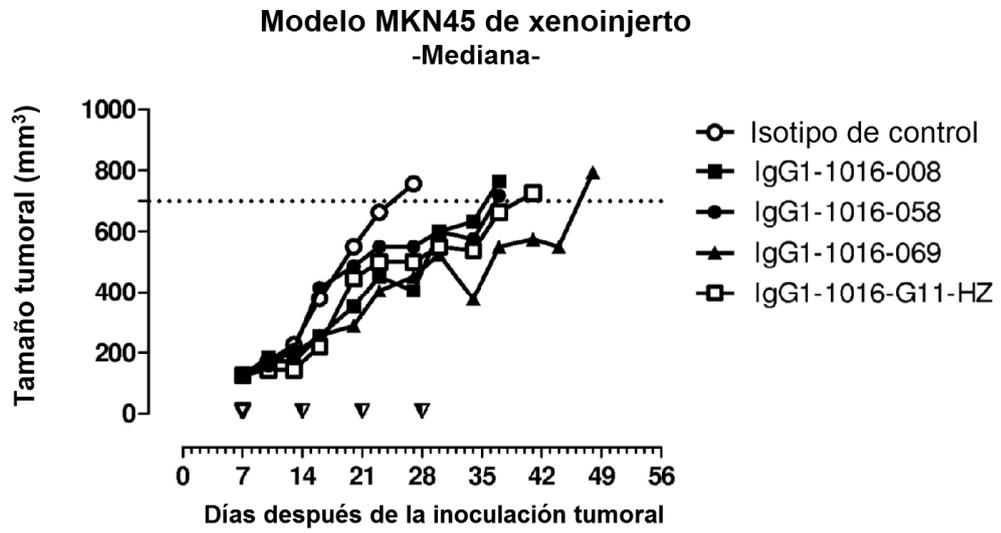


Figura 11

Modelo MKN45 de xenoinjerto
Supervivencia con un tamaño tumoral < 700 mm³

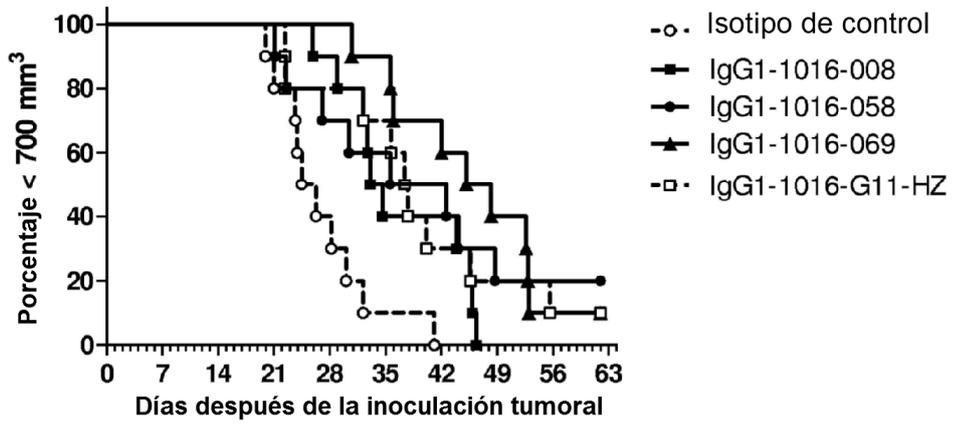


Figura 12

Ensayo de supervivencia con células KP-4 y mAb 5D5

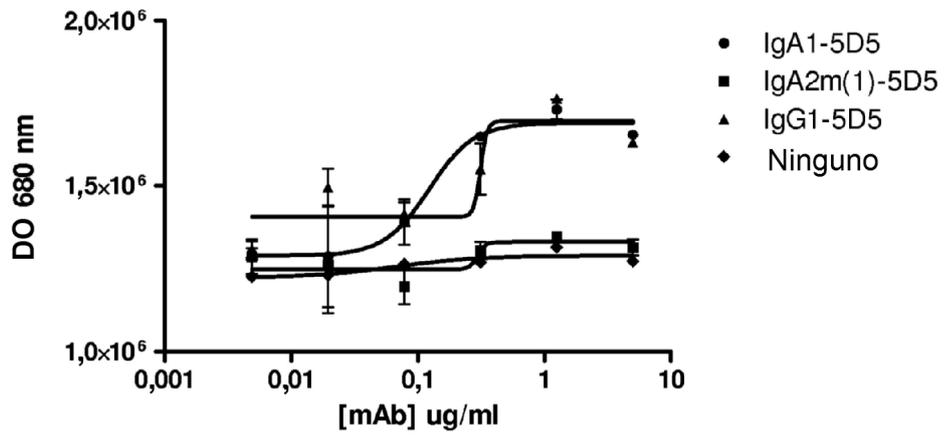


Figura 13

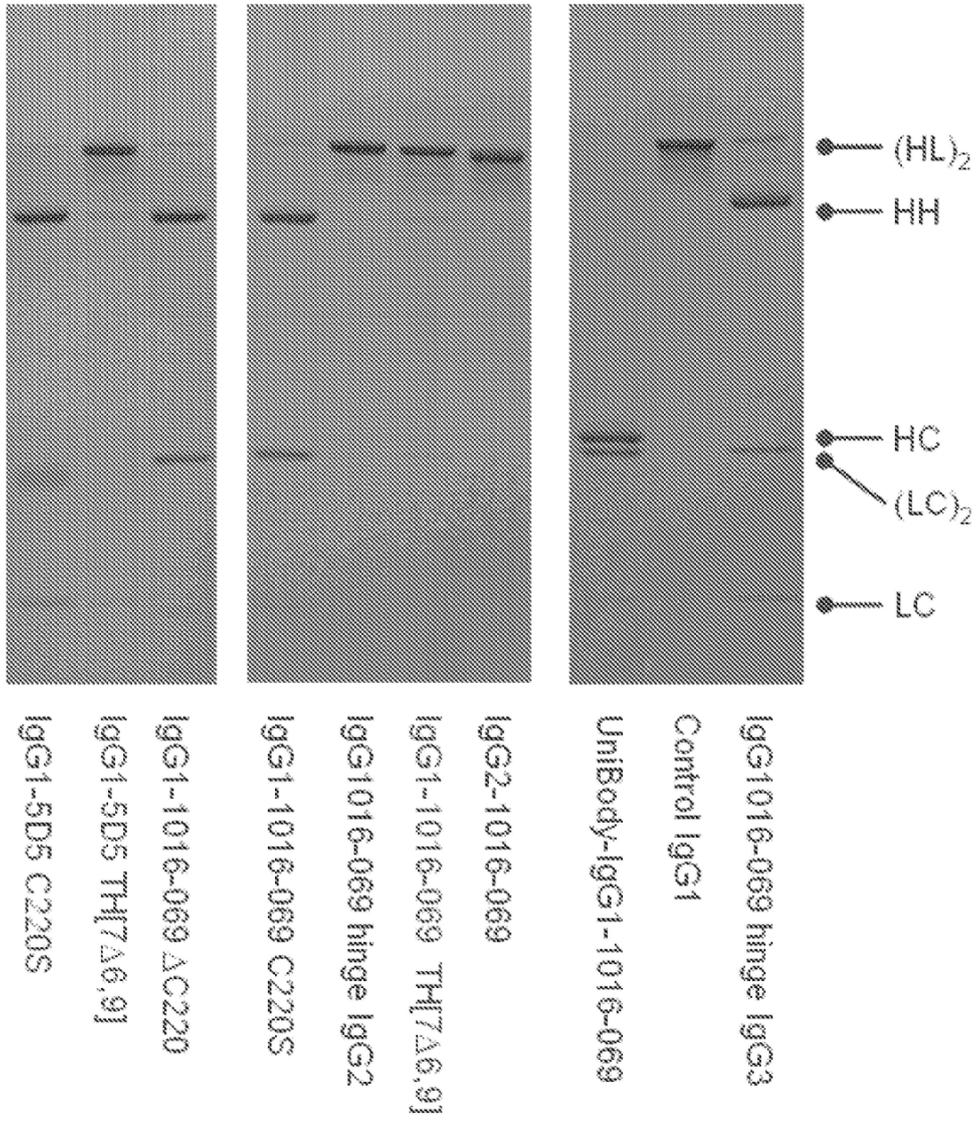


Figura 14

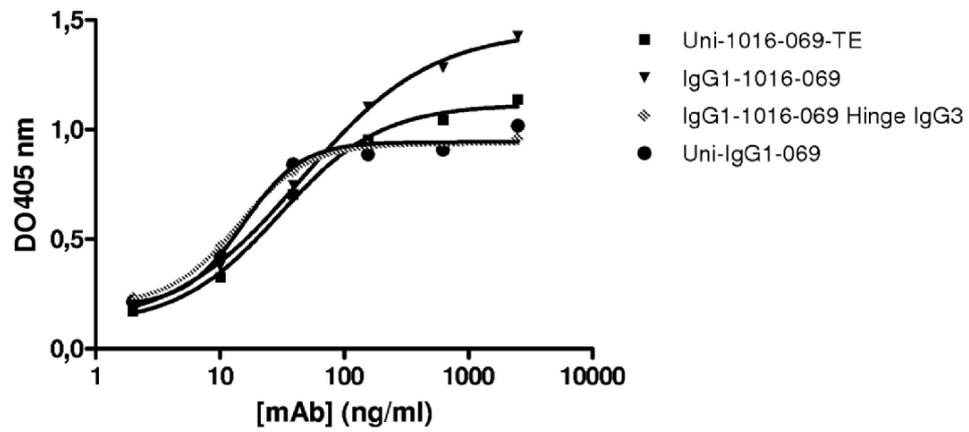
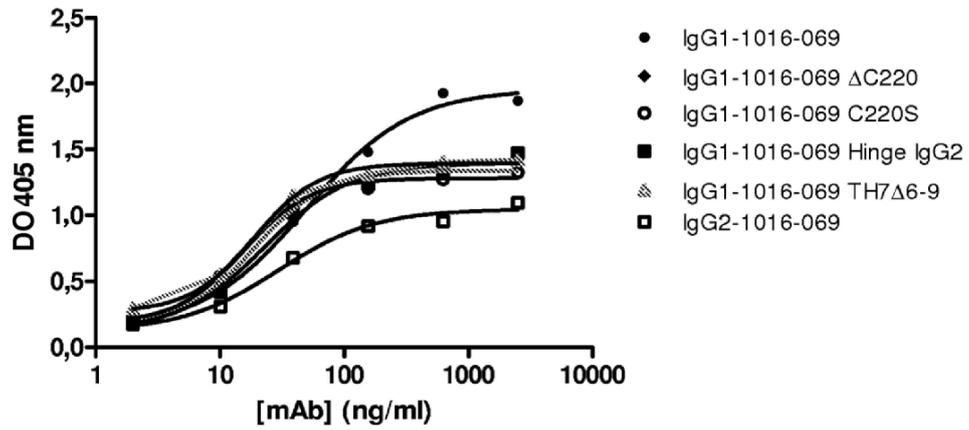


Figura 15

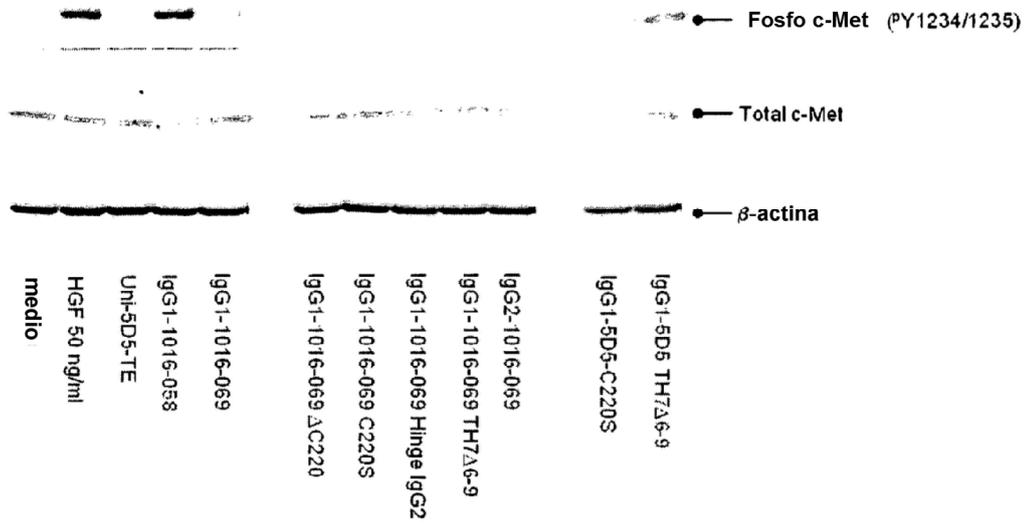


Figura 16

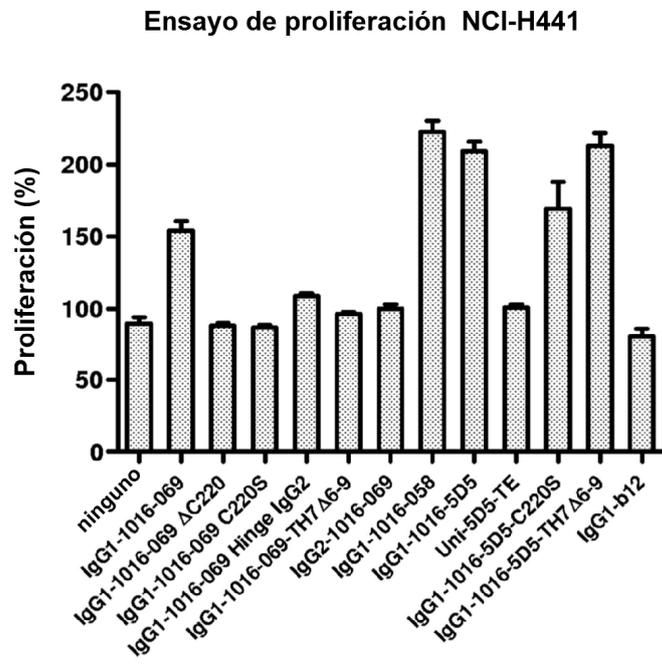


Figura 17

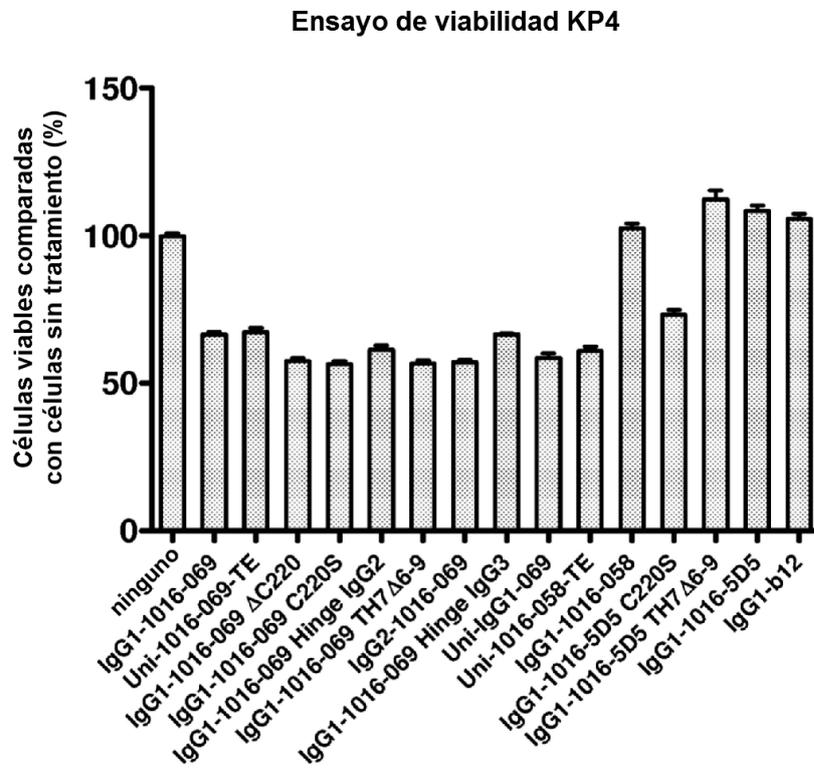


Figura 18

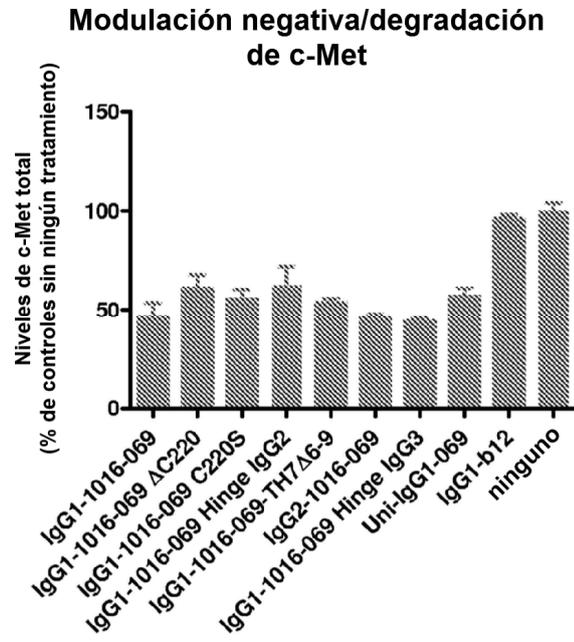


Figura 19

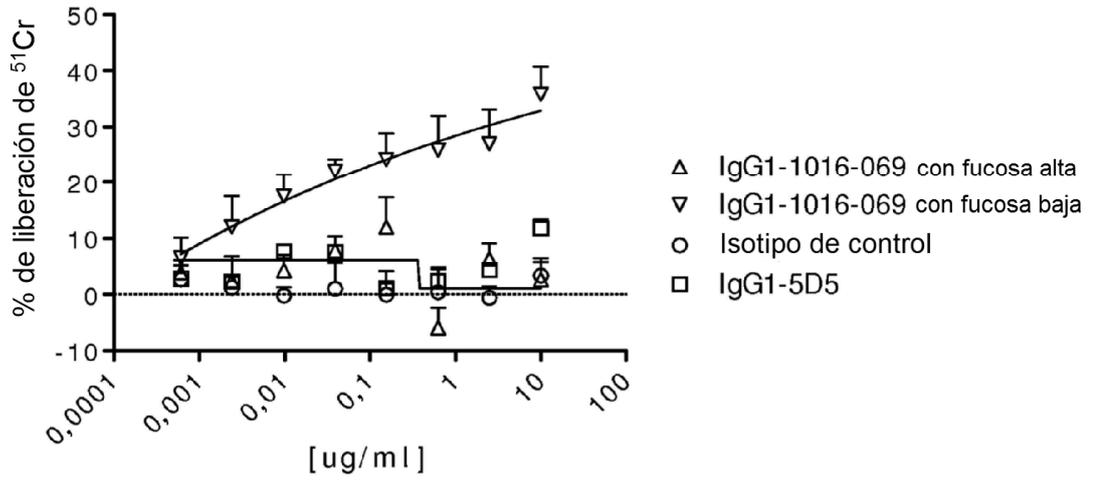


Figura 20

