

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 737 649**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.12.2013 PCT/US2013/076615**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.06.2014 WO14100435**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.12.2013 E 13818154 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.04.2019 EP 2935330**

54 Título: **Anticuerpos anti-Notch3**

30 Prioridad:

19.12.2012 US 201261739435 P
16.08.2013 US 201361866787 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.01.2020

73 Titular/es:

AVEO PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
650 E. Kendall Street
Cambridge, MA 02142, US

72 Inventor/es:

OKAMURA, HEIDI;
ABBOTT, SANDRA;
BELL, ALISA C.;
KREUTER, KELLY;
O'HAGAN, RONAN;
PERINO, SAMANTHA;
TISSIRE, HAMID;
WINSTON, WILLIAM M., JR. y
GYURIS, JENO

74 Agente/Representante:

TEMIÑO CENICEROS, Ignacio

ES 2 737 649 T3

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

DESCRIPCIÓN

Anticuerpos anti-Notch3

5 **Campo de la invención**

El campo de la invención es la biología molecular, la inmunología y la oncología. Más en particular, el campo son los anticuerpos que se unen a Notch3 humana.

10 **Antecedentes**

La vía de señalización de Notch está involucrada en numerosos procesos celulares, incluida la determinación del destino de la célula, la diferenciación, la proliferación, la apoptosis, la migración y la angiogénesis. En mamíferos, hay cuatro proteínas Notch (a veces llamadas "receptores Notch"), designadas Notch1-Notch4. Las cuatro proteínas Notch tienen una estructura de dominio similar, que incluye un dominio extracelular, una región reguladora negativa (NRR por sus siglas en inglés), un dominio transmembrana de un solo paso y un dominio intracelular. El dominio extracelular contiene una serie de repeticiones similares a EGF que están involucradas en la unión al ligando. Durante la maduración, el polipéptido Notch se escinde por una proteasa similar a la furina. Esta escisión divide la proteína Notch en dos subunidades que se mantienen unidas por interacciones no covalentes de la NRR. En ausencia de unión al ligando, el dominio NRR funciona para mantener la proteína Notch en una conformación resistente a la proteasa. El dominio intracelular es un factor de transcripción denominado dominio intracelular de Notch (NICD, por sus siglas en inglés), que se libera tras la escisión proteolítica por la gamma secretasa, en respuesta a la unión de la proteína Notch por un ligando. En mamíferos, los ligandos de Notch son de tipo Delta (por ejemplo, DLL1 y DLL4) y Jagged (también conocido como Jag, por ejemplo, Jag1 y Jag2). Cuando se libera el NICD, viaja al núcleo, donde activa la transcripción de los genes que responden a Notch, HES1, HES5, NRARP, Deltex1 y c-MYC. Para las revisiones de la biología relacionada con Notch, véase, por ejemplo, Bray, 2006, NATURE REVIEWS 7: 678-689; Kopan et al., 2009, CELL 137: 216-233.

Mientras que las proteínas Notch juegan un papel crucial en el desarrollo normal, la desregulación de las proteínas Notch está asociada con varios tipos de cáncer, incluyendo leucemia/linfoma linfoblástico agudo de linfocitos T (T-ALL), cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de ovario y cáncer de pulmón. Véase, por ejemplo, Miele et al., 2006, CURRENT CANCER DRUG TARGETS 6: 313-323. Por consiguiente, un enfoque terapéutico para el tratamiento del cáncer es la inhibición de la vía de señalización de Notch. La inhibición de la vía de señalización de Notch se ha logrado utilizando anticuerpos monoclonales (Wu et al., 2010, NATURE 464:1052-1057; Aste-Amézaga et al., 2010, PLOS ONE 5:1-13 e9094).

El documento WO 2010/005566 se relaciona con los agentes de unión a Notch y los antagonistas de Notch y los métodos de uso de los agentes y/o antagonistas para tratar enfermedades tales como el cáncer.

Los anticuerpos naturales son proteínas multiméricas que contienen cuatro cadenas polipeptídicas (**Figura 1**). Dos de las cadenas polipeptídicas se denominan cadenas pesadas de inmunoglobulina (cadenas H), y dos de las cadenas polipeptídicas se denominan cadenas ligeras de inmunoglobulina (cadenas L). Las cadenas pesada y ligera de inmunoglobulina están conectadas por un enlace disulfuro entre cadenas. Las cadenas pesadas de inmunoglobulina están conectadas por enlaces disulfuro entre cadenas. Una cadena ligera consiste en una región variable (V_L en la **Figura 1**) y una región constante (C_L en la **Figura 1**). La cadena pesada consiste en una región variable (V_H en la **Figura 1**) y al menos tres regiones constantes (CH_1 , CH_2 y CH_3 en la **Figura 1**). Las regiones variables determinan la especificidad del anticuerpo.

Cada región variable contiene tres regiones hipervariables conocidas como regiones determinantes de complementariedad (CDR) flanqueadas por cuatro regiones relativamente conservadas conocidas como regiones estructurales (FR). Las tres CDR, denominadas CDR₁, CDR₂ y CDR₃, contribuyen a la especificidad de unión al anticuerpo. Los anticuerpos de origen natural se han utilizado como material de partida para anticuerpos de ingeniería, tales como los anticuerpos quiméricos y los anticuerpos humanizados.

Existe la necesidad de anticuerpos mejorados que neutralicen la actividad biológica de la Notch3 humana y que puedan usarse como agentes terapéuticos para tratar pacientes humanos.

SUMARIO DE LA INVENCION

La invención se basa en el descubrimiento de anticuerpos que se unen específicamente a Notch3 humana. Los anticuerpos descritos en este documento contienen sitios de unión a Notch3 basados en las CDR de los anticuerpos anti-Notch3 descritos en el presente documento. Los anticuerpos descritos previenen o inhiben la activación de Notch3 humana. Lo hacen al impedir que Notch3 se una a los ligandos de Notch, es decir, Jag1, Jag2, DLL1 y DLL4. Los anticuerpos descritos pueden usarse para inhibir la proliferación de células tumorales *in vitro* y/o *in vivo*. Cuando se administra a un paciente humano con cáncer, los anticuerpos inhiben o reducen el crecimiento del tumor en el paciente humano.

ES 2 737 649 T3

La presente invención se refiere a un anticuerpo aislado que se une a Notch3 humana que comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina seleccionada del grupo que consiste en:

5 (a)

(i) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende una CDRH1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:51, una CDRH2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53, y una CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7; y

10

(ii) una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende una CDRL1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:62, una CDRL2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9 y una CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10;

15 (b)

(i) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende una CDRH1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:51, una CDRH2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53, y una CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7; y

20

(ii) una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende una CDRL1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:8, una CDRL2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9 y una CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10;

25 (c)

(i) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende una CDRH1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:51, una CDRH2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53, y una CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7; y

30

(ii) una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende una CDRL1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:63, una CDRL2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9 y una CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10;

35 (d)

(i) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende una CDRH1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:51, una CDRH2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53, y una CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7; y

40

(ii) una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende una CDRL1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:64, una CDRL2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9, y una CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10.

45 La presente invención también se refiere a un anticuerpo aislado que se une a Notch3 humana que comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina seleccionada del grupo que consiste en:

50 (a) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:36 (Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S), y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:46 (Hu4F11 Kv2D-29 N28H);

55 (b) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:38 (Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S), y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:46 (Hu4F11 Kv2D-29 N28H);

60 (c) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:36 (Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S), y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:48 (Hu4F11 Kv2D-29 N28Q);

(d) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:38 (Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S), y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:48 (Hu4F11 Kv2D-29 N28Q);

65 (e) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:36 (Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S), y una región variable de la cadena ligera de

inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:50 (Hu4F11 Kv2D-29 N28Y);

5 (f) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:38 (Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S), y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:50 (Hu4F11 Kv2D-29 N28Y).

La presente invención se refiere además a un anticuerpo aislado que se une a Notch3 humana que comprende una cadena pesada de inmunoglobulina y una cadena ligera de inmunoglobulina seleccionada del grupo que consiste en:

10 (a) una cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78 (Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S), y una cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 90 (Hu4F11 Kv2D-29 N28H Kappa);

15 (b) una cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 80 (Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S), y una cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 90 (Hu4F11 Kv2D-29 N28H Kappa);

20 (c) una cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 78 (Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S), y una cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 92 (Hu4F11 Kv2D-29 N28Q Kappa);

25 (d) una cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 80 (Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S), y una cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 92 (Hu4F11 Kv2D-29 N28Q Kappa);

(e) una cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 78 (Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S), y una cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94 (Hu4F11 Kv2D-29 N28Y Kappa);

30 (f) una cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 80 (Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S), y una cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94 (Hu4F11 Kv2D-29 N28Y Kappa).

35 La invención proporciona además un ácido nucleico aislado, un vector de expresión o vectores de expresión, una célula hospedadora, un método para producir anticuerpos y un método *in vitro* y uso médico.

40 Estos y otros aspectos y ventajas de la invención se ilustran en las siguientes figuras, descripción detallada y reivindicaciones. Tal como se utiliza en el presente documento, "incluyendo" significa sin limitación, y los ejemplos citados no son limitativos. Tal como se utiliza en el presente documento, "anticuerpo 4F11" significa anticuerpo 4F11, o variantes humanizadas del mismo.

Descripción de los dibujos

45 La invención se puede entender más completamente con referencia a los siguientes dibujos.

La Figura 1 (técnica anterior) es una representación esquemática de un anticuerpo típico de origen natural.

50 **La Figura 2** proporciona la secuencia de aminoácidos correspondiente al dominio extracelular (ECD; aminoácidos 40 a 1643) de Notch3 humana (SEQ ID NO: 95).

La Figura 3 proporciona la secuencia de aminoácidos correspondiente a las repeticiones 1-11 de tipo EGF (aminoácidos 40 a 467 del dominio extracelular mostrado en la **Figura 2**) de Notch3 humana (SEQ ID NO: 96).

55 **La Figura 4** es un gráfico de barras que resume los resultados de un experimento para determinar la especificidad de la unión del anticuerpo 4F11 a Notch3 humana recombinante unido a Fc (rhNotch3) usando Octeto. Los resultados demuestran que la especificidad de unión del anticuerpo 4F11 para rhNotch3 es mucho mayor que para rhNotch1 o rhNotch2.

60 **La Figura 5A** es un gráfico de barras que ilustra la capacidad del anticuerpo 4F11 para neutralizar la unión del ligando Jag1 a la proteína Notch3 humana. El gráfico muestra que el anticuerpo 4F11 y un control específico de Notch3, pero no la inmunoglobulina humana (hIgG), fueron capaces de bloquear la unión de Jag1 unido a Fc humano recombinante (Jag1-Fc) a rhNotch3, Según lo detectado por la interferometría de biocapa (BLI).

65 **La Figura 5B** es un gráfico de barras que ilustra la capacidad del anticuerpo 4F11 para neutralizar la unión del ligando Jag2 a la proteína Notch3 humana. El gráfico muestra que el anticuerpo 4F11 y un control específico de Notch3, pero no hIgG, fueron capaces de bloquear la unión de Jag2 unido a Fc humano recombinante (Jag2-Fc)

a rhNotch3, según lo detectado por BLI.

La Figura 5C es un gráfico de barras que ilustra la capacidad del anticuerpo 4F11 para neutralizar la unión del ligando DLL1 a la proteína Notch3 humana. El gráfico muestra que el anticuerpo 4F11 y un control específico de Notch3, pero no hlgG, bloquean la unión de DLL1 unida a Fc humana recombinante (DLL1-Fc) a rhNotch3, en mayor medida que la IgG, según lo detectado por BLI.

La Figura 5D es un gráfico de barras que ilustra la capacidad del anticuerpo 4F11 para neutralizar la unión del ligando DLL4 a la proteína Notch3 humana. El gráfico muestra que el anticuerpo 4F11 y un control específico de Notch3, pero no hlgG, fueron capaces de bloquear la unión de DLL4 unido a Fc humano recombinante (DLL4-Fc) a rhNotch3, según lo detectado por BLI.

La Figura 6A es una curva de dosis-respuesta que resume los resultados de un ensayo de indicador de Notch3 que muestra que el anticuerpo 4F11 inhibe la expresión del gen indicador dependiente de Notch3 en presencia del ligando Jag2 unido a Fc (Jag2-Fc). El gráfico muestra la relación entre la inhibición de la actividad del indicador estimulado por Jag2-Fc (% de inhibición) por el anticuerpo 4F11 en células transducidas, en relación con la cantidad de ligando Jag2-Fc. La actividad del indicador de células transducidas con el indicador de luciferasa dependiente de RBP-Jk, expuesto a cualquier ligando activador, y tratado con IgG de ratón (mlgG) se definió como un 100 % de actividad para cada ligando. La actividad del indicador de las células transducidas no expuestas al ligando pero tratadas con IgG de ratón se definió como una actividad del 0 %.

La Figura 6B es un gráfico de barras que resume los resultados de los ensayos de indicador de Notch3 que muestran que el anticuerpo 4F11, pero no la IgG de ratón (mlgG), inhibe la expresión del gen indicador dependiente de Notch3 inducida por los ligandos hJag1, hJag2, hDLL1 y hDLL4. La actividad del indicador de células transducidas con el indicador de luciferasa dependiente de RBP-Jk, expuesto a cualquier ligando activador, y tratado con IgG de ratón (mlgG) se definió como un 100 % de actividad para cada ligando. La actividad del indicador de las células transducidas no expuestas al ligando pero tratadas con IgG de ratón se definió como una actividad del 0 %.

La Figura 7 es un alineamiento de secuencias que muestra la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina completa de la región variable de 4F11 quimérico indicada como Ch4F11 y las regiones variables de la cadena pesada de 4F11 humanizado designadas como Sh4F11 Hv3-23, Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S, Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S, Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S y Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S. Las secuencias de aminoácidos para cada región variable de la cadena pesada están alineadas unas con otras, y las secuencias CDR₁ CDR₂ y CDR₃ (definición de Kabat) se identifican en recuadros. Las secuencias sin recuadro representan secuencias estructurales (FR).

La Figura 8 es un alineamiento de secuencias que muestra las secuencias aisladas CDR₁ CDR₂ y CDR₃ para cada una de las secuencias de la región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina en la **Figura 7**.

La Figura 9 es un alineamiento de secuencias que muestra la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina completa de 4F11 quimérico designada como Ch4F11 y las regiones variables de la cadena ligera de 4F11 humanizado designadas como Hu4F11 Kv2D-29, Hu4F11 Kv2D-29 N28H, Hu4F11 Kv2D-29 N28Q y Hu4F11 Kv2D-29 N28Y. Las secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera están alineadas entre sí y las secuencias CDR₁, CDR₂ y CDR₃ (definición de Kabat) se identifican en recuadros. Las secuencias sin recuadro representan secuencias estructurales (FR).

La Figura 10 es un alineamiento de secuencias que muestra las secuencias aisladas CDR₁, CDR₂ y CDR₃ para cada una de las secuencias de la región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina en la **Figura 9**.

La Figura 11 es un gráfico que ilustra la capacidad de los anticuerpos 4F11 humanizados seleccionados (es decir, Hu4F11-70, Hu4F11-72, Hu4F11-74 y Hu4F11-78) para inhibir la escisión de ICD de Notch3 inducida por ligando en las células MDA-MB-468 cultivadas en Jag2mFc. Las células MDA-MB-468 expuestas a cualquiera de los anticuerpos 4F11 o hlgG se colocaron en pocillos recubiertos con hJag2-mFc, se incubaron durante la noche, se lavaron y sus lisados se recogieron para la detección de NICD por transferencia de Western. El gráfico muestra la intensidad de la banda de NICD escindida en cada muestra según lo detectado por transferencia de Western. Las transferencias también se exploraron con tubulina anti-β como control, y las bandas se cuantificaron utilizando el software ImageLab. Como control negativo, las células expuestas a hlgG se colocaron en placas recubiertas con mFc (Fc) en lugar de Jag2mFc.

La Figura 12A y la **Figura 12B** son gráficos que resumen los resultados de un ensayo de indicador de Notch3 que muestra que las variantes humanizadas de 4F11 inhiben la expresión del gen indicador dependiente de Notch3 inducida por el ligando Jag2. Las células CHO transfectadas con el vector de expresión de ADNc Jag2 se incubaron durante 24 horas con una mezcla de células indicadoras HCC1143 y 0,1 mg/ml, 1 mg/ml o 10 mg/ml de variantes del anticuerpo 4F11 (es decir, Hu4F11-32, Hu4F11-69, Hu4F11-70, Hu4F11-71, Hu4F11-72, Hu4F11-73, Hu4F11-74, Hu4F11-75, Hu4F11-76, Hu4F11-77, Hu4F11-78, Hu4F11-79, o Hu4F11-80), un

anticuerpo de control negativo (Control Ab Neg) o inmunoglobulina G humana (IgG), o se dejaron sin tratar. 24 horas después de exponer las células indicadoras a células CHO que expresan Jag2, las células se procesaron utilizando el protocolo de análisis de indicadores Bright Glo (Promega, Madison, WI) y se detectaron unidades de luz relativa promedio (RLU) en un luminómetro GloMax (Promega) (figura 12A y figura 12B).

La Figura 13 es un gráfico que ilustra la capacidad de los anticuerpos 4F11 humanizados seleccionados (es decir, Hu4F11-70, Hu4F11-72 y Hu4F11-78) para inhibir la activación del receptor Notch3 *in vivo* después del tratamiento de ratones portadores de tumores de xenoinjerto HCC2429. Los ratones inoculados con matrigel y células HCC2429 que expresan Notch3 pudieron desarrollar tumores de 300-400 mm³, en cuyo punto tres ratones (m1, m2 y m3 en la figura 13) fue tratado cada uno con 20 mg/kg de hlgG, 4F11 o anticuerpo humanizado de Notch3. A continuación, se recogieron los tumores y los lisados, y se realizó una transferencia de Western utilizando un anticuerpo específico para el extremo C de Notch3 con el fin de detectar la extensión de la escisión del dominio intracelular de Notch. Se calculó la intensidad de la banda de transferencia de Western del fragmento de dominio intracelular de Notch escindido, normalizando al control de carga de β -tubulina.

Descripción detallada

Los anticuerpos descritos en el presente documento se basan en los sitios de unión al antígeno de ciertos anticuerpos monoclonales que se han seleccionado en función de la unión y neutralización de la actividad de Notch3 humana. Los anticuerpos contienen secuencias de CDR de región variable de inmunoglobulina que definen un sitio de unión para Notch3 humana.

Debido a la actividad neutralizante de estos anticuerpos, son útiles para inhibir el crecimiento y/o la proliferación de ciertas células cancerosas y tumores. Los anticuerpos pueden diseñarse por ingeniería (por ejemplo, humanizarse) para minimizar o eliminar una respuesta inmune cuando se administran como un anticuerpo terapéutico a un paciente humano. Varias características y aspectos de la invención se describen con más detalle a continuación.

Tal como se utiliza en el presente documento, salvo que se indique lo contrario, el término "anticuerpo" significa un anticuerpo intacto (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal intacto) o un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo, incluyendo un anticuerpo intacto o un fragmento de unión al antígeno que ha sido modificado, diseñado por ingeniería o químicamente conjugado. Los ejemplos de anticuerpos que han sido modificados o diseñados por ingeniería son anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados y anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos). Los ejemplos de fragmentos de unión al antígeno incluyen fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, anticuerpos monocatenarios (por ejemplo, scFv), minicuerpos y diacuerpos. Un anticuerpo conjugado con un resto de toxina es un ejemplo de un anticuerpo conjugado químicamente.

I. Anticuerpos que se unen a Notch3 humana

Como se desvela en el presente documento, los anticuerpos pueden comprender: (a) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la estructura CDR_{H1}-CDR_{H2}-CDR_{H3} y (b) una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la estructura CDR_{L1}-CDR_{L2}-CDR_{L3}, en la que la región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena ligera definen juntas un único sitio de unión para unir Notch3 humana.

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende: (a) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la estructura CDR_{H1}-CDR_{H2}-CDR_{H3} y (b) una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina, en la que la región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena ligera definen juntas un único sitio de unión para unir Notch3 humana. Una CDR_{H1} comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60 y SEQ ID NO:61; una CDR_{H2} comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO:53; y una CDR_{H3} comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO:7 y la SEQ ID NO:16. (Las regiones variables de la cadena pesada de inmunoglobulina que incluyen las secuencias de CDR referenciadas se pueden encontrar en la **Tabla 10** y las **figuras 7-8**.)

Como se describe en el presente documento; el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende una CDR_{H1} que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 5 y la SEQ ID NO: 11, una CDR_{H2} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 y una CDR_{H3} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7.

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende una CDR_{H1} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 51, una CDR_{H2} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 53 y una CDR_{H3} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7.

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende una CDR_{H1} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 51, una CDR_{H2} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 53 y una CDR_{H3} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7.

5 Como se describe en el presente documento, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende una CDR_{H1} que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 52 y la SEQ ID NO: 56, una CDR_{H2} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 53 y una CDR_{H3} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7.

10 Como se describe en el presente documento, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende una CDR_{H1} que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 5 y la SEQ ID NO: 57, una CDR_{H2} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 53 y una CDR_{H3} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7.

15 Preferentemente, las secuencias CDR_{H1}, CDR_{H2} y CDR_{H3} se interponen entre las secuencias FR de inmunoglobulina humana o humanizada.

20 En otras realizaciones, el anticuerpo comprende (a) una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la estructura CDR_{L1}-CDR_{L2}-CDR_{L3} y (b) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina, en donde la región variable de la cadena ligera de IgG y la región variable de la cadena pesada de IgG definen juntas un único sitio de unión para unir Notch3 humana. Como se describe en el presente documento, CDR_{L1} comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66 y SEQ ID NO:67; una CDR_{L2} comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO:9 o la secuencia de aminoácidos de KVS; y una CDR_{L3} comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10. (Las regiones variables de la cadena ligera de inmunoglobulina que incluyen las secuencias de CDR referenciadas se pueden encontrar en la **Tabla 11** y en las **figuras 9-10**.)

30 En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende una CDR_{L1} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8, una CDR_{L2} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 y una CDR_{L3} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10.

35 En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende una CDR_{L1} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 62, una CDR_{L2} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 y una CDR_{L3} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10.

40 En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende una CDR_{L1} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 63, una CDR_{L2} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 y una CDR_{L3} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10.

45 En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende una CDR_{L1} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64, una CDR_{L2} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 y una CDR_{L3} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10.

50 Preferentemente, las secuencias CDR_{L1}, CDR_{L2} y CDR_{L3} se interponen entre las secuencias FR de la inmunoglobulina humana o humanizada.

55 En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende: (a) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la estructura CDR_{H1}-CDR_{H2}-CDR_{H3} y (b) una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la estructura CDR_{L1}-CDR_{L2}-CDR_{L3}, en la que la región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena ligera definen juntas un único sitio de unión para unir Notch3 humana. Como se describe en el presente documento, CDR_{H1} comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60 y SEQ ID NO:61; la CDR_{H2} comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO:53; y la CDR_{H3} comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO:7 y la SEQ ID NO:16. La CDR_{L1} comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66 y SEQ ID NO:67; la CDR_{L2} comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO:9 o la secuencia de aminoácidos de KVS; y la CDR_{L3} comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10.

la SEQ ID NO:62, una CDR_{L2} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9 y una CDR_{L3} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10.

5 Como se describe en el presente documento, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende una CDR_{H1} que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO:5 y la SEQ ID NO: 57, una CDR_{H2} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53 y una CDR_{H3} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7; y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende una CDR_{L1} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:63, una CDR_{L2} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9 y una CDR_{L3} que
10 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10.

15 Como se describe en el presente documento, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende una CDR_{H1} que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO:5 y la SEQ ID NO: 57, una CDR_{H2} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53 y una CDR_{H3} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7; y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende una CDR_{L1} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:64, una CDR_{L2} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9 y una CDR_{L3} que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10.

20 Los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO:36 (**Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S**); y la SEQ ID NO:38 (**Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S**); y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina. Como una conveniencia para el lector, ciertas SEQ ID
25 NO van seguidas por un paréntesis que incluye la designación del anticuerpo que fue el origen de la secuencia. Por ejemplo, "SEQ ID NO:2 (**4F11, Ch4F11 quimérica**)" significa que la SEQ ID NO:2 proviene del anticuerpo murino 4F11. La SEQ ID NO:2 también se encuentra en la secuencia de 4F11 quimérica.

30 En otras realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO:46 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28H**); la SEQ ID NO:48 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28Q**); y la SEQ ID NO:50 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28Y**); y una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina.

35 En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO:36 (**Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S**); y la SEQ ID NO:38 (**Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S**); y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO:46 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28H**); SEQ ID NO:48 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28Q**); y SEQ ID NO:50 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28Y**).

40 Como se describe en el presente documento, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2 (**4F11, Ch4F11 quimérica**) y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4 (**4F11, Ch4F11 quimérica**).

45 Como se describe en el presente documento, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2 (**4F11, Ch4F11 quimérica**) y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:44 (**Hu4F11 Kv2D-29**).

50 Como se describe en el presente documento, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:34 (**Sh4F11 Hv3-23**), y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4 (**4F11, Ch4F11 quimérica**).

55 Como se describe en el presente documento, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:34 (**Sh4F11 Hv3-23**) y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:44 (**Hu4F11 Kv2D-29**).

60 En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:36 (**Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S**) y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:46 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28H**).

65 En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:38 (**Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S**) y una región variable de

la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:46 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28H**).

5 Como se describe en el presente documento, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:40 (**Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S**), y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:46 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28H**).

10 Como se describe en el presente documento, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:42 (**Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S**), y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:46 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28H**).

15 En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:36 (**Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S**), y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:48 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28Q**).

20 En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:38 (**Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S**) y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:48 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28Q**).

25 Como se describe en el presente documento, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:40 (**Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S**) y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:48 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28Q**).

30 Como se describe en el presente documento, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:42 (**Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S**), y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:48 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28Q**).

35 En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:36 (**Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S**), y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 50 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28Y**).

40 En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:38 (**Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S**) y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:50 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28Y**).

45 Como se describe en el presente documento, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:40 (**Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S**) y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:50 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28Y**).

50 Como se describe en el presente documento, el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:42 (**Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S**) y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:50 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28Y**).

55 En determinadas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una cadena pesada de inmunoglobulina y una cadena ligera de inmunoglobulina. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada de inmunoglobulina seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO:78 (**Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S**); y la SEQ ID NO:80 (**Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S**); y una cadena ligera de inmunoglobulina.

60 En otras realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena ligera de inmunoglobulina seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO:90 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28H Kappa**); SEQ ID NO:92 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28Q Kappa**); y SEQ ID NO:94 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28Y Kappa**); y una cadena pesada de inmunoglobulina.

65 En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada de inmunoglobulina seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO:78 (**Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S**) y; la SEQ ID NO:80 (**Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S**); y una cadena ligera de inmunoglobulina seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO:90 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28H Kappa**); SEQ ID NO:92 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28Q Kappa**); y la SEQ ID NO:94 (**Hu4F11 Kv2D-29**

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 80 (**Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S**) y una cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28Y Kappa**).

5 Como se describe en el presente documento, el anticuerpo comprende una cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 82 (**Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S**) y una cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28Y Kappa**).

10 Como se describe en el presente documento, el anticuerpo comprende una cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 84 (**Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S**) y una cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28Y Kappa**).

15 Como se describe en el presente documento; un anticuerpo aislado que se une a Notch3 humana comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 70 %, un 75 %, un 80 %, un 85 %, un 90 %, un 95 %, un 98 % o un 99 % idéntica a la región variable completa o la secuencia FR de la SEQ ID NO:2 (**4F11, Ch4F11 quimérica**); la SEQ ID NO:34 (**Sh4F11 Hv3-23**); la SEQ ID NO:36 (**Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S**); la SEQ ID NO:38 (**Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S**); la SEQ ID NO:40 (**Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S**); o la SEQ ID NO:42 (**Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S**).

20 Como se describe en el presente documento, un anticuerpo aislado que se une a Notch3 humana comprende una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 70 %, un 75 %, un 80 %, un 85 %, un 90 %, un 95 %, un 98 % o un 99 % idéntica a la región variable completa o la secuencia FR de la SEQ ID NO:4 (**4F11, Ch4F11 quimérica**); la SEQ ID NO:44 (**Hu4F11 Kv2D-29**); la SEQ ID NO:46 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28H**); la SEQ ID NO:48 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28Q**); o la SEQ ID NO:50 (**Hu4F11 Kv2D-29 N28Y**).

30 La identidad de secuencias se puede determinar de varias maneras que están en la experiencia de un experto en la materia, por ejemplo, usando programas informáticos disponibles de manera pública, tales como los programas BLAST, BLAST-2, ALIGN o Megalign (DNASTAR). El análisis de BLAST (Herramienta de búsqueda básica de alineamiento local) utilizando el algoritmo empleado por los programas blastp, blastn, blastx, tblastn y tblastx (Karlin et al., (1990) PROC. NATL. ACAD. SCI. USA 87: 2264-2268; Altschul, (1993) J. MOL. EVOL. 36: 290-300; Altschul et al., (1997) NUCLEIC ACIDS RES. 25: 3389-3402 están diseñados para búsquedas de similitud de secuencias. Para un debate de los problemas básicos en la búsqueda de bases de datos de secuencias, véase Altschul et al., (1994) NATURE GENETICS 6: 119-129. Los expertos en la materia pueden determinar los parámetros adecuados para medir el alineamiento, incluyendo cualquier algoritmo necesario para conseguir un alineamiento máximo a lo largo de la longitud completa de las secuencias que se comparan. Los parámetros de búsqueda para histogramas, descripciones, alineamientos, suposición (es decir, el umbral de significación estadística para informar coincidencias contra las secuencias de la bases de datos), corte, matriz y filtración se encuentran en la configuración predeterminada. La matriz de puntuación predeterminada utilizada por blastp, blastx, tblastn y tblastx es la matriz BLOSUM62 (Henikoff et al., (1992) PROC. NATL. ACAD. SCI. USA 89: 10915-10919. Los siguientes parámetros de Blastn pueden ajustarse de la siguiente manera: Q=10 (penalización de creación de hueco); R=10 (penalización de extensión de hueco); wink=1 (genera aciertos de palabra en cada posición de wink a lo largo de la consulta); y gapw=16 (establece el ancho de la ventana dentro del cual se generan los alineamientos con huecos). Los ajustes de los parámetros de Blastp equivalentes pueden ser Q=9; R=2; wink= 1 y gapw=32. También se pueden realizar búsquedas utilizando el parámetro de Opción Avanzada BLAST del NCBI (Centro Nacional de Información Biotecnológica) (por ejemplo: -G, Coste para abrir el hueco [Integer]: predeterminado = 5 para nucleótidos / 11 para proteínas; -E, Coste para extender la brecha [Integer]: predeterminado = 2 para nucleótidos/ 1 para proteínas; -q, Penalización por desajuste de nucleótidos [Integer]: predeterminado = -3; -r, recompensa para la concordancia de nucleótidos [Integer]: predeterminado = 1; -e, valor esperado [Real]: predeterminado = 10; -W, tamaño de letra [Integer]: predeterminado = 11 para nucleótidos/ 28 para megablasto/ 3 para proteínas; -y, Dropoff (X) para extensiones de blastos en bits: predeterminado = 20 para blastn/ 7 para otros; -X, valor de caída X para el alineamiento con huecos (en bits): predeterminado = 15 para todos los programas, no aplicable a blastn; y -Z, el valor final de caída X para el alineamiento con huecos (en bits): 50 para blastn, 25 para otros). También se puede usar ClustalW para alineamientos de proteínas por pares (los parámetros predeterminados pueden incluir, *por ejemplo*, matriz Blosum62 y penalización de apertura de hueco = 10 y penalización de extensión de hueco = 0,1). Una comparación de Bestfit entre secuencias, disponible en el paquete GCG versión 10.0, utiliza los parámetros de ADN GAP = 50 (penalización de creación de hueco) y LEN = 3 (penalización de extensión de hueco) y los ajustes equivalentes en las comparaciones de proteínas son GAP=8 y LEN=2.

65 Las secuencias de la región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina y/o las secuencias de la región variable de la cadena ligera que se unen a Notch3 humana pueden contener alteraciones de aminoácidos (por ejemplo, al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 10 sustituciones, deleciones o adiciones de aminoácidos) en las regiones estructurales de las regiones variables de la cadena pesada y/o ligera.

En determinadas realizaciones, un anticuerpo aislado se une a Notch3 humana con una K_D de unos 35 nM, 25 nM, 15 nM, 10 nM, 5 nM, 1 nM, 900 pM, 850 pM, 800 pM, 750 pM, 700 pM, 650 pM, 600 pM, 500 pM, 400 pM, 300 pM, 250 pM, 200 pM o menos. A menos que se especifique de otro modo, los valores K_D se determinan mediante métodos de resonancia de plasmón superficial en las condiciones descritas en los Ejemplos 3 y 9.

5 Los anticuerpos monoclonales pueden unirse al mismo epítipo en Notch3 humana que el anticuerpo 4F11. Los anticuerpos monoclonales pueden competir por la unión a Notch3 humana con el anticuerpo 4F11. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales pueden competir por la unión al dominio extracelular (ECD) de Notch3 con el anticuerpo 4F11 (la secuencia de aminoácidos correspondiente al ECD de Notch3 humana se muestra en la **Figura 2**). En otro ejemplo, los anticuerpos monoclonales pueden competir por la unión a las repeticiones 1-11 de tipo EGF de Notch3 humana con el anticuerpo 4F11 (la secuencia de aminoácidos correspondiente a las repeticiones 1-11 de tipo EGF de Notch3 humana se muestra en la **Figura 3**).

15 Los ensayos de competencia para determinar si un anticuerpo se une al mismo epítipo que, o compite por la unión con, el anticuerpo 4F11 son conocidos en la técnica. Los ensayos de competencia ejemplares incluyen inmunoensayos (por ejemplo, ensayos ELISA, ensayos RIA), análisis BIAcore, interferometría de biocapa y citometría de flujo.

20 Típicamente, un ensayo de competencia implica el uso de un antígeno (por ejemplo, una proteína Notch3 humana o un fragmento de la misma) unido a una superficie sólida o expresado en una superficie celular, un anticuerpo anti-Notch3 de ensayo y un anticuerpo de referencia (es decir, el anticuerpo 4F11). El anticuerpo de referencia está marcado y el anticuerpo de prueba no está marcado. La inhibición competitiva se mide determinando la cantidad de anticuerpo de referencia marcado unido a la superficie sólida o a las células en presencia del anticuerpo de prueba. Por lo general, el anticuerpo de prueba está presente en exceso (por ejemplo, 1x, 5x, 10x, 20x o 100x). Los anticuerpos identificados por ensayo de competencia (es decir, anticuerpos competidores) incluyen anticuerpos que se unen al mismo epítipo, o epítopos similares (por ejemplo, superpuestos), como el anticuerpo de referencia, y los anticuerpos que se unen a un epítipo adyacente suficientemente proximal al epítipo unido por el anticuerpo de referencia para que ocurra una impedancia estérica.

30 En un ensayo de competencia ejemplar, un anticuerpo anti-Notch3 de referencia (es decir, el anticuerpo 4F11) se biotinila utilizando reactivos disponibles en el mercado. El anticuerpo de referencia biotinilado se mezcla con diluciones en serie del anticuerpo de prueba o el anticuerpo de referencia no marcado (control de autocompetencia), lo que da como resultado una mezcla de varias relaciones molares (por ejemplo, 1x, 5x, 10x, 20x o 100x) del anticuerpo de prueba (o anticuerpo de referencia sin marcar) al anticuerpo de referencia marcado. La mezcla de anticuerpos se agrega a una placa ELISA recubierta con el polipéptido Notch3 humano (por ejemplo, dominio extracelular de Notch3 humano). A continuación, se lava la placa y se agrega a la placa peroxidasa de rábano picante (HRP)-estreptavidina como reactivo de detección. La cantidad de anticuerpo de referencia marcado unido al antígeno diana se detecta después de la adición de un sustrato cromogénico (por ejemplo, TMB (3,3', 5,5'-tetrametilbencidina) o ABTS (2,2"-azino-di-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato)), que se conocen en la técnica. Las lecturas de densidad óptica (unidades de DO) se miden utilizando un espectrómetro M2 SpectraMax® (Molecular Devices). Las unidades de DO correspondientes al cero por ciento de inhibición se determinan desde los pocillos sin ningún anticuerpo de competencia. Las unidades de DO correspondientes al 100 % de inhibición, es decir, los antecedentes del ensayo se determinan a partir de pocillos sin ningún anticuerpo de referencia o anticuerpo de prueba marcado. El porcentaje de inhibición del anticuerpo de referencia marcado para Notch3 por el anticuerpo de prueba (o el anticuerpo de referencia no marcado) en cada concentración se calcula de la siguiente manera: % de inhibición = $[1 - (DO_{\text{muestra}} - DO_{100\% \text{ inhib.}}) / (DO_{0\% \text{ Inhib.}} - DO_{100\% \text{ inhib.}})] * 100$. Los expertos en la materia apreciarán que el ensayo de competencia se puede realizar utilizando diversos sistemas de detección conocidos en la técnica.

50 Se puede realizar un ensayo de competencia en ambas direcciones para asegurar que la presencia de la etiqueta no interfiera o inhiba de otra manera la unión. Por ejemplo, en la primera dirección, el anticuerpo de referencia está marcado y el anticuerpo de prueba no está marcado, y en la segunda dirección, el anticuerpo de prueba está marcado y el anticuerpo de referencia no está marcado.

55 Un anticuerpo de prueba compite con el anticuerpo de referencia para la unión específica al antígeno si un exceso de un anticuerpo (por ejemplo, 1x, 5x, 10x, 20x o 100x) inhibe la unión del otro anticuerpo, por ejemplo, en al menos un 50 %, un 75 %, un 90 %, un 95 % o un 99 % según se mide en un ensayo de unión competitiva.

60 Se considera que dos anticuerpos se unen al mismo epítipo si esencialmente todas las mutaciones de aminoácido en el antígeno que reducen o eliminan la unión de un anticuerpo reducen o eliminan la unión del otro. Se puede determinar que dos anticuerpos se unen a epítopos solapantes si únicamente un subconjunto de las mutaciones de aminoácidos que reducen o eliminan la unión de un anticuerpo reducen o eliminan la unión del otro.

II. Producción de anticuerpos

65 Los métodos para producir anticuerpos de la invención son conocidos en la técnica. Por ejemplo, las moléculas de ADN que codifican las regiones variables de la cadena ligera y/o las regiones variables de la cadena pesada pueden

5 sintetizarse químicamente utilizando la información de secuencias que se proporciona en este documento. Las moléculas de ADN sintético pueden ligarse a otras secuencias de nucleótidos apropiadas, incluyendo, por ejemplo, las secuencias de codificación de región constante, y las secuencias de control de expresión, para producir construcciones de expresión génica convencionales que codifican el anticuerpo deseado. La producción de constructos génicos definidos está dentro de la experiencia habitual en la materia. Como alternativa, las secuencias proporcionadas en el presente documento pueden clonarse a partir de hibridomas mediante técnicas de hibridación convencionales o técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), utilizando sondas sintéticas de ácidos nucleicos cuyas secuencias se basan en la información de secuencias proporcionada en el presente documento, o información de secuencias de la técnica anterior con respecto a los genes que codifican las cadenas pesadas y ligeras de los anticuerpos murinos en las células de hibridoma.

15 Los ácidos nucleicos que codifican los anticuerpos deseados pueden incorporarse (ligarse) en vectores de expresión, que pueden introducirse en células hospedadoras mediante técnicas de transfección o transformación convencionales. Las células hospedadoras ejemplares son células de *E. coli*, células de ovario de hámster chino (CHO), células HeLa, células de riñón de cría de hámster (BHK), células de riñón de ovario (COS), células de carcinoma hepatocelular humano (por ejemplo, Hep G2) y células de mieloma que de lo contrario no producen proteína IgG. Las células hospedadoras transformadas se pueden cultivar en condiciones que permitan a las células hospedadoras expresar los genes que codifican las regiones variables de la cadena ligera y/o pesada de la inmunoglobulina.

20 Las condiciones específicas de expresión y purificación variarán dependiendo del sistema de expresión empleado. Por ejemplo, si un gen ha de expresarse en *E. coli*, primero se clona en un vector de expresión posicionando el gen diseñado por ingeniería a partir de un promotor bacteriano adecuado, *por ejemplo*, Trp o Tac, y una secuencia señal procariota. La proteína secretada expresada se acumula en cuerpos refractiles o de inclusión, y puede ser recogida después de la ruptura de las células por medio de una prensa francesa o sonicación. Los cuerpos refráctiles se solubilizan, y las proteínas se repliegan y escinden por métodos conocidos en la técnica.

30 Si el gen creado por ingeniería se expresa en células hospedadoras eucariotas, *por ejemplo*, células CHO, primero se inserta en un vector de expresión que contiene un promotor eucariótico adecuado, una señal de secreción, una secuencia poli A y un codón de parada, y, opcionalmente, puede contener potenciadores y varios intrones. Este vector de expresión contiene opcionalmente secuencias que codifican toda o parte de una región constante, permitiendo que toda, o una parte de, una cadena pesada o ligera se exprese. La construcción génica puede introducirse en células hospedadoras eucariotas usando técnicas convencionales. Las células hospedadoras expresan fragmentos V_L o V_H, heterodímeros V_L-V_H, polipéptidos monocatenarios V_H-V_L o V_L-V_H, cadenas de inmunoglobulina pesadas o ligeras completas, o partes de las mismas, cada uno de los cuales puede estar unido a un resto que tiene otra función (por ejemplo, citotoxicidad). En algunas realizaciones, una célula hospedadora se transfecta con un solo vector que expresa un polipéptido que expresa toda, o parte de, una cadena pesada (por ejemplo, una región variable de la cadena pesada) o una cadena ligera (por ejemplo, una región variable de la cadena ligera). En otras realizaciones, una célula hospedadora se transfecta con un único vector que codifica (a) un polipéptido que comprende una región variable de la cadena pesada y un polipéptido que comprende una región variable de la cadena ligera, o (b) una cadena pesada de inmunoglobulina completa y una cadena ligera de inmunoglobulina completa. En otras realizaciones más, una célula hospedadora se cotransfecta con más de un vector de expresión (por ejemplo, un vector de expresión que codifica un polipéptido que comprende toda, o parte de, una cadena pesada o región variable de la cadena pesada, y otro vector de expresión que codifica un polipéptido que comprende toda, o parte de, una cadena ligera o una región variable de la cadena ligera).

50 Un polipéptido que comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina o región variable de la cadena ligera puede producirse cultivando una célula hospedadora transfectada con un vector de expresión que codifica dicha región variable, en condiciones que permitan la expresión del polipéptido. Después de la expresión, el polipéptido se puede recoger y purificar o aislar usando técnicas conocidas en la materia, por ejemplo, etiquetas de afinidad como las etiquetas de glutatión-S-transferasa (GST) y de histidina.

55 Un anticuerpo monoclonal que se une a Notch3 humana, o un fragmento de unión al antígeno del anticuerpo, se puede producir cultivando una célula hospedadora transfectada con: (a) un vector de expresión que codifica una cadena pesada de inmunoglobulina completa o parcial, y un vector de expresión separado que codifica una cadena ligera de inmunoglobulina completa o parcial; o (b) un solo vector de expresión que codifica ambas cadenas (por ejemplo, cadenas pesadas y ligeras completas o parciales), en condiciones que permitan la expresión de ambas cadenas. El anticuerpo intacto (o el fragmento de unión al antígeno del anticuerpo) puede recogerse y purificarse o aislarse usando técnicas conocidas en la técnica, por ejemplo, Proteína A, Proteína G, etiquetas de afinidad como las etiquetas de glutatión-S-transferasa (GST) y de histidina. Un experto en la materia expresará la cadena pesada y la cadena ligera de un solo vector de expresión o de dos vectores de expresión separados.

III. Modificaciones de anticuerpos

65 Los métodos para reducir o eliminar la antigenicidad de los anticuerpos y fragmentos de anticuerpos son conocidos en la técnica. Cuando se administran a un ser humano, los anticuerpos descritos preferiblemente están

"humanizados" para reducir o eliminar la antigenicidad en seres humanos. Preferentemente, los anticuerpos humanizados tienen la misma, o sustancialmente la misma, afinidad por el antígeno que el anticuerpo de ratón no humanizado del que se derivó.

5 En un enfoque de humanización, se crean proteínas quiméricas en las que las regiones constantes de inmunoglobulina de ratón se reemplazan con regiones constantes de inmunoglobulina humana. Véase, *por ejemplo*, Morrison et al., 1984, PROC. NAT. ACAD. SCI. 81:6851-6855, Neuberger et al., 1984, NATURE 312:604-608; las patentes de los EE.UU. n.º 6.893.625 (Robinson); 5.500.362 (Robinson); y 4.816.567 (Cabilly).

10 En un enfoque conocido como injerto de CDR, las CDR de las regiones variables de las cadenas ligeras y pesadas se injertan en las regiones estructurales de otras especies. Por ejemplo, Las CDR murinas se pueden injertar en las FR humanas. En algunas realizaciones de la invención, las CDR de las regiones variables de la cadena ligera y pesada de un anticuerpo anti-Notch3 se injertan en las FR humanas o las FR humanas de consenso. Para crear FR humanas de consenso, las FR de varias secuencias de aminoácidos de cadena pesada o ligera humana se alinean para identificar una secuencia de aminoácidos de consenso. El injerto de CDR se describe en las patentes de los EE.UU. n.º 7.022.500 (Queen); 6.982.321 (Winter); 6.180.370 (Queen); 6.054.297 (Carter); 5.693.762 (Queen); 5.859.205 (Adair); 5.693.761 (Queen); 5.565.332 (Hoogenboom); 5.585.089 (Queen); 5.530.101 (Queen); Jones et al. (1986) NATURE 321: 522-525; Riechmann et al. (1988) NATURE 332: 323-327; Verhoeven et al. (1988) SCIENCE 239: 1534-1536; y Winter (1998) FEBS LETT 430: 92-94.

20 En un enfoque llamado "SUPERHUMANIZATION™" las secuencias de CDR humanas se eligen de genes de la línea germinal humana, basándose en la similitud estructural de las CDR humanas con las del anticuerpo de ratón que se debe humanizar. Véase, *por ejemplo*, la patente de los EE.UU. n.º 6.881.557 (Foote); y Tan et al., 2002, J. IMMUNOL 169: 1119-1125.

25 Otros métodos para reducir la inmunogenicidad incluyen la "reconformación" "hiperquimerización" y "rechapado/rebarnizado". Véase, *por ejemplo*, Vaswami et al., 1998, ANNALS OF ALLERGY, ASTHMA, & IMMUNOL. 81:105; Roguska et al., 1996, PROT. ENGINEER 9:895-904; y la patente de los EE. UU. n.º 6.072.035 (Hardman). En el enfoque de rechapado/rebarnizado, los restos de aminoácidos accesibles en la superficie en el anticuerpo murino se reemplazan por los restos de aminoácidos que se encuentran con mayor frecuencia en las mismas posiciones en un anticuerpo humano. Este tipo de rebarnizado de anticuerpos se describe, *por ejemplo*, en la patente de los EE. UU. n.º 5.639.641 (Pedersen).

35 Otro enfoque para convertir un anticuerpo de ratón en una forma adecuada para uso médico en seres humanos se conoce como tecnología ACTIVMAB™ (Vaccinex, Inc., Rochester, Nueva York), que involucra un vector basado en el virus vaccinia para expresar anticuerpos en células de mamíferos. Se dice que se producen altos niveles de diversidad combinatoria de cadenas pesadas y ligeras de IgG. Véase, *por ejemplo*, las patentes de los EE.UU. n.º 6.706.477 (Zauderer); 6.800.442 (Zauderer); y 6.872.518 (Zauderer).

40 Otro enfoque para convertir un anticuerpo de ratón en una forma adecuada para uso en seres humanos es la tecnología practicada comercialmente por KaloBios Pharmaceuticals, Inc. (Palo Alto, CA). Esta tecnología implica el uso de una biblioteca "acceptora" humana patentada para producir una biblioteca "enfocada en epítipo" para la selección de anticuerpos.

45 Otro enfoque para modificar un anticuerpo de ratón en una forma adecuada para uso médico en seres humanos es la tecnología HUMAN ENGINEERING™, que se practica comercialmente por XOMA (US) LLC. Véase, *por ejemplo*, la publicación de PCT n.º WO 93/11794 y las patentes de los EE.UU. n.º 5.766.886 (Studnicka); 5.770.196 (Studnicka); 5.821.123 (Studnicka); y 5.869.619 (Studnicka).

50 Cualquier enfoque adecuado, incluyendo cualquiera de los enfoques anteriores, se puede usar para reducir o eliminar la inmunogenicidad humana de un anticuerpo de la invención.

55 El anticuerpo puede conjugarse con un resto efector tal como una toxina de molécula pequeña o un radionúclido usando las químicas de conjugación *in vitro* estándar. Si el resto efector es un polipéptido, El anticuerpo puede conjugarse químicamente al efector o unirse al efector como una proteína de fusión. La construcción de proteínas de fusión está dentro de la experiencia habitual en la materia.

IV. Uso de anticuerpos

60 Los anticuerpos descritos en el presente documento pueden diseñarse (*por ejemplo*, humanizarse) para su administración a seres humanos. Los anticuerpos descritos en el presente documento se pueden usar para tratar diversas formas de cáncer, *por ejemplo*, cánceres de mama, de ovario, de próstata, cervical, colorrectal, de pulmón, pancreático, gástrico, de cabeza y de cuello. Las células cancerosas se exponen a una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo para inhibir o reducir la proliferación de las células cancerosas. En algunas realizaciones, los anticuerpos inhiben la proliferación de células cancerosas en al menos un 40 %, un 50 %, un 60 %, un 70 %, un 80 %, un 90 %, un 95 %, un 98 %, un 99 % o un 100 %.

En algunas realizaciones, los anticuerpos divulgados pueden inhibir o reducir la proliferación de una célula tumoral mediante la inhibición de la unión de Notch3 humana a un ligando, por ejemplo, Jag1, Jag2, DLL1 y DLL4. Los anticuerpos descritos se pueden usar para inhibir el crecimiento tumoral en un paciente humano. El uso comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo.

5 Los cánceres asociados con la sobreexpresión y/o activación de Notch3 incluyen, pero sin limitación, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer cervical, cáncer de pulmón, cáncer cerebral (por ejemplo, glioblastoma, astrocitoma, neuroblastoma), melanomas, cánceres gastrointestinales (por ejemplo, colorrectal, pancreático y gástrico), cáncer de cabeza y cuello, sarcomas (por ejemplo, rhabdomiocarcinoma, osteosarcoma) y
10 cánceres de células hematopoyéticas, (por ejemplo, mieloma múltiple, leucemia, por ejemplo, leucemia linfoblástica aguda de precursores T (T-ALL), leucemia linfoblástica aguda de precursores B (B-ALL) y la leucemia linfoblástica crónica de linfocitos B (B-CLL).

15 Tal como se utiliza en el presente documento, "tratar", "tratando" y "tratamiento" significan el tratamiento de una enfermedad en un mamífero, *por ejemplo*, en un ser humano. Esto incluye: (a) inhibir la enfermedad, es decir, detener su desarrollo; y (b) aliviar la enfermedad, es decir, provocar la regresión de la patología.

20 Generalmente, una cantidad terapéuticamente eficaz de componente activo está en el intervalo de 0,1 mg/kg a 100 mg/kg, por ejemplo, 1 mg/kg a 100 mg/kg, 1 mg/kg a 10 mg/kg. La cantidad administrada dependerá de variables como el tipo y la extensión de la enfermedad o la indicación a tratar, la salud general del paciente, la potencia *in vivo* del anticuerpo. La formulación farmacéutica y la vía de administración. La dosis inicial se puede aumentar más allá del nivel superior para alcanzar rápidamente el nivel de sangre o tejido deseado. Como alternativa, la dosis inicial puede ser más pequeña que la óptima, y la dosis diaria puede incrementarse progresivamente durante el curso del tratamiento. La dosificación humana puede ser optimizada, por ejemplo, en un estudio de aumento escalonado de la
25 dosis de Fase I diseñado para una prueba de 0,5 mg/kg a 20 mg/kg. La frecuencia de dosificación puede variar, dependiendo de factores como la vía de administración, la cantidad de dosis, la vida media sérica del anticuerpo y la enfermedad a tratar. Las frecuencias de dosificación de ejemplo son una vez por día, una vez por semana y una vez cada dos semanas. Una vía de administración preferida es parenteral, por ejemplo, infusión intravenosa. La formulación de fármacos basados en anticuerpos monoclonales está dentro de la experiencia habitual en la materia.
30 En algunas realizaciones, un anticuerpo monoclonal se liofiliza, y luego se reconstituye en solución salina tamponada, en el momento de la administración.

35 Para uso terapéutico, un anticuerpo preferiblemente se combina con un portador farmacéuticamente aceptable. Tal como se utiliza en el presente documento, "portador farmacéuticamente aceptable" significa tampones, portadores y excipientes adecuados para usar en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable. El vehículo o vehículos debe(n) ser "aceptable(s)" en el sentido de ser compatible(s) con los ingredientes de la formulación y no ser perjudicial(es) para el receptor de los mismos. Los portadores farmacéuticamente aceptables
40 incluyen tampones, disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes retardantes de la absorción e isotónicos, y similares, que son compatibles con la administración farmacéutica. El uso de dichos medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es conocido en la técnica.

45 Las composiciones farmacéuticas que contienen anticuerpos descritos en el presente documento pueden presentarse en una forma de dosificación unitaria y pueden prepararse mediante cualquier método adecuado. Una composición farmacéutica se formula típicamente para que sea compatible con su vía de administración prevista. Ejemplos de vías de administración son la administración por vía intravenosa (IV), intradérmica, por inhalación, transdérmica, tópica, transmucosa y rectal. Una vía de administración preferida para anticuerpos monoclonales es la infusión IV. Las formulaciones útiles se pueden preparar por métodos conocidos en la técnica farmacéutica. Por ejemplo, véase Remington's Pharmaceutical Sciences, 18^a ed. (Mack Publishing Company, 1990). Los componentes
50 de formulación adecuados para la administración parenteral incluyen un diluyente estéril, como agua para inyección, solución salina, aceites no volátiles, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes sintéticos; agentes antibacterianos, tales como alcohol bencílico o metil parabenos; antioxidantes, tales como ácido ascórbico o bisulfito sódico; agentes quelantes tales como EDTA; tampones, tales como acetatos, citratos o fosfatos; y agentes para el ajuste de la tonicidad, tales como cloruro de sodio o dextrosa.

55 Para la administración intravenosa, los vehículos adecuados incluyen suero salino fisiológico, agua bacteriostática, Cremophor ELTM (BASF, Parsippany, NJ) o suero salino tamponado con fosfato (PBS). El vehículo debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento, y debe conservarse contra los microorganismos. El vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido), y mezclas adecuadas de los mismos.
60

Las formulaciones farmacéuticas son preferiblemente estériles. La esterilización se puede realizar por cualquier método adecuado, por ejemplo, filtración a través de membranas de filtración estériles. Cuando la composición está liofilizada, la esterilización por filtración puede realizarse antes o después de la liofilización y la reconstitución.

65

Ejemplos

Los siguientes ejemplos son meramente ilustrativos y no pretenden limitar el alcance o el contenido de la invención de ninguna manera.

Ejemplo 1: Producción de anticuerpos monoclonales anti-hNotch3

5 Las inmunizaciones, las fusiones y las pantallas primarias se realizaron utilizando métodos convencionales siguiendo el protocolo de sitios múltiples de inmunización repetitiva (RIMMS). Cinco ratones AJ y cinco ratones Balb/c se inmunizaron con una proteína que contenía los aminoácidos 1-428 de Notch3 humana fusionados a la porción Fc de la IgG humana. Además, se inmunizaron cinco ratones AJ y cinco Balb/c con una proteína concatémica que
10 contiene dos repeticiones de la región de Notch3 que comprende los dominios 9-12 de tipo EGF. De cada estrategia de inmunización, se seleccionaron dos ratones AJ y 2 ratones Balb/c que tenían sueros que mostraban una alta unión al inmunógeno mediante un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) para la fusión posterior. Se recogieron los bazos y los ganglios linfáticos de los ratones seleccionados. Las células B se recogieron y fusionaron con una línea de mieloma. Los productos de fusión de los ratones AJ y ratones Balb/c se diluyeron en serie en cuarenta placas de 96 pocillos hasta casi la clonalidad. Se seleccionaron un total de 5.280 sobrenadantes de las fusiones celulares para determinar su unión a Notch3 humana en la superficie de las células CHO, utilizando un ensayo de electroquimioluminiscencia de mesoescala (MSD). En total, se identificaron cuatrocientos veinte sobrenadantes que se unieron a Notch3 humana en este ensayo a partir de las fusiones AJ y Balb/c. Estos productos de fusión se caracterizaron además por ensayos bioquímicos y celulares *in vitro*, como se analiza a
20 continuación. Se seleccionó un panel de hibridomas, los hibridomas se subclonaron y los hibridomas monoclonales se expandieron. Los anticuerpos se expresaron a partir de las líneas celulares del hibridoma y se purificaron mediante cromatografía de afinidad en resina de Proteína G en condiciones estándar.

Ejemplo 2: Análisis de secuencias de anticuerpos monoclonales anti-Notch3

25 El isotipo de cadena ligera y el isotipo de cadena pesada del anticuerpo monoclonal, 4F11, en el Ejemplo 1 se determinó usando el kit de isotipado de anticuerpos monoclonales de ratón IsoStrip™ de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Roche Applied Science, Indianápolis, IN). Se determinó que el anticuerpo era una cadena ligera kappa y una cadena pesada de IgG 1.

30 Las regiones variables de la cadena pesada y ligera del anticuerpo monoclonal de ratón se secuenciaron utilizando RACE (Amplificación rápida de extremos de ADNc) en 5'. El ARN total se extrajo de la línea celular de hibridoma usando el kit RNeasy Miniprep según las instrucciones del vendedor (Qiagen, Valencia, CA). El ADNc de primera hebra de longitud completa que contiene extremos 5' se generó usando el kit de amplificación de ADNc SMARTer™ RACE (Clontech, Mountain View, CA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante utilizando cebadores aleatorios para RACE en 5'.

35 Las regiones variables de las cadenas ligera (kappa) y pesada (IgG1) se amplificaron por PCR, utilizando KOD Hot Start Polymerase (EMD Chemicals, Gibbstown, NJ) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Para la amplificación de los extremos del ADNc en 5' junto con el kit de amplificación de ADNc SMARTer™ RACE, el cebador Universal Primer Mix A (Clontech), una mezcla de
40 5'CTAATACGACTCACTATAGGGCAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGT 3' (SEQ ID NO: 13) y 5'CTAATACGACTCACTATAGGGC 3' (SEQ ID NO: 17), se usó como cebador 5'. La región variable de la cadena pesada se amplificó utilizando los cebadores 5' anteriores y un cebador específico de la región constante de IgG1 3',
45 5' TATGCAAGGCTTACAACCACA 3' (SEQ ID NO: 18). La región variable de la cadena kappa se amplificó con los cebadores 5' anteriores y un cebador específico de la región constante kappa 3', 5'CGACTGAGGCACCTCCAGATGTT 3' (SEQ ID NO: 19).

50 Los productos de la PCR individuales se aislaron mediante electroforesis en gel de agarosa y se purificaron utilizando el kit Qiaquick Gel Purification de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Qiagen). Los productos de la PCR se clonaron posteriormente en el pCR®4Blunt utilizando el kit Zero Blunt® TOPO® PCR Cloning de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Invitrogen) y se transformaron en bacterias DH5-α (Invitrogen) mediante técnicas estándar de biología molecular. El ADN plasmídico aislado de clones bacterianos transformados se secuenció utilizando los cebadores M13 Directo (5' GTAAAACGACGGCCAGT 3') (SEQ ID NO: 21) y M13 Inverso (5' CAGGAAACAGCTATGACC 3') (SEQ ID NO: 30) de Beckman Genomics (Danvers, MA), utilizando métodos de secuenciación de ADN didesoxi estándar para identificar la secuencia de las secuencias de la región variable. Las secuencias se analizaron utilizando el software Vector NTI (Invitrogen) y el servidor web IMG/V-Quest (<http://imgt.cines.fr>) para identificar y confirmar las secuencias de las regiones variables.

60 A continuación, se resumen las secuencias de ácidos nucleicos que codifican y las secuencias de proteínas que definen las regiones variables de los anticuerpos monoclonales murinos (no se muestran las secuencias de péptidos señal amino terminales). Las secuencias de CDR (definición de Kabat) se muestran en negrita y están subrayadas en las secuencias de aminoácidos.

65 Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 4F11 (SEQ ID NO: 1)

ES 2 737 649 T3

```

1 gaagtgcagc tggaggagtc tgggggaggc ttagtgaagc ctggagggtc cctgaaactc
61 tcctgtgcag cctctggatt cgctttcagt agctatgaca tgtcttgggt tcgccagact
121 ccggagaaga ggctggagtg ggtcgcatac attagtcgtg gtggtgtag cacctactat
181 ccagacactg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa caccctgtac
241 ctgcaaatga gcagtctgaa gtctgaggac acagccatgt attactgtgg aagacatgct
301 actacggcct actggtactt cgatgtctgg ggcgcagga ccacggtcac cgtctctca
    
```

Secuencia de proteínas que define la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 4F11 (SEQ ID NO: 2)

5

```

1 evqlvesggg lvpkpgslkl scaasgfafs sydmswvrqt pekrlewvay isrgggstyy
61 pdtvkgrfti srdnakntly lqmsslksed tamyycgrha ttaywyfdvw gaggttvtvss
    
```

Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la región variable de la cadena Kappa del anticuerpo 4F11 (SEQ ID NO: 3)

10

```

1 gatgtttgta tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc
61 atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacactaatg gcaacaccta tttacattgg
121 tacctgcaga agccaggcca gtctccaaaa ctctgatct acaaagtttc caaccgattt
181 tctggggtcc cagacagggt cagtggcagt ggatcagga cagatttcac actcaagatc
241 agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg
301 tggacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaaa
    
```

Secuencia de proteínas que define la región variable de la cadena Kappa del anticuerpo 4F11 (SEQ ID NO: 4)

```

1 dvvmtqtpls lpvslgdqas iscrssqslv htngntylhw ylqkpgqspk lliykvsnrf
61 sgvpdrfsgs gsgtdftlki srveaedlgv yfcssqsthvp wtfgggtkle ik
    
```

```

1 dvvmtqtpls lpvslgdqas iscrssqslv htngntylhw ylqkpgqspk lliykvsnrf 61 sgvpdrfsgs gsgtdftlki srveaedlgv yfcssqsth-
vp wtfgggtkle ik
    
```

15

La **Tabla 1** es un gráfico de concordancia que muestra la SEQ ID NO. de cada secuencia descrita en este Ejemplo.

Tabla 1

SEQ. ID NO.	Ácido nucleico o proteína
1	Región Variable de Cadena Pesada de 4F11-ácido nucleico
2	Región variable de la cadena pesada de 4F11-proteína
3	Región variable de cadena (kappa) ligera de 4F11-ácido nucleico
4	Región variable de cadena (kappa) ligera de 4F11-proteína
5	CDR ₁ de cadena pesada de 4F11
6	CDR ₂ de cadena pesada de 4F11
7	CDR ₃ de cadena pesada de 4F11
8	CDR ₁ de cadena (kappa) ligera de 4F11
9	CDR ₂ de cadena (kappa) ligera de 4F11
10	CDR ₃ de cadena (kappa) ligera de 4F11

20

Las secuencias de CDR de la cadena pesada del anticuerpo monoclonal de ratón (Kabat, Chothia y definiciones de IMGT) para 4F11 se muestran en la **Tabla 2**.

Tabla 2

	CDR1	CDR2	CDR3
Kabat	SYDMS (SEQ ID NO: 5)	YISRGGGSTYYPDTVKG (SEQ ID NO: 6)	HATTAYWYFDV (SEQ ID NO: 7)
Chothia	GFAFSSY (SEQ ID NO: 11)	SRGGGS (SEQ ID NO: 12)	HATTAYWYFDV (SEQ ID NO: 7)

25

(continuación)

	CDR1	CDR2	CDR3
IMGT	GFAFSSYD (SEQ ID NO: 14)	ISRGGGST (SEQ ID NO: 15)	GRHATTAYWYFDV (SEQ ID NO: 16)

Las secuencias de CDR de cadena ligera kappa de anticuerpos monoclonales de ratón (Kabat, Chothia y definiciones de IMGT) para 4F11 se muestran en la **Tabla 3**.

5

Tabla 3

	CDR1	CDR2	CDR3
Kabat/Chothia	RSSQSLVHTNGNTYLH (SEQ ID NO: 8)	KVSNRFS (SEQ ID NO: 9)	SQSTHVPWT (SEQ ID NO: 10)
IMGT	QSLVHTNGNTY (SEQ ID NO: 20)	KVS	SQSTHVPWT (SEQ ID NO: 10)

Para crear las secuencias completas de anticuerpos de cadena pesada o kappa, cada secuencia variable anterior se combina con su respectiva región constante. Por ejemplo, una cadena pesada completa comprende una secuencia variable pesada seguida de la secuencia constante de la cadena pesada de IgG1 murina, y una cadena kappa completa comprende una secuencia variable kappa seguida de la secuencia constante de la cadena ligera kappa murina.

10

Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la región constante de la cadena pesada de IgG1 murina (SEQ ID NO: 22)

15

```

1  gccaaaacga  ccccccatc  tgtctatcca  ctggcccctg  gatctgctgc  ccaaactaac
61  tccatggtga  ccctgggatg  cctgggtcaag  ggctatttcc  ctgagccagt  gacagtgacc
121  tggaaactctg  gatccctgtc  cagcgggtgtg  cacaccttcc  cagctgtcct  gcagctctgac
181  ctctacactc  tgagcagctc  agtgactgtc  cctccagca  cctggcccag  cgagaccgtc
241  acctgcaacg  ttgccaccc  gccagcagc  accaaggtgg  acaagaaat  tgtgcccagg
301  gattgtggtt  gtaagccttg  catatgtaca  gtcccagaag  tatcatctgt  cttcatcttc
361  cccccaaagc  ccaaggatgt  gtcaccatt  actctgactc  ctaaggtcac  gtgtgtttgtg
421  gtagacatca  gcaaggatga  tcccagggtc  cagttcagct  ggttttaga  tgatgtggag
481  gtgcacacag  ctgagacgca  acccgggag  gagcagttca  acagcacttt  ccgctcagtc
541  agtgaacttc  ccatcatgca  ccaggactgg  ctcaatggca  aggagttcaa  atgcagggtc
601  aacagtgcag  ctttccctgc  cccatcgag  aaaaccatct  caaaaccaa  aggagaccg
661  aaggctccac  aggtgtacac  cattccacct  cccaaggagc  agatggccaa  ggataaagtc
721  agtctgacct  gcatgataac  agacttcttc  cctgaagaca  ttactgtgga  gtggcagttg
781  aatgggcagc  cagcggagaa  ctacaagaac  actcagccca  tcatggacac  agatggctct
841  tacttctgtc  acagcaagct  caatgtgcag  aagagcaact  gggaggcagg  aaatactttc
901  acctgctctg  tgttacatga  ggcctgcac  aaccaccata  ctgagaagag  cctctccac
961  tctcctggtg  aa
    
```

Secuencia de proteínas que define la región constante de la cadena pesada de IgG1 murina (SEQ ID NO: 23)

20

```

1  akttppsryp  lapgsaaqtn  smvtlgclvk  gyfpepvtvt  wnsqslssgv  htfpavlqsd
61  lytlsssvtv  psstwpsetv  tcnvahpass  tkvdkkivpr  dcgckpcict  vpevssvfif
121  ppkpkdvlti  tltpkvtcvv  vdiskddpev  qfswfvddve  vhtaqtqpre  eqfnstfrsv
181  selpimhqdw  lngkefkcrv  nsaaftpapie  ktisktkgrp  kapqvytipp  pkeqmakdkv

241  sltcmidff  peditvewqw  ngqpaenykn  tqpimtdgds  yfvysklvq  ksnweagntf
301  tcsvlhglh  nhhtekslsh  spgk
    
```

Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la región constante de la cadena ligera Kappa murina (SEQ ID NO: 24)

25

ES 2 737 649 T3

```
1 cgggctgatg ctgcaccaac tgtatccatc ttcccacccat ccagtgagca gttaacatct
61 ggaggtgcct cagtctgttg cttcttgaac aacttctacc ccaaagacat caatgtcaag
121 tggaagattg atggcagtga acgacaaaat ggcgtcctga acagttggac tgatcaggac
181 agcaaagaca gcacctacag catgagcagc accctcacgt tgaccaagga cgagtatgaa
241 cgacataaca gctataacctg tgaggccact cacaagacat caacttcacc cattgtcaag
301 agcttcaaca ggaatgagtg t
```

Secuencia de proteínas que define la región constante de la cadena ligera kappa murina (SEQ ID NO: 25)

```
1 radaaptvsi fppsseqqlts ggasvvcfln nfypkdinvk wkidgserqn gvlnswtddq
5 61 skdstysmss tltltkdeye rhnsytceat hktstspivk sfnrnc
```

Las siguientes secuencias representan las secuencias de cadena pesada y ligera de longitud completa reales o contempladas (es decir, que contienen las secuencias de las regiones variable y constante) para el anticuerpo 4F11 descrito en este Ejemplo. Las secuencias señal para la secreción adecuada de los anticuerpos (por ejemplo, secuencias señal en el extremo 5' de las secuencias de ADN o el extremo amino terminal de las secuencias de proteínas) no se muestran en las secuencias de cadena pesada y ligera de longitud completa descritas en el presente documento y no están incluidas en la proteína secretada final. Tampoco se muestran los codones de parada para la terminación de la traducción requerida en el extremo 3' de las secuencias de ADN. Un experto habitual en la materia seleccionará una secuencia señal y/o un codón de parada para la expresión de las secuencias de cadena pesada y ligera de IgG de longitud completa descritas. También se contempla que las secuencias de la región variable pueden ligarse a otras secuencias de la región constante para producir cadenas pesadas y ligeras de IgG de longitud completa activas.

Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la secuencia de cadena pesada de longitud completa (región variable de la cadena pesada y región constante de IgG1) de 4F11 (SEQ ID NO: 26)

```
1 gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttagtgaagc ctggaggggtc cctgaaactc
61 tcctgtgcag cctctggatt cgctttcagt agctatgaca tgtcttgggt tcgccagact
121 ccgagaaga ggctggagtg ggtcgcatac attagtcgtg gtgggtgtag cacctactat
181 ccagacactg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaaaga cacctgtac
241 ctgcaaatga gcagctctgaa gtctgaggac acagccatgt attactgtgg aagacatgct
301 actacggcct actggctactt cgatgtctgg ggcgcaggga ccacggtcac cgtctcctca
361 gccaaaacga ccccccatc tgtctatcca ctggcccctg gatctgctgc ccaaactaac
421 tccatggtga ccctgggatg cctggctcaag ggctatttcc ctgagccagt gacagtgacc
481 tggaactctg gatccctgtc cagcgggtgtg cacaccttcc cagctgtcct gcagctgtac
541 ctctacactc tgagcagctc agtgactgtc ccctccagca cctggcccag cgagaccgtc
601 acctgcaacg ttgccacc ccgcccagc accaaggtgg acaagaaaat tgtgccaccg
```

```
661 gattgtggtt gtaagccttg catatgtaca gtcccagaag tatcatctgt cttcatcttc
721 cccccaaagc ccaaggatgt gtcaccatt actctgactc ctaaggtcac gtgtgttgtg
781 gtagacatca gcaaggatga tcccagggtc cagttcagct ggtttgtaga tgatgtggag
841 gtgcacacag ctcagacgca accccgggag gagcagttca acagacttt ccgctcagtc
901 agtgaacttc ccatcatgca ccaggactgg ctcaatggca aggagttaa atgcagggtc
961 aacagtgcag ctttccctgc ccccatcgag aaaaccatct ccaaaaccaa aggcagaccg
1021 aaggctccac aggtgtacac cattccacct cccaaggagc agatggccaa ggataaagtc
1081 agtctgacct gcatgataac agacttcttc cctgaagaca ttactgtgga gtggcagtg
1141 aatgggcagc cagcggagaa ctacaagaac actcagccca tcatggacac agatggctct
1201 tacttctgtc acagcaagct caatgtgcag aagagcaact gggaggcagg aaatactttc
1261 acctgctctg tgttacatga gggcctgcac aaccaccata ctgagaagag cctctcccac
1321 tctctgtgta aa
```

Secuencia de proteínas que define la secuencia de cadena pesada de longitud completa (región variable de la cadena pesada y región constante de IgG 1) de 4F11 (SEQ ID NO: 27)

25

ES 2 737 649 T3

```

1 evqlvesggg lvkpggslkl scaasgfafs sydmswvrrt pekrlwvay isrgggsty
61 pdtvkgrfti srdnakntly lqmsslksed tamyycgrha ttaywyfdvw gagttvtvss
121 akttppsvyp lapgsaaqtn smvtlgclvk gyfpepvtvt wnsqslssgv htftpavlqsd
181 lytlsssvtv psstwpsetv tcnvahpass tkvdkkivpr dgcckpcict vpevssvfif
241 ppkpkdvlti tltpkvtcvv vdiskddpev qfswfvddve vhtaqtqpre eqfnstfrsv
301 selpimhqdw lngkefkcrv nsaafpapie ktisktkgrp kapqvvtipp pkeqmakdkv
361 sltcmtdff peditvewqw ngqpaenykn tqpimtdgfs yfvysklnvq ksnweagntf
421 tcsvlheglh nhhtekslsh spgk

```

Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la secuencia de la cadena ligera de longitud completa (región variable y región constante de la cadena Kappa) de 4F11 (SEQ ID NO: 28)

5

```

1 gatgttgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttgaga tcaagcctcc
61 atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacactaatg gcaacaccta tttacattgg
121 tacctgcaga agccaggcca gtctccaaa ctcctgatct acaaagtcc caaccgattt
181 tctgggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcagga cagatttcac actcaagatc
241 agcagagtgg aggetgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg
301 tggacgttcg gtggaggcac caagctgga atcaaacggg ctgatgctgc accaactgta
361 tccatcttcc caccatccag tgagcagta acatctggag gtgcctcagt cgtgtgcttc
421 ttgaacaact tctaccccaa agacatcaat gtcaagtga agattgatgg cagtgaacga
481 caaatggcg tcctgaacag ttgactgat caggacagca aagacagcac ctacagcatg
541 agcagcacc tcacgttgac caaggacgag tatgaacgac ataacagcta tacctgtgag
601 gccactcaca agacatcaac ttcaccatt gtcaagagct tcaacaggaa tgagtgt

```

Secuencia de proteínas que define la secuencia de la cadena ligera de longitud completa (región variable y región constante de la cadena Kappa) de 4F11 (SEQ ID NO: 29)

10

```

1 dvvmtqtpls lpvslgdqas iscrssqslv htngntylhw ylkpqqspk lliykvsnrf
61 sgvpdrfsgs gsgtdftlki srveaedlgv yfcsqsthvp wtfgggkkle ikradaaptv
121 sifppsseql tsggasvvcf lnnfypkdin vkwkidgser qngvlnswtd qdskdstysm
181 sstltltkde yerhnsytce athktstspi vksfnrnc

```

La **Tabla 4** es un gráfico de concordancia que muestra la correspondencia entre las secuencias de longitud completa de los anticuerpos analizados en este Ejemplo con los presentados en el Listado de secuencias.

15

Tabla 4

SEQ ID NO.	Ácido nucleico o proteína
26	pesada de 4F11 variable + IgG1 constante-ácido nucleico
27	pesada de 4F11 variable + IgG1 constante-proteína
28	kappa de 4F11 variable + constante-ácido nucleico
29	Kappa de 4F11 variable + Constante-proteína

Ejemplo 3: Afinidades de unión

20 La afinidad de unión y la cinética de la unión del anticuerpo 4F11 a la proteína de fusión Fc (rhNotch3-Fc (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN)) del dominio extracelular de Notch3 humano recombinante (que contiene los dominios 1-11 de tipo EGF) se midieron por resonancia de plasmón superficial utilizando un instrumento Biacore® T100 (GE Healthcare, Piscataway, NJ).

25 Se inmovilizaron anti-IgG de ratón de conejo (GE Healthcare) en chips sensores CM4 de dextrano carboximetilado (GE Healthcare) mediante acoplamiento de amina, según un protocolo estándar. Los análisis se realizaron a 25 °C y 37 °C utilizando PBS que contiene 0,05 % de tensioactivo P20 como tampón de ejecución. El anticuerpo se capturó en células de flujo individuales a una velocidad de flujo de 10 µl/minuto. El tiempo de inyección se varió para cada anticuerpo para producir una R_{max} entre 30 y 60 unidades de resonancia (RU). El tampón o rhNotch3-Fc diluido en tampón de ejecución se inyectó secuencialmente sobre una superficie de referencia (sin anticuerpo capturado) y la superficie activa (anticuerpo a probar) durante 240 segundos a 60 µl/minuto. La fase de disociación fue controlada durante hasta 1500 segundos. A continuación, la superficie se regeneró con dos inyecciones de 60 segundos de glicina-HCl 10 mM, pH 2,25, a un caudal de 30 µl/minuto. El rango de concentración de rhNotch3-Fc analizado fue de 100 nM a 3,125 nM (dilución 2 veces).

35

Los parámetros cinéticos se determinaron utilizando la función cinética del software BIAevaluation (GE Healthcare)

con doble resta de referencia. Se determinaron los parámetros cinéticos para el anticuerpo, k_a (constante de velocidad de asociación), k_d (constante de velocidad de disociación) y K_D (constante de disociación de equilibrio). Los valores cinéticos del anticuerpo monoclonal 4F11 en rhNotch3-Fc a 25 °C y 37 °C se resumen en la **Tabla 5**.

5

Tabla 5
Unión de anticuerpos a rhNotch3-Fc

Temperatura	k_a (1/MS)	k_d (1/s)	K_D (M)	n
25 °C	7,0E+04	4,8E-05	8,23E-10	3
37 °C	7,5E+04	5,7E-05	7,8E-10	3

Los datos en la **Tabla 5** demuestran que el anticuerpo 4F11 se une a rhNotch3-Fc con una K_D de aproximadamente 1 nM, 900 pM, 850 pM, 800 pM, 750 pM, 700 pM, 650 pM, 600 pM, 500 pM, 400 pM, 300 pM, 250 pM o 200 pM o menos.

10

La unión a Notch3 humana de la superficie celular por el anticuerpo 4F11 se midió a 4 °C, utilizando la clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS). CHO N3 (células Flp-In-CHO (Invitrogen) transfectadas de forma estable con Notch3 humana), Las células HCC2429 y las células RL-952 que expresan Notch3 humana se lavaron una vez con PBS que contenía cloruro de calcio y cloruro de magnesio (Invitrogen) y se recogieron usando un tampón de disociación celular (Invitrogen). Las células se lavaron por segunda vez con PBS y se volvieron a suspender en tampón FACS (PBS con BSA (Sigma-Aldrich) al 0,5 % para una concentración celular final de 250.000 células por pocillo en una placa con fondo en V de 96 pocillos. Los anticuerpos purificados se diluyeron en tampón FACS en un intervalo de concentración de 100 nM a 0,1 nM. Las células se incubaron a 4 °C con 100 μ l de anticuerpo durante una hora, se lavaron con tampón FACS dos veces y se volvieron a suspender en 100 μ l de anticuerpo conjugado con PE de cabra antirratón (Jackson Immuno Research). Las células se incubaron a 4 °C durante 30 minutos en la oscuridad, se lavaron una vez con tampón FACS y luego se analizaron con un instrumento Beckman Coulter Cytomics FC 500. La media geométrica de la intensidad fluorescente se calculó luego para cada concentración de anticuerpo. Estos valores se introdujeron en el software Prism (GraphPad, La Jolla, Ca) y se utilizaron para generar una curva de unión mediante el trazado de la media geométrica frente a la concentración de anticuerpos. De la curva de unión, se usó la siguiente ecuación para calcular el intervalo K_D y K_D de unión del 4F11 a Notch3 humana en la superficie celular de las tres líneas celulares.

15

20

25

Ecuación: Un sitio de unión (hipérbola)

30

$$Y = B_{\max} * X / (K_D + X)$$

*describe la unión de un ligando a un receptor que sigue la ley de la acción de masas. D_{\max} es la unión máxima, y K_D es la concentración de ligando requerida para alcanzar la mitad de la unión máxima.

35 Los resultados se resumen en la **Tabla 6**.

Tabla 6

	K_d (nM)	Intervalo K_D (nM)
CHO N3	0,36	0,21 a 0,51
HCC2429	2,58	1,21 a 3,95
RL-952	0,9633	0,7168 a 1,210

40 Los resultados en la **Tabla 6** demuestran que el anticuerpo 4F11 se une a la superficie celular Notch3 con una K_D de aproximadamente 1 nM, 750 pM, 650 pM, 600 pM, 500 pM, 400 pM, 300 pM, 250 pM o 200 pM o menos.

Ejemplo 4: Especificidad de unión

El anticuerpo 4F11 se ensayó para determinar su unión a las proteínas Notch 1 humana, Notch2 humana, o Notch3 humana. Las mediciones de unión se realizaron mediante interferometría de biocapa (BLI), utilizando un instrumento ForteBio Octet® QK (ForteBio, Menlo Park, CA). Los sensores anti-Fc humanos se empaparon en PBS que contenía 1 mg/ml de BSA durante cinco minutos antes de la unión de los anticuerpos. A continuación, se permitió que las siguientes proteínas (400 nM, en PBS que contenía 1 mg/ml de BSA) se unieran a los sensores: rhNotch1-Fc (R&D Systems, Mineápolis, MN; n.º de cat. 3647-TK-050), rhNotch2-Fc (R&D n.º de cat. 3735-NT-050), rhNotch3-Fc (R&D n.º de cat. 1559-NT-050), o rmNotch3-Fc (R&D n.º de cat. 1308-NT-050). Los sensores unidos a la proteína Notch se sumergieron en una solución de anticuerpo (50 μ g/ml) para permitir la unión del anticuerpo a la proteína Notch. La unión se detectó por cambios en el patrón de interferencia. Estos resultados demostraron que los anticuerpos se unen específicamente a la proteína Notch3 humana, pero no se unen a la proteína Notch2 humana o Notch1 humana (**Figura 4**).

55

Se produjeron líneas celulares estables que expresan receptores Notch transfectando células CHO FlpIn™ o 293

FlpIn™ (Life Technologies, Grand Island, NY) con ADNc de longitud completa de Notch1 humana, Notch2, Notch3 o Notch4 se clonaron en el vector pcDNA5FRT utilizando Lipofectamine 2000 (Life Technologies) de acuerdo con el protocolo del fabricante. Veinticuatro horas después de la transfección, las células CHO se dividieron en medio F12 que contenía FBS al 10 %, 2 mM de L-glutamina y 700 µg/ml de higromicina B (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) para seleccionar las células transfectadas. 293 células se dividieron en medios DMEM que contenían FBS al 10 %, 2 mM de L-glutamina y 200 µg/ml de higromicina B. La expresión de los receptores Notch se confirmó mediante análisis FACS utilizando PE anti-Notch1 humana (BioLegend, San Diego, CA), PE anti-Notch2 (eBioscience, San Diego, CA), o PE anti-Notch3 humana (BioLegend, San Diego, CA).

Para determinar la especificidad de la unión a las proteínas Notch de la superficie celular, el anticuerpo 4F11 se ensayó para determinar su unión a Notch1 humana, Notch2 humana, Notch3 humana y Notch4 humana expresadas en la superficie de las células CHO mediante electroquimioluminiscencia (Meso Scale Discovery). También se produjo una línea CHO que carece de cualquier proteína Notch humana para su uso como control negativo. Las células se cultivaron en condiciones estándar (37 °C, F12 + FBS al 10 %). Para estudios de unión, las células se lavaron en PBS que contenía calcio y magnesio, y se retiraron de la placa mediante tratamiento con tampón de disociación celular (Life Technologies) durante diez minutos a 37 °C.

Las células se sembraron a una densidad de 30.000 células por pocillo, en medios de hibridoma, en placas de unión estándar de 96 pocillos (Meso Scale Discovery, n.º de cat. L15XA-6). Las células se incubaron durante una hora a 37 °C. Se agregaron anticuerpos o IgG de control a 5 µg/ml, en medios de hibridoma de 50 µl, y se incubaron durante una hora a 37 °C. Las placas se lavaron dos veces con PBS que contenía BSA al 3 %. La unión de los anticuerpos a la superficie celular se detectó utilizando 2 µg/ml de anticuerpo secundario de ratón anti-IgG de MSD (Meso Scale Discovery, n.º de cat. R32AC-1) durante una hora a 4 °C. Las placas se lavaron dos veces con PBS que contenía BSA al 3 % y se añadieron 150 µl de tampón de lectura (Meso Scale Discovery, n.º de Cat. R92TC-1). Las placas se analizaron en un instrumento Sector Imager 2400 (Meso Scale Discovery). Este análisis demostró que el anticuerpo 4F11 se une a Notch3 humana mostrada en las superficies de las células, pero no se une a Notch1, Notch2, o Notch4 humanas mostradas en las superficies de las células. El anticuerpo 4F11 tampoco se une a las células CHO-EV (vector vacío) que expresan las proteínas Notch de hámster endógenas. Estos resultados indican que el anticuerpo 4F11 se une específicamente a la proteína Notch3 humana mostrada en una superficie celular *in vitro*.

Ejemplo 5: Inhibición de la unión de Notch3-ligando

El anticuerpo 4F11 fue ensayado por su capacidad para inhibir la unión de rhNotch3 a Jag1 humano, Jag2, DLL1 y DLL4. Las mediciones de unión se realizaron mediante interferometría de biocapa (BLI), utilizando un instrumento ForteBio Octet® QK (ForteBio, Menlo Park, CA). Los ligandos ensayados fueron rhJag1-Fc (R&D n.º de Cat. 1277-JG-050), rhJag2-Fc (R&D N.º de Cat. 1726-JG-050), rhDLL1-Fc (R&D n.º de Cat. 5026-DL-050), y su etiqueta rhDLL4 (R&D n.º de Cat. 1506-D4-050).

Para determinar el grado de inhibición de la unión del ligando Notch3 por el anticuerpo 4F11, los sensores Octet se cargaron con Notch3 humana recombinante y se permitió que el anticuerpo se uniera, como se describe en el Ejemplo 4. En muestras de control positivas, se usó un anticuerpo policlonal Notch3 disponible comercialmente, capaz de bloquear la unión del ligando a Notch3 humana recombinante (control específico de Notch3) en lugar del anticuerpo 4F11. Luego, los sensores se sumergieron en 500 µg/ml de IgG humana, para bloquear la unión no específica. Los ligandos se prepararon a una concentración de 400 nM en PBS que contenía BSA al 3 %, y se dejaron unir. La velocidad de activación y la velocidad de desactivación para la unión del ligando se detectaron utilizando el instrumento y el software Octet QK. El anticuerpo 4F11 bloqueó la unión de los cuatro ligandos a rhNotch3-Fc (**Figura 5A - 5D**).

Ejemplo 6: Inhibición de la escisión de ICD de Notch3 inducida por ligando

La activación de los receptores Notch da como resultado la escisión del dominio intracelular de Notch (NICD), el cual puede ser detectado por transferencia de Western. Se ensayó el efecto del anticuerpo 4F11 en la activación de la escisión de ICD de Notch3.

Para crear ligandos solubles de Notch, se usó la PCR para amplificar las secuencias correspondientes a los dominios extracelulares del ADNc de Jag1 humano o Jag2 humano y fusionarlas en marco con la secuencia codificante de Fc de IgG humana. Esta construcción se subclonó a continuación en el vector de expresión pEE14.4 (Lonza), se transfectó en células CHOK1SV y se seleccionó para producir líneas celulares estables que secretan la proteína de fusión hJag1-hFc o hJag2-hFc. Se recubrieron las placas Immunosorp ELISA de 96 pocillos (Nalgene Nunc, Rochester, NY) con 5 µg/ml de anti-Fc humano (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) durante la noche a 4 °C. Después de lavar los pocillos con PBS/BSA al 0,5 %, se añadieron 5 µg/ml de proteína de fusión hJag1-hFc soluble y se dejó unir a temperatura ambiente durante dos horas. La proteína no unida se eliminó lavando con PBS/BSA al 0,5 %. Las células 293 FlpIn™ diseñadas para expresar hNotch3 (como se describe en el Ejemplo 4) se colocaron en placas en el ligando Jag1-hFc o hFc en presencia de 10 µg/ml de anticuerpo de control 4F11 o mIgG. Las células se lisaron 24 horas después en tampón RIPA (Boston BioProducts, Ashland, MA) que contenía inhibidores de proteasa. La inducción de NICD escindida se detectó explorando la transferencia con un anticuerpo

Notch3 contra el extremo C (Cell Signaling, Danvers, MA) que detecta tanto la proteína de longitud completa como el ICD escindido. La activación inducida por ligando y la escisión de ICD de Notch3 fueron inhibidas por el anticuerpo 4F11.

5 Ejemplo 7: Inhibición de la transcripción dependiente de Notch3

Las líneas celulares indicadoras dependientes de Notch3 se produjeron mediante la introducción lentivírica de un gen indicador de luciferasa dependiente de RBP-Jk (SABiosciences, Frederick, MD) en las células 293-FlpIn de Notch3, células de cáncer de endometrio RL95-2, células de cáncer de mama HCC1143 y células de cáncer de mama MDA-MB-468. Para activar la señalización y transcripción dependiente de Notch3, las células se colocaron en placas recubiertas con ligando preparadas como se describe en el Ejemplo 6. Las células se preincubaron con una serie de dilución de 3 veces de concentraciones de anticuerpo Notch3 que oscilan entre 0 y 300 µg/ml, durante una hora a 37 °C, antes de sembrar 100 µl de la suspensión en placas de 96 pocillos recubiertas con ligando o hFc. Las células se incubaron en pocillos recubiertos con ligando o con Fc humano durante cuatro o veinticuatro horas a 37 °C, en CO₂ al 5 %. A continuación, 100 µl de Promega Bright Glo™ (Promega, Madison, WI) se añadieron a cada pocillo. Se dejó que la reacción transcurriera durante cinco minutos en la oscuridad, y a continuación todo el volumen de 200 µl se transfirió a placas de paredes blancas y se leyó con un luminómetro. Los anticuerpos policlonales contra Notch1 (AF1057, R&D Systems), Notch2 (AF1190, R&D Systems) o Notch3 (AF1559, R&D Systems) se usaron como controles para confirmar que la actividad indicadora estimulada por ligando en cada línea celular dependía específicamente del receptor Notch introducido. Como se muestra en la **Figura 6A**, el anticuerpo 4F11 de Notch3 inhibió la transcripción dependiente de Notch3 estimulada por el ligando Jag2. La activación de la transcripción dependiente de Notch3 por cada uno de los ligandos Jag1, Jag2, DLL1, y DLL4 también fue inhibida por el anticuerpo 4F11 de Notch3 (**Figura 6B** y **Tabla 7**).

25

Tabla 7

Ligando	Jag1	Jag2	DLL1	DLL4
EC ₅₀	2,6 nM	0,4 nM	6,0 nM	4,7 nM
Inhibición máxima	92 %	99 %	100 %	73 %

Ejemplo 8: Humanización de anticuerpos anti-Notch3

Este ejemplo describe la humanización y quimerización del anticuerpo 4F11 anti-Notch3 humano, y la caracterización de los anticuerpos humanizados resultantes. Los anticuerpos anti-Notch3 humanizados fueron diseñados, la afinidad maduró mediante mutagénesis por CDR dirigida, y se optimizó usando métodos conocidos en la técnica. Las secuencias de aminoácidos se convirtieron en secuencias de ADN optimizadas en codones y se sintetizaron para incluir (en el siguiente orden): sitio de restricción HindIII en 5', secuencia de consenso Kozak, secuencia señal amino terminal, región variable humanizada, región constante de IgG 1 o Kappa humana, codón de parada, y un sitio de restricción EcoRI en 3'.

También se construyeron cadenas quiméricas (región variable murina y región constante humana) de 4F11 pesadas (IgG 1 humana) y ligeras (Kappa humana). Para generar anticuerpos quiméricos, las regiones variables murinas se fusionaron con la región constante humana, y se sintetizaron secuencias de ADN optimizadas con codones, incluyendo (en el siguiente orden): sitio de restricción HindIII en 5', secuencia de consenso Kozak, secuencia señal amino terminal, región variable de ratón, región constante de IgG1 o Kappa humana, codón de parada y sitio de restricción EcoRI en 3'.

Las cadenas pesadas humanizadas y quiméricas se subclonaron en pEE6.4 (Lonza, Basilea, Suiza) a través de los sitios HindIII y EcoRI utilizando la clonación por PCR In-Fusion™ (Clontech, Mountain View, CA). Las cadenas ligeras de Kappa humanizadas y quiméricas se subclonaron en pEE14.4 (Lonza) a través de los sitios HindIII y EcoRI usando la clonación de PCR In-Fusion™.

Las cadenas de anticuerpos humanizados o las cadenas de anticuerpos quiméricos se transfectaron transitoriamente en células 293T para producir anticuerpos. El anticuerpo se purificó o se usó en el sobrenadante de medios de cultivo celular para su posterior análisis *in vitro*. La unión de los anticuerpos quiméricos y humanizados a Notch3 se midió como se describe a continuación. Los resultados se resumen en las **Tablas 14-16**.

Combinaciones ejemplares de las regiones variables de cadena pesada de inmunoglobulina y de cadena ligera de inmunoglobulina de 4F11 quimérico o humanizado se exponen a continuación en la **Tabla 8**.

Tabla 8

Nombre del anticuerpo	Región variable de la cadena pesada	Región variable de la cadena ligera
Hu4F11-1	pesada quimérica Ch4F11 (SEQ ID NO: 2)	Kappa quimérica Ch4F11 (SEQ ID NO: 4)
Hu4F11-10	pesada Sh4F1 1 Hv3-23 (SEQ ID NO: 34)	Kappa quimérica Ch4F11 (SEQ ID NO: 4)
Hu4F11-18	pesada quimérica Ch4F11 (SEQ ID NO: 2)	Hu4F11 Kv2D-29 Kappa (SEQ ID NO: 44)

ES 2 737 649 T3

(continuación)

Nombre del anticuerpo	Región variable de la cadena pesada	Región variable de la cadena ligera
Hu4F11-32	pesada Sh4F11 Hv3-23 (SEQ ID NO: 34)	Hu4F11 Kv2D-29 Kappa (SEQ ID NO: 44)
Hu4F11-69	pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S (SEQ ID NO: 40)	Hu4F11 Kv2D-29 N28H Kappa (SEQ ID NO: 46)
Hu4F11-70	pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S (SEQ ID NO: 36)	Hu4F11 Kv2D-29 N28H Kappa (SEQ ID NO: 46)
Hu4F11-71	pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S (SEQ ID NO: 42)	Hu4F11 Kv2D-29 N28H Kappa (SEQ ID NO: 46)
Hu4F11-72	pesada Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S (SEQ ID NO: 38)	Hu4F11 Kv2D-29 N28H Kappa (SEQ ID NO: 46)
Hu4F11-73	pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S (SEQ ID NO: 40)	Hu4F11 Kv2D-29 N28Y Kappa (SEQ ID NO: 50)
Hu4F11-74	pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S (SEQ ID NO: 36)	Hu4F11 Kv2D-29 N28Y Kappa (SEQ ID NO: 50)
Hu4F11-75	pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S (SEQ ID NO: 42)	Hu4F11 Kv2D-29 N28Y Kappa (SEQ ID NO: 50)
Hu4F11-76	pesada Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S (SEQ ID NO: 38)	Hu4F11 Kv2D-29 N28Y Kappa (SEQ ID NO: 50)
Hu4F11-77	pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S (SEQ ID NO: 40)	Hu4F11 Kv2D-29 N28Q Kappa (SEQ ID NO: 48)
Hu4F11-78	pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S (SEQ ID NO: 36)	Hu4F11 Kv2D-29 N28Q Kappa (SEQ ID NO: 48)
Hu4F11-79	pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S (SEQ ID NO: 42)	Hu4F11 Kv2D-29 N28Q Kappa (SEQ ID NO: 48)
Hu4F11-80	pesada Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S (SEQ ID NO: 38)	Hu4F11 Kv2D-29 N28Q Kappa (SEQ ID NO: 48)

Las secuencias de ácidos nucleicos y las secuencias de proteínas codificadas que definen las regiones variables de los anticuerpos 4F11 quiméricos y humanizados se resumen a continuación (no se muestran las secuencias de péptidos señal amino terminales). Las secuencias de CDR (definición de Kabat) se muestran en **negrita** y están subrayadas en las secuencias de aminoácidos.

Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la región variable de la cadena pesada quimérica Ch4F11 (SEQ ID NO: 31)

1 gaggtacagc ttgtcagtc gggaggagga ttggtaaaac cgggtgggct actcaaattg
 61 tcgtgtgcgg cgtcgggatt tgcgttttcg tcgtatgata tgcgtgggt gcgccagacg
 121 ccgaaaaaac gattggaatg ggtcgcgtat atctcccgag gggagggttc gacatactat
 181 cccgacacgg tcaaagggcg cttcacgatt tcacgggaca atgcgaaaaa cacgctttat
 241 cttcaaatgt cgtcgttgaa atcggaagat accgcgatgt attactgcgg gaggcattgcg
 301 acgacggcgt attggtattt cgatgtgtgg ggagccgga cgacgggtgac ggtgtcgtcg

Secuencia de proteínas que define la región variable de la cadena pesada quimérica Ch4F11 (SEQ ID NO: 2)

1 evqlvesggg lvkpggslkl scaasgfafs **sydmswv**rq~~t~~ pekrlwvay **isrgggstyy**
 61 **pd~~tvk~~gr**fti srdnakntly lqmsslksed tamyycgr**ha** **ttaywyfdv**w gagttvtvss

Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la región variable de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 (SEQ ID NO: 33)

1 gaagtacagt tgttgagtc aggaggagg ttggtccagc cgggtggatc gttgcggcct
 61 tcgtgtgcgg cgtcgggatt cgcgttttca tcgtatgaca tgcgtgggt gaggcaggca
 121 ccgggaaaag ggcttgaatg ggtatcgtac atttcgagag ggggaggatc gacgtattac
 181 ccgatacgg tgaaggaag gtttacgac tcgcgcgaca attcaaagaa tacgctttat
 241 cttcagatga actcgtccg agcgggaagat acggcggat actattgcgg tcgcatgcg
 301 acgacggcgt attggtattt cgatgtgtgg ggacaaggga cgatggctac ggtgtcgtcg

ES 2 737 649 T3

Secuencia de proteínas que define la región variable de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 (SEQ ID NO: 34)

1 evqllesggg lvqpggslrl scaasgfafs **sydmswvrqa** pgkglewvsy **isrgggsty**
61 **pdtvkg**rfti srdnsknly lqmnsbraed tavyycgr**ha** **ttaywyfdw** gqgtmvtvss

5 Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la región variable de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S (SEQ ID NO: 35)

1 gaagtacagt tgttgagtc aggaggagg ttggtccagc cgggtggatc gttgcggctt
61 tcgtgtgagg cgctgggatt cacctttca cactatgaca tgctgtgggt gaggcaggca
121 ccggggaaaag ggcttgaatg ggtatcgatc atttcgagag ggggaggatc gacgtattac
181 ccgattccg tgaaggaag gttacgatc tcgctcgaca attcaaagaa tacgctttat
241 cttcagatga actcgtccg agcgggaagat acggcggat actattgagg tcgcatgag
301 acgacggcgt attggtattt cgatgtgtgg ggacaaggga cgatggtcac ggtgtcgtcg

10 Secuencia de proteínas que define la región variable de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S (SEQ ID NO: 36)

1 evqllesggg lvqpggslrl scaasgftfs **hydmswvrqa** pgkglewvsy **isrgggsty**
61 **pdsvkg**rfti srdnsknly lqmnsbraed tavyycgr**ha** **ttaywyfdw** gqgtmvtvss

15 Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la región variable de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S (SEQ ID NO: 37)

1 gaagtacagt tgttgagtc aggaggagg ttggtccagc cgggtggatc gttgcggctt
61 tcgtgtgagg cgctgggatt cgcgtttca cactatgaca tgctgtgggt gaggcaggca
121 ccggggaaaag ggcttgaatg ggtatcgatc atttcgagag ggggaggatc gacgtattac
181 ccgattccg tgaaggaag gttacgatc tcgctcgaca attcaaagaa tacgctttat
241 cttcagatga actcgtccg agcgggaagat acggcggat actattgagg tcgcatgag
301 acgacggcgt attggtattt cgatgtgtgg ggacaaggga cgatggtcac ggtgtcgtcg

20 Secuencia de proteínas que define la región variable de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S (SEQ ID NO: 38)

1 evqllesggg lvqpggslrl scaasgfafs **hydmswvrqa** pgkglewvsy **isrgggsty**
61 **pdsvkg**rfti srdnsknly lqmnsbraed tavyycgr**ha** **ttaywyfdw** gqgtmvtvss

25 Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la región variable de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S (SEQ ID NO: 39)

1 gaagtacagt tgttgagtc aggaggagg ttggtccagc cgggtggatc gttgcggctt
61 tcgtgtgagg cgctgggatt cacctttca aactatgaca tgctgtgggt gaggcaggca

121 ccggggaaaag ggcttgaatg ggtatcgatc atttcgagag ggggaggatc gacgtattac
181 ccgattccg tgaaggaag gttacgatc tcgctcgaca attcaaagaa tacgctttat
241 cttcagatga actcgtccg agcgggaagat acggcggat actattgagg tcgcatgag
301 acgacggcgt attggtattt cgatgtgtgg ggacaaggga cgatggtcac ggtgtcgtcg

30 Secuencia de proteínas que define la región variable de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S (SEQ ID NO: 40)

1 evqllesggg lvqpggslrl scaasgftfs **nydmswvrqa** pgkglewvsy **isrgggsty**
61 **pdsvkg**rfti srdnsknly lqmnsbraed tavyycgr**ha** **ttaywyfdw** gqgtmvtvss

35 Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la región variable de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S (SEQ ID NO: 41)

ES 2 737 649 T3

1 gaagtacagt tgttgagtc aggaggaggg ttggtccagc cgggtggatc gttgcggctt
61 tcgtgtgagg cgctcgggatt caccttttca tcgtatgaca tgtcgtgggt gaggcaggca
121 cgggggaaag ggcttgaatg ggtatcgtac atttcgagag ggggaggatc gacgtattac
181 cgggattccg tgaaggaag gtttacgac tcgcgcgaca attcaaagaa tacgctttat
241 cttcagatga actcgtccg agcgggaagat acggcggat actattgagg tcgccatgag
301 acgacggcgt attggtattt cgatgtgtgg ggacaagga cgatggtcac ggtgtcgtcg

5 Secuencia de proteínas que define la región variable de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S (SEQ ID NO: 42)

1 evqllesggg lvqpggslrl scaasgftfs sydmswvrqa pgkglewvsy isrgggstyy
61 pdsvkgrrfti srdnskntly lqmnsiraed tavyycgrha ttaywyfdvw gqgtmvtvss

10 Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la región variable de la cadena kappa quimérica Ch4F11 (SEQ ID NO: 32)

1 gacgtggtaa tgacgcagac gccgttgctt ctctctgtct cgctcggaga tcaggcgctg
61 atctcgtgta gaagctcga gtcactcgtc cataccaacg ggaatacata tcttcaactgg
121 tatttgcaaa agcccggaca gtcaccgaag ctcttgatct acaaagtatc caatcggttt
181 tcgggggtgc cggaccgatt ctccggatcg ggttcgggga cggattttac gttgaagatt
241 tcgagggtgg aagcggagga tctcgggtgc tacttttggt cgcagtcaac gcatgtcccg
301 tggacgttcg gagcggggac aaaacttgag atcaag

15 Secuencia de proteínas que define la región variable de la cadena kappa quimérica Ch4F11 (SEQ ID NO: 4)

1 dvvmtqtpls lpsvlgdqa iscrssqslv htngntylhw ylkpqqspk lliykvsnrf
61 sgvpdrfsgs gsgtdftlki srveaedlqv yfcsgsthvp wtfgggtkle ik

20 Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la región variable de la cadena Kappa Hu4F11 Kv2D-29 (SEQ ID NO: 43)

1 gatgtagtca tgaccctaac gccgctttcg ttgtcgggta cgcccggaca gcccgcgta
61 atctcgtgct ggtcatcgca gtcggttgta cacacaaacg gtaatacgta tctccattgg

121 tatctccaga agcccggcca gtcgcccag ctcttgatct acaaagtgag caatcgtttt
181 tcgggggtgc cggatcggtt ctccggatcg gggtcaggaa cggacttcac gcttaagatt
241 tcgagggtcg aggcggagga tgtcggatc tacttttggt cgcagtccac acatgtcccc
301 tggacgtttg ggcaggggac gaaggtggaa atcaag

Secuencia de proteínas que define la región variable de la cadena Kappa Hu4F11 Kv2D-29 (SEQ ID NO: 44)

25 1 dvvmtqtpls lsvtpgqpas iscrssqslv htngntylhw ylkpqqspq lliykvsnrf
61 sgvpdrfsgs gsgtdftlki srveaedvgv yfcsgsthvp wtfgggtkve ik

Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la región variable de la cadena Kappa Hu4F11 Kv2D-29 N28H (SEQ ID NO: 45)

30 1 gatgtagtca tgaccctaac gccgctttcg ttgtcgggta cgcccggaca gcccgcgta
61 atctcgtgct ggtcatcgca gtcggttgta cacacacacg gtaatacgta tctccattgg
121 tatctccaga agcccggcca gtcgcccag ctcttgatct acaaagtgag caatcgtttt
181 tcgggggtgc cggatcggtt ctccggatcg gggtcaggaa cggacttcac gcttaagatt
241 tcgagggtcg aggcggagga tgtcggatc tacttttggt cgcagtccac acatgtcccc
301 tggacgtttg ggcaggggac gaaggtggaa atcaag

Secuencia de proteínas que define la región variable de la cadena Kappa Hu4F11 Kv2D-29 N28H (SEQ ID NO: 46)

1 dvvmtqtpls lsvtpgqpas iscrssqslv htgntylhw ylqkpgqspq lliykvsnrnf
61 sgvpdrfsgs gsgtdftlki srveaedvqv yfcsqsthvp wtfgggtkve ik

5 Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la región variable de la cadena Kappa Hu4F11 Kv2D-29 N28Q (SEQ ID NO: 47)

1 gatgtagtca tgacccaaac gccgctttcg ttgtcgggtga cgcccggaca gcccgcgta
61 atctcgtgtc ggtcatcgca gtcgcttggtta cacacacaag gtaatacgtta tctccattgg
121 tatctccaga agcccggcca gtcgcccag ctcttgatct acaaagtga caatcgcttt
181 tcgggggtgc cggatcgggtt ctggggatcg gggtcaggaa cggacttcac gcttaagatt
241 tcgaggggtcg aggcggagga tgcggagtc tacttttggtt cgcagtccac acatgtcccc
301 tggacgtttg ggcaggggac gaaggtgaa atcaag

10 Secuencia de proteínas que define la región variable de la cadena Kappa Hu4F11 Kv2D-29 N28Q (SEQ ID NO: 48)

1 dvvmtqtpls lsvtpgqpas iscrssqslv htgntylhw ylqkpgqspq lliykvsnrnf
61 sgvpdrfsgs gsgtdftlki srveaedvqv yfcsqsthvp wtfgggtkve ik

15 Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la región variable de la cadena Kappa Hu4F11 Kv2D-29 N28Y (SEQ ID NO: 49)

1 gatgtagtca tgacccaaac gccgctttcg ttgtcgggtga cgcccggaca gcccgcgta
61 atctcgtgtc ggtcatcgca gtcgcttggtta cacacatacg gtaatacgtta tctccattgg

121 tatctccaga agcccggcca gtcgcccag ctcttgatct acaaagtga caatcgcttt
181 tcgggggtgc cggatcgggtt ctggggatcg gggtcaggaa cggacttcac gcttaagatt
241 tcgaggggtcg aggcggagga tgcggagtc tacttttggtt cgcagtccac acatgtcccc
301 tggacgtttg ggcaggggac gaaggtgaa atcaag

20 Secuencia de proteínas que define la región variable de la cadena Kappa Hu4F11 Kv2D-29 N28Y (SEQ ID NO: 50)

1 dvvmtqtpls lsvtpgqpas iscrssqslv htygntylhw ylqkpgqspq lliykvsnrnf
61 sgvpdrfsgs gsgtdftlki srveaedvqv yfcsqsthvp wtfgggtkve ik

25 Las secuencias de aminoácidos que definen las regiones variables de la cadena pesada de inmunoglobulina para los anticuerpos producidos en el Ejemplo 8 se alinean en **Figura 7**. No se muestran las secuencias de péptidos señal amino terminales (para la expresión/secreción adecuada). CDR₁, CDR₂ y CDR₃ (Definición de kabat) se identifican mediante recuadros. **La Figura 8** muestra una alineación de las secuencias CDR₁, CDR₂ y CDR₃ separadas para cada una de las secuencias de la región variable mostradas en la **Figura 7**.

30 Las secuencias de aminoácidos que definen las regiones variables de la cadena ligera de inmunoglobulina para los anticuerpos en el Ejemplo 8 se alinean en la **Figura 9**. No se muestran las secuencias de péptidos señal amino terminales (para la expresión/secreción adecuada). CDR₁, CDR₂ y CDR₃ se identifican mediante recuadros. **La Figura 10** muestra una alineación de las secuencias CDR₁, CDR₂ y CDR₃ separadas para cada una de las secuencias de la región variable mostradas en **Figura 9**.

35 La **Tabla 9** es un gráfico de concordancia que muestra la SEQ ID NO. de cada secuencia discutida en este Ejemplo.

Tabla 9

SEQ. ID NO.	Ácido nucleico o proteína
31	Región variable de la cadena pesada quimérica Ch4F11-ácido nucleico
2	Región variable de la cadena pesada quimérica Ch4F11-proteína
5	CDR ₁ de la cadena pesada quimérica Ch4F11
6	CDR ₂ de la cadena pesada quimérica Ch4F11
7	CDR ₃ de la cadena pesada quimérica Ch4F11

ES 2 737 649 T3

(Continuación)

SEQ. ID NO.	Ácido nucleico o proteína
33	Región variable de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23-ácido nucleico
34	Región variable de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23-proteína
5	CDR ₁ de cadena pesada Sh4F11 Hv3-23
6	CDR ₂ de cadena pesada Sh4F11 Hv3-23
7	CDR ₃ de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23
35	Región variable de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S-ácido nucleico
36	Región variable de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S-proteína
51	CDR ₁ de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S
53	CDR ₂ de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S
7	CDR ₃ de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S
37	Región variable de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S-ácido nucleico
38	Región variable de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S-proteína
51	CDR ₁ de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S
53	CDR ₂ de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S
7	CDR ₃ de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S
39	Región variable de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S-ácido nucleico
40	Región variable de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S-proteína
52	CDR ₁ de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S
53	CDR ₂ de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S
7	CDR ₃ de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S
41	Región variable de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S-ácido nucleico
42	Región variable de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S-proteína
5	CDR ₁ de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S
53	CDR ₂ de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S
7	CDR ₃ de la cadena pesada Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S
32	Región variable de la cadena ligera (kappa) quimérica Ch4F11-ácido nucleico
4	Región variable de la cadena ligera (kappa) quimérica Ch4F11-proteína
8	CDR ₁ de la cadena ligera (kappa) quimérica Ch4F11
9	CDR ₂ de la cadena ligera (kappa) quimérica Ch4F11
10	CDR ₃ de la cadena ligera (kappa) quimérica Ch4F11
43	Región variable de la cadena ligera (kappa) Hu4F11 Kv2D-29-ácido nucleico
44	Región variable de la cadena ligera (kappa) Hu4F11 Kv2D-29-proteína
8	CDR ₁ de la cadena ligera (kappa) Hu4F11 Kv2D-29
9	CDR ₂ de la cadena ligera (kappa) Hu4F11 Kv2D-29
10	CDR ₃ de la cadena ligera (kappa) Hu4F11 Kv2D-29
45	Región variable de la cadena ligera (kappa) Hu4F11 Kv2D-29 N28H-ácido nucleico
46	Región variable de la cadena ligera (kappa) Hu4F11 Kv2D-29 N28H-proteína
62	CDR ₁ de la cadena ligera (kappa) Hu4F11 Kv2D-29 N28H
9	CDR ₂ de la cadena ligera (kappa) Hu4F11 Kv2D-29 N28H
10	CDR ₃ de la cadena ligera (kappa) Hu4F11 Kv2D-29 N28H
47	Región variable de la cadena ligera (kappa) Hu4F11 Kv2D-29 N28Q-ácido nucleico
48	Región variable de la cadena ligera (kappa) Hu4F11 Kv2D-29 N28Q-proteína
63	CDR ₁ de la cadena ligera (kappa) Hu4F11 Kv2D-29 N28Q
9	CDR ₂ de la cadena ligera (kappa) Hu4F11 Kv2D-29 N28Q
10	CDR ₃ de la cadena ligera (kappa) Hu4F11 Kv2D-29 N28Q
49	Región variable de la cadena ligera (kappa) Hu4F11 Kv2D-29 N28Y-ácido nucleico
50	Región variable de la cadena ligera (kappa) Hu4F11 Kv2D-29 N28Y-proteína
64	CDR ₁ de la cadena ligera (kappa) Hu4F11 Kv2D-29 N28Y
9	CDR ₂ de la cadena ligera (kappa) Hu4F11 Kv2D-29 N28Y
10	CDR ₃ de la cadena ligera (kappa) Hu4F11 Kv2D-29 N28Y

Secuencias CDR de la cadena pesada del anticuerpo monoclonal humanizado (Kabat, Chothia, y las definiciones de

IMGT) se muestran en **Tabla 10**.

Tabla 10

Kabat				
	CDR1	CDR2	CDR3	Región variable SEQ ID NO:
quimérica Ch4F11	SYDMS (SEQ ID NO: 5)	YISRGGGSTYYPDTVKG (SEQ ID NO: 6)	HATTAYWYFDV (SEQ ID NO: 7)	2
Sh4F11 Hv3-23	SYDMS (SEQ ID NO: 5)	YISRGGGSTYYPDTVKG (SEQ ID NO: 6)	HATTAYWYFDV (SEQ ID NO: 7)	34
Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S	HYDMS (SEQ ID NO: 51)	YISRGGGSTYYPDSVKG (SEQ ID NO: 53)	HATTAYWYFDV (SEQ ID NO: 7)	36
Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S	HYDMS (SEQ ID NO: 51)	YISRGGGSTYYPDSVKG (SEQ ID NO: 53)	HATTAYWYFDV (SEQ ID NO: 7)	38
Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S	NYDMS (SEQ ID NO: 52)	YISRGGGSTYYPDSVKG (SEQ ID NO: 53)	HATTAYWYFDV (SEQ ID NO: 7)	40
Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S	SYDMS (SEQ ID NO: 5)	YISRGGGSTYYPDSVKG (SEQ ID NO: 53)	HATTAYWYFDV (SEQ ID NO: 7)	42
Chothia				
	CDR1	CDR2	CDR3	Región variable SEQ ID NO:
quimérica Ch4F11	GFAFSSY (SEQ ID NO: 11)	SRGGGS (SEQ ID NO: 12)	HATTAYWYFDV (SEQ ID NO: 7)	2
Sh4F11 Hv3-23	GFAFSSY (SEQ ID NO: 11)	SRGGGS (SEQ ID NO: 12)	HATTAYWYFDV (SEQ ID NO: 7)	34
Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S	GFTFSHY (SEQ ID NO: 54)	SRGGGS (SEQ ID NO: 12)	HATTAYWYFDV (SEQ ID NO: 7)	36
Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S	GFAFSHY (SEQ ID NO: 55)	SRGGGS (SEQ ID NO: 12)	HATTAYWYFDV (SEQ ID NO: 7)	38
Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S	GFTFSNY (SEQ ID NO: 56)	SRGGGS (SEQ ID NO: 12)	HATTAYWYFDV (SEQ ID NO: 7)	40
Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S	GFTFSSY (SEQ ID NO: 57)	SRGGGS (SEQ ID NO: 12)	HATTAYWYFDV (SEQ ID NO: 7)	42
IMGT				
	CDR1	CDR2	CDR3	
quimérica Ch4F11	GFAFSSYD (SEQ ID NO: 14)	ISRGGGST (SEQ ID NO: 15)	GRHATTAYWYFDV (SEQ ID NO: 16)	2
Sh4F11 Hv3-23	GFAFSSYD (SEQ ID NO: 14)	ISRGGGST (SEQ ID NO: 15)	GRHATTAYWYFDV (SEQ ID NO: 16)	34
Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S	GFTFSHYD (SEQ ID NO: 58)	ISRGGGST (SEQ ID NO: 15)	GRHATTAYWYFDV (SEQ ID NO: 16)	36
Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S	GFAFSHYD (SEQ ID NO: 59)	ISRGGGST (SEQ ID NO: 15)	GRHATTAYWYFDV (SEQ ID NO: 16)	38
Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S	GFTFSNYD (SEQ ID NO: 60)	ISRGGGST (SEQ ID NO: 15)	GRHATTAYWYFDV (SEQ ID NO: 16)	40
Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S	GFTFSSYD (SEQ ID NO: 61)	ISRGGGST (SEQ ID NO: 15)	GRHATTAYWYFDV (SEQ ID NO: 16)	42

5 Secuencias de CDR de cadena ligera Kappa de anticuerpo monoclonal humanizado (Kabat, Chothia, y las definiciones de IMGT) se muestran en la **Tabla 11**.

Tabla 11

Kabat/Chothia				
	CDR1	CDR2	CDR3	Región variable SEQ ID NO:
quimérica Ch4F11	RSSQSLVHTNGNTYLH (SEQ ID NO: 8)	KVSNRFS (SEQ ID NO: 9)	SQSTHVPWT (SEQ ID NO: 10)	4
Hu4F11 Kv2D- 29	RSSQSLVHTNGNTYLH (SEQ ID NO: 8)	KVSNRFS (SEQ ID NO: 9)	SQSTHVPWT (SEQ ID NO: 10)	44
Hu4F11 Kv2D- 29 N28H	RSSQSLVHTHGNTYLH (SEQ ID NO: 62)	KVSNRFS (SEQ ID NO: 9)	SQSTHVPWT (SEQ ID NO: 10)	46
Hu4F11 Kv2D- 29 N28Q	RSSQSLVHTQGNTYLH (SEQ ID NO: 63)	KVSNRFS (SEQ ID NO: 9)	SQSTHVPWT (SEQ ID NO: 10)	48
Hu4F11 Kv2D- 29 N28Y	RSSQSLVHTYGNTYLH (SEQ ID NO: 64)	KVSNRFS (SEQ ID NO: 9)	SQSTHVPWT (SEQ ID NO: 10)	50
IMGT				
	CDR1	CDR2	CDR3	Región variable SEQ ID NO:
quimérica Ch4F11	QSLVHTNGNTY (SEQ ID NO: 20)	KVS	SQSTHVPWT (SEQ ID NO: 10)	4
Hu4F11 Kv2D- 29	QSLVHTNGNTY (SEQ ID NO: 20)	KVS	SQSTHVPWT (SEQ ID NO: 10)	44
Hu4F11 Kv2D- 29 N28H	QSLVHTHGNTY (SEQ ID NO: 65)	KVS	SQSTHVPWT (SEQ ID NO: 10)	46
Hu4F11 Kv2D- 29 N28Q	QSLVHTQGNTY (SEQ ID NO: 66)	KVS	SQSTHVPWT (SEQ ID NO: 10)	48
Hu4F11 Kv2D- 29 N28Y	QSLVHTYGNTY (SEQ ID NO: 67)	KVS	SQSTHVPWT (SEQ ID NO: 10)	50

Para crear las secuencias de anticuerpos de cadena pesada o kappa quiméricas y humanizadas completas, cada secuencia variable anterior se combina con su región constante humana respectiva. Por ejemplo, una cadena pesada completa comprende una secuencia variable pesada seguida de una secuencia constante de cadena pesada de IgG1 humana. Una cadena kappa completa comprende una secuencia variable kappa seguida de la secuencia constante de la cadena ligera kappa humana.

Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la región constante de la cadena pesada de IgG1 humana (SEQ ID NO: 68)

```

1 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctgcgcccta gcagcaagag tacatccggg
61 ggcactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattattttc cagagccagt aaccgtgagc
121 tggaacagtg gagcactcac ttctggtgtc catacttttc ctgctgtcct gcaaagctct
181 ggcctgtact cactcagctc cgctcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc
241 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aataactaagg tcgataagcg ggtggaaccc
301 aagagctgcg acaagactca cacttgtccc ccatgccctg cccctgaact tctgggcggt
361 cccagcgtct ttttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacaccc
421 gaggtgacat gtgttggtgt agacgtttcc cagcaggacc cagaggtaa gttcaactgg
481 tacgttgatg gagtgcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagtataat
541 agtacatacc gtgtagtcag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa
601 gaatacaaat gcaaagtgtc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt
661 aaggcaaagg ggcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccaccag tagagaggaa
721 atgacaaaga accaagtctc attgacctgc ctggtgaaag gcttctaccc cagcgacatc
781 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaac cccccagtg
841 ctggatagtg acgggtcttt ctttctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgtgg
901 cagcaggta acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa ccactacacc
961 cagaagtcac tgagcctgag ccagggaaag
    
```

Secuencia de proteínas que define la región constante de la cadena pesada de IgG1 humana (SEQ ID NO: 69)

```

1 astkqpsvfp lapsskstsg gtaalglclvk dyfpepvtvs wnsгалtsgv htfpavlqss
61 glyslssvvt vpssslgtqt yicvnvhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
121 psvflfppkp kdtlmisrtp evtcvvvdvs hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyn
181 styrvsvlt vlhqdwlngk eykckvsnka lpapiektis kakgqprepq vytlppsree
241 mtknqvsltc lvkgfydsdi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdkstrw
301 qqgnvfscsv mhealhnhyt qkslslspgk
    
```


Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la región constante de la cadena ligera kappa humana (versión 1)
(SEQ ID NO: 70)

5
 1 cgcacagttg ctgccccag cgtgttcatt ttcccaccta gcgatgagca gctgaaaagc
 61 ggtactgcct ctgtcgtatg cttgctcaac aacttttacc cacgtgaggc taaggtgcag
 121 tggaaagtgg ataatgcact tcaatctgga aacagtcaag agtccgtgac agaacaggac
 181 agcaaagact caacttattc actctcttcc accctgactc tgtccaaggc agactatgaa
 241 aaacacaagg tatacgctg cgaggttaca caccagggtt tgtctagtcc tgtcaccaag
 301 tccttcaata ggggcgaatg t

Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la región constante de la cadena ligera kappa humana (versión 2)
(SEQ ID NO: 71)

10
 1 cgcacagttg cagccccag cgtgttcatt ttcccaccta gcgatgagca gctgaaaagc
 61 ggtactgcct ctgtcgtatg cttgctcaac aacttttacc cacgtgaggc taaggtgcag
 121 tggaaagtgg ataatgcact tcaatctgga aacagtcaag agtccgtgac agaacaggac
 181 agcaaagact caacttattc actctcttcc accctgactc tgtccaaggc agactatgaa
 241 aaacacaagg tatacgctg cgaggttaca caccagggtt tgtctagtcc tgtcaccaag
 301 tccttcaata ggggcgaatg t

Secuencia de proteínas que define la región constante de la cadena ligera kappa humana (las versiones 1 y 2 de ácidos nucleicos codifican la misma secuencia de aminoácidos) (SEQ ID NO: 72)

15
 1 rtvaapsvfi fppsdeqlks gtasvvc1ln nfybreakvq wkvdnalqsg nsqesvteqd
 61 skdstyslss tltlskadye khkvacevt hqglsspvtk sfnrgec

20 Las siguientes secuencias representan la secuencia de cadena pesada y ligera de longitud completa real o contemplada (es decir, que contienen las secuencias de las regiones variable y constante) para cada anticuerpo descrito en este Ejemplo. Las secuencias señal para la secreción adecuada de los anticuerpos (por ejemplo, secuencias señal en el extremo 5' de las secuencias de ADN o el extremo amino terminal de las secuencias de proteínas) no se muestran en las secuencias de cadena pesada y ligera de longitud completa descritas en el presente documento y no están incluidas en la proteína secretada final. Tampoco se muestran los codones de parada para la terminación de la traducción requerida en el extremo 3' de las secuencias de ADN. Un experto habitual en la técnica seleccionará una secuencia señal y/o un codón de parada para la expresión de las secuencias de cadena pesada y ligera de inmunoglobulina de longitud completa descritas. También se contempla que las secuencias de la región variable pueden ligarse a otras secuencias de la región constante para producir cadenas pesadas y ligeras de inmunoglobulina de longitud completa activas.

30 Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la cadena pesada quimérica de longitud completa Ch4F11 (región variable de la cadena pesada de ratón y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO: 73)

ES 2 737 649 T3

1 gaggtacagc ttgtcagtc gggaggagga ttggtaaaac cgggtgggtc actcaaattg
 61 tcgtgtgocg cgtegggatt tgcgttttcg tcgtatgata tgctgtgggt gcgccagacg
 121 ccggaaaaac gattggaatg ggtcgcgtat atctcccag ggggaggttc gacatactat
 181 cccgacacgg tcaaagggcg cttcacgatt tcacgggaca atgcgaaaaa cacgctttat
 241 cttcaaatgt cgtegttgaa atcgggaagat accgcgatgt attactgcgg gaggcatgcg
 301 acgacggcgt attggtattht cgatgtgtgg ggagccggaa cgacgggtac ggtgtcgtcg
 361 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctgcgcccta gcagcaagag tacatccggg
 421 ggcaactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattatthtc cagagccagt aaccgtgagc
 481 tggaaacagt gagcactcac ttctggtgtc catactthtc ctgctgtcct gcaaagctct
 541 ggcctgtact cactcagctc cgtegtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc
 601 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aataactaagg tcgataagcg ggtggaaccc
 661 aagagctgcg acaagactca cacttgtccc ccatgccctg cccctgaact tctgggocgt
 721 cccagcgtct ttttgttccc accaaaacct aaagatactc tgatgataag tagaacaccc
 781 gaggtgacat gtgttgttgt agacgtthtc cagcaggacc cagaggthta gttcaactgg
 841 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc cttagagagga gcagtataat
 901 agtacatacc gtgtagttag tgttctcaca gtgctgcacc aagactgctc caacggcaaa
 961 gaatacaaat gcaaagtgtc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt
 1021 aaggcaaagg ggcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccaccacg tagagaggaa
 1081 atgacaaga accaagtctc attgacctgc ctgggtgaaag gcttctacc cagcgacatc
 1141 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaac cccccagtg
 1201 ctggatagtg acgggtcttht ctttctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgcgtg
 1261 cagcagggtg acgtcttag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa cactacacc
 1321 cagaagtccac tgagcctgag cccagggaaag

Secuencia de proteínas que define la cadena pesada quimérica de longitud completa Ch4F11 (región variable de la cadena pesada de ratón y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO: 74)

5

1 evqlvesggg lvkpggslkl scaasgfafs sydmswvrrt pekrlwvay isrgggstyy
 61 pdtvkgrfti srdnakntly lqmsslksed tamyyocrha ttaywyfdvw gagttvtvss
 121 astkgspsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wnsaltsgv htfpavllqss
 181 glylsssvvt vpssslgtqt yicnvnhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
 241 psvflfppkp kdtlmisrtp evtcvvvdvs hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyn
 301 styrvsvlt vlhqdwlngk eykckvsnka lpapiektis kakgpprepq vytlppsree
 361 mtknqvsltc lvkgfypsdi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdksrw
 421 qggnvfscsv mhealhnhyt qkslslspgk

Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 (región variable de la cadena pesada humanizada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO: 75)

10

1 gaagtacagt tgttggagtc aggaggaggg ttggtccagc cgggtggatc gttgocggctt
 61 tcgtgtgocg cgtegggatt cgcgtthtca tcgtatgaca tgctgtgggt gaggcaggca
 121 ccgggaaag ggccttgaatg ggtatcgtac atthtcgagag ggggaggtc gacgtattac
 181 ccgatacgg tgaaggaag gtttacgatc tcgcgcgaca attcaagaa tacgcttht
 241 cttcagatga actcgtcctc agcgggaagat acggcggat actattgcgg tcgccatgcg
 301 acgacggcgt attggtattht cgatgtgtgg ggacaagggg cgatggcac ggtgtcgtcg
 361 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctgcgcccta gcagcaagag tacatccggg
 421 ggcaactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattatthtc cagagccagt aaccgtgagc
 481 tggaaacagt gagcactcac ttctggtgtc catactthtc ctgctgtcct gcaaagctct
 541 ggcctgtact cactcagctc cgtegtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc
 601 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aataactaagg tcgataagcg ggtggaaccc

ES 2 737 649 T3

```
661 aagagctgcg acaagactca cacttgctcc ccatgccctg cccctgaact tctgggcggt
721 cccagcgtct ttttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacaccc
781 gaggtgacat gtgttgttgt agacgtttcc cacgaggacc cagaggttaa gttcaactgg
841 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagtataat
901 agtacatacc gtgtagtacg tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa
961 gaatacaaat gcaaagtgtc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt
1021 aaggcaaagg ggcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccaccag tagagaggaa
1081 atgacaaaga accaagtctc attgacctgc ctggtgaaag gcttctacc cagcgacatc
1141 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaac cccccagtg
1201 ctggatagtg acgggtcttt ctttctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgtgg
1261 cagcagggta acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa cactacacc
1321 cagaagtcac tgagcctgag cccaggaag
```

Secuencia de proteínas que define la cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 (región variable de la cadena pesada humanizada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO: 76)

5

```
1 evqllesggg lvqpqgslrl scaasgfafs sydmswvrqa pgkglewvsy isrgggstyy
61 pdtvkgrfti srdnskntly lqmnslraed tavyycgrha ttaywyfdvw gqgtmvtvss
121 astkqpsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wnsгалtsgv htfpavlqss
181 glyslssvvt vpssslgtqt yicnvnhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
241 psvflfppkp kdtlmisrtp evtcvvdvs hedpevkfnw yvdgvehna ktkpreeqyn
301 styrvvsvlt vlhqdwlngk eykckvsnka lpapiektis kakqpprepq vytlppsree
361 mtknqvsltc lvkgfyfpsi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdksrw
421 qqgnvfscsv mhealhnhyt qkslsispqk
```

Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S (región variable de la cadena pesada humanizada y región constante de IgG 1 humana) (SEQ ID NO: 77)

10

```
1 gaagtacagt tgttgagtc aggaggaggg ttggtccagc cgggtggatc gttgcggctt
61 tcgtgtgctg cgtcgggatt caccttttca cactatgaca tgcctgtggg taggcaggca
121 cgggggaaag ggcttgaatg ggtatcgtac atttcgagag ggggaggatc gacgtattac
181 cgggattccg tgaaggaag gtttacgac tcgcgcgaca attcaaagaa tacgctttat
241 cttcagatga actcgtctcg agoggaagat acggcgggat actattgcgg tcgcatgog
301 acgacggcgt attggtattt cgatgtgtgg ggacaaggga cgatggtcac ggtgtcgtcg
361 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctgcgcccta gcagcaagag tacatccggg
421 ggcactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattattttc cagagccagt aaccgtgagc
481 tggaacagtg gagcactcac ttctgggtgt cactactttc ctgctgtcct gcaaagctct
541 ggctgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc
601 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aatactaagg tcgataagcg ggtggaacc
661 aagagctgcg acaagactca cacttgctcc ccatgccctg cccctgaact tctgggcggt
721 cccagcgtct ttttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacaccc
781 gaggtgacat gtgttgttgt agacgtttcc cacgaggacc cagaggttaa gttcaactgg
841 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagtataat
901 agtacatacc gtgtagtacg tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa
961 gaatacaaat gcaaagtgtc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt
1021 aaggcaaagg ggcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccaccag tagagaggaa
1081 atgacaaaga accaagtctc attgacctgc ctggtgaaag gcttctacc cagcgacatc
1141 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaac cccccagtg
1201 ctggatagtg acgggtcttt ctttctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgtgg
1261 cagcagggta acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa cactacacc
1321 cagaagtcac tgagcctgag cccaggaag
```

Secuencia de proteínas que define la cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S (región variable de la cadena pesada humanizada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO: 78)

15

ES 2 737 649 T3

```
1 evqllesggg lvqpggslrl scaasgftfs hydmswvrqa pgkglewvsy isrgggstyy
61 pdsvkgrfti srdnskntly lqmnsdraed tavyycgrha ttaywyfdvw gqgtmvtvss
121 astkqpsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wnsгалtsgv htfpavlqss
181 glyslssvvt vpssslgtqt yicnvnhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
241 psvflfppkp kdtlmisrtp evtcvvvdvs hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyn
301 styrvvsvlt vlhqdwlngk eykckvsnka lpapiektis kakgqprepq vytlppsree
361 mtknqvsltc lvkgfyfpsi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdksrw
421 qqgnvfscsv mhealhnhyt qkslslspgk
```

Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S (región variable de la cadena pesada humanizada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO: 79)

5

```
1 gaagtacagt tgttggagtc aggaggaggg ttgggtccagc cgggtggatc gttgcggtt
61 tcgtgtgctg cgctcgggatt cgcgttttca cactatgaca tgcgtgggt gaggcaggca
121 ccgggaaag ggcttgaatg ggtatcgtac atttcgagag ggggaggatc gacgtattac
181 ccgattccg tgaaaggaag gtttacgata tcgcgcgaca attcaaagaa tacgctttat
241 cttcagatga actcgcctccg agcggaaagat acggcgggat actattgagg tcgccatgag
301 acgacggcgt attgggtattt cgatgtgtgg ggacaagggg cgatggtcac ggtgtcgtcg
361 gcctcaaca aaggaccaag tgtgttccca ctgcgcccta gcagcaagag tacatccggg
421 ggactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattattttc cagagccagt aacctgagc
481 tggaacagtg gagcactcac tctcgtgtgc catacttttc ctgctgtcct gcaaagctct
541 ggctgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc
601 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aatactaagg tcgataagcg ggtggaacct
661 aagagctgag acaagactca cactgttccc ccatgccctg cccctgaact tctgggaggg
721 cccagcgtct ttttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacacct
781 gaggtgacat gtgttgttgt agacgtttcc cagcaggacc cagaggttaa gttcaactgg
841 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagtataat
901 agtacatacc gtgtagtcag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa
961 gaatacaaat gcaaagtgtc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt
1021 aaggcaaaag ggcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccaccag tagagaggaa
1081 atgacaaaaga accaagtctc attgacctgc ctggtgaaag gcttctacct cagcgacatc
1141 gccgttgagt gggagagtaa cgtcagcctc gagaacaatt acaagacaac cccccagtg
1201 ctggatagtg acgggtcttt ctttctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgcgtg
1261 cagcagggtg acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa cactacacc
1321 cagaagtcac tgagcctgag cccagggag
```

Secuencia de proteínas que define la cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S (región variable de la cadena pesada humanizada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO: 80)

10

```
1 evqllesggg lvqpggslrl scaasgfafs hydmswvrqa pgkglewvsy isrgggstyy
61 pdsvkgrfti srdnskntly lqmnsdraed tavyycgrha ttaywyfdvw gqgtmvtvss
121 astkqpsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wnsгалtsgv htfpavlqss
181 glyslssvvt vpssslgtqt yicnvnhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
241 psvflfppkp kdtlmisrtp evtcvvvdvs hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyn
301 styrvvsvlt vlhqdwlngk eykckvsnka lpapiektis kakgqprepq vytlppsree
361 mtknqvsltc lvkgfyfpsi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdksrw
```

421 qqgnvfscsv mhealhnhyt qkslslspgk

Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S (región variable de la cadena pesada humanizada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO: 81)

15

ES 2 737 649 T3

1 gaagtacagt tgttggagtc aggaggaggg ttggtccagc cgggtggatc gttgcccgtt
 61 tcgtgtgctg cgctcgggatt caccttttca aactatgaca tgcctgctggg gaggcaggca
 121 ccggggaaag ggcttgaatg ggtatcgtac atttcgagag ggggaggatc gacgtattac
 181 ccggtattccg tgaaggaag gtttacgac tcgcgcgaca attcaaagaa tacgctttat
 241 cttcagatga actcgcctcc agcgggaagat acggcgggat actattgcgg tcgccatgctg
 301 acgacggcgt attggtatct cgatgtgtgg ggacaaggga cgatggtoac ggtgtcgtcg
 361 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctgcgcccta gcagcaagag tacatccggg
 421 ggcactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattatcttc cagagccagt aaccgtgagc
 481 tggaacagtg gagcactcac ttctgggtgc catacttttc ctgctgtcct gcaaagctct
 541 ggcctgtact cactcagctc cgctcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc
 601 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aatactaagg tcgataagcg ggtggaacc
 661 aagagctgctg acaagactca cacttgtccc ccatgccctg cccctgaact tctgggctgg
 721 cccagcgtct ttttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacacc
 781 gaggtgacat gtgttgttgt agacgtttcc cagcaggacc cagaggttaa gttcaactgg
 841 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctatagagga gcagtataat
 901 agtacatacc gtgtagtcag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa
 961 gaatacaaat gcaaagtgtc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt
 1021 aaggcaaagg ggcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccaccag tagagaggaa
 1081 atgacaaaga accaagtctc attgacctgc ctggtgaaag gcttctacc cagcgacatc
 1141 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaac cccccagtg
 1201 ctggatagtg acgggtcttt ctttctgtac agtaagctga ctgtggaaa gtcccgtg
 1261 cagcagggtg acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa cactacacc
 1321 cagaagtcac tgagcctgag cccagggaag

Secuencia de proteínas que define la cadena pesada de longitud completa Sh4F11 A28T S31N T62S (región variable de la cadena pesada humanizada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO: 82)

5

1 evqllesggg lvqpggslrl scaasgftfs nydmswvrqa pgkglewvsy isrgggstyy
 61 pdsvkgrfti srdnskntly lqmnsraed tavyycgrha ttaywyfdvw gqtmvtvss
 121 astkqpsvfp lapsskstsg gtaalglvk dyfpepvtvs wnsгалtsgv htfpavlqss
 181 glyslssvvt vpssslgtqt yicnvnhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
 241 psvflfppkp kdtlmisrtp evtcvvdvs hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyn
 301 styrvsvlt vlhqdwlngk eykckvsnka lpapiektis kakgqprepq vytlppsree
 361 mtknqvsltc lvkgfypsdi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdksrw
 421 qqgnvfscsv mhealhnhyt qkslslspgk

Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S (región variable de la cadena pesada humanizada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO: 83)

10

1 gaagtacagt tgttggagtc aggaggaggg ttggtccagc cgggtggatc gttgcccgtt
 61 tcgtgtgctg cgctcgggatt caccttttca tcgtatgaca tgcctgctggg gaggcaggca
 121 ccggggaaag ggcttgaatg ggtatcgtac atttcgagag ggggaggatc gacgtattac
 181 ccggtattccg tgaaggaag gtttacgac tcgcgcgaca attcaaagaa tacgctttat
 241 cttcagatga actcgcctcc agcgggaagat acggcgggat actattgcgg tcgccatgctg

ES 2 737 649 T3

301 acgacggcgt attggtattht cgatgtgtgg ggacaaggga cgatgggtcac ggtgtcgtcg
361 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctgcgcccta gcagcaagag tacatccggg
421 ggcactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattattht cagagccagt aaccgtgagc
481 tggacacagt gagcactcac ttctgggtgc catacttht ctgctgtcct gcaaagctct
541 ggcctgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc
601 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aataactaagg tcgataagcg ggtggaaccc
661 aagagctgag acaagactca cacttggtccc ccatgccctg cccctgaact tctgggctgt
721 cccagcgtct thttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacaccc
781 gaggtgacat gtgtgtgtgt agacgttht cagcaggacc cagaggtht gttcaactgg
841 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagtataat
901 agtacatacc gtgtagttag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa
961 gaatacaaat gcaaagtgtc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt
1021 aaggcaaaag ggcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccaccag tagagaggaa
1081 atgacaaaga accaagtctc attgacctgc ctggtgaaag gcttctacc cagcgacatc
1141 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaac cccccagtg
1201 ctggatagtg acgggtcttht cthtctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgtgg
1261 cagcagggta acgtctcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa cactacacc
1321 cagaagtcac tgagcctgag cccagggaa

Secuencia de proteínas que define la cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S (región variable de la cadena pesada humanizada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO: 84)

5

1 evqllesggg lvqpggslrl scaasgftfs sydmswvrqa pgkglewvsy isrgggstyy
61 pdsvkgrfti srdnskntly lqmnslraed tavyyogrha ttaywyfdvw gggmtvtvss
121 astkgpsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wnsгалtsgv htfpavlqss
181 glyslssvvt vpssslgtqt yicnvnhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
241 psvflfppkp kdtlmisrtp evtcvvvdvs hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyn
301 styrvvsvlt vlhqdwlngk eykckvsnka lpapiektis kakgpprepq vytlppsree
361 mtknqvsltc lvkgfypsdi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdkrsr
421 qqgnvfscsv mhealhnhyt qkslsispqk

Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la cadena ligera quimérica de longitud completa Ch4F11 (región variable de la cadena kappa del ratón y región constante de kappa humana) (SEQ ID NO: 85)

10

1 gacgtggtaa tgacgcagac gccgttgctc cttcctgtct cgctcggaga tcaggcgtcg
61 atctcgtgta gaagctcgca gtcactcgtc cataccaacg ggaatacata tcttcaactgg
121 tatttgcaaa agcccggaca gtcaccgaag ctcttgatct acaagatct caatcggtht
181 tcgggggtgc ccgaccgatt ctccggatcg ggttcgggga cggattht gttgaagatt
241 tcgcccgttg aagcggagga tctcgggtgc tactthtgtt cgcagtcaac gcatgcccg
301 tggacgttcg gagcgggac aaaacttgag atcaagcgca cagttgctgc ccccagcgtg
361 ttcatthtcc cacctagcga tgagcagctg aaaagcggta ctgcctctgt cgtatgcttg
421 ctcaacaact thtaccacg tgaggctaag gtgcagtgga aagtggataa tgcaactcaa
481 tctgaaaca gtcaagagtc cgtgacagaa caggacagca aagactcaac ttattcactc
541 tcttccacc tgactctgtc caagcagac tatgaaaaac acaaggtata cgcctgcgag
601 gttacacacc agggthtgc tagtctgtc accaagtcct tcaatagggg cgaatgt

Secuencia de proteínas que define la cadena ligera quimérica de longitud completa Ch4F11 (región variable de la cadena Kappa del ratón y región constante de Kappa humana) (SEQ ID NO: 86)

15

1 dvvmtqtpls lpvslgdqas iscrssqslv htngntylhw ylkpqqspk lliykvsnrf
61 sgvpdrfsgs gsgtdftlki srveaedlgv yfcsqsthvp wtfgggkile ikrtvaapsv
121 fifppsdeql ksqtasvvcl lnnfybreak vqwkvdnalq sgnsqesvte qdskdstysl
181 sstltlskad yekhkvyace vthqglssp v tksfnrgec

Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la cadena ligera de longitud completa Hu4F11 Kv2D-29 (región variable de la cadena kappa humanizada y región constante de kappa humana (versión 1)) (SEQ ID NO: 87)

20

ES 2 737 649 T3

```
1 gatgtagtca tgacccaaac gccgctttcg ttgtcgggta cgcccggaca gcccgcgtca
61 atctcgtgtc ggtcatcgca gtcgttggta cacacaaaac gtaataccta tctccattgg
121 tatctccaga agcccggcca gtcgccgcag ctcttgatct acaaagttag caatcgcttt
181 tcgggggtgc cggatcgggt ctcgggatcg gggtcaggaa cggacttcac gcttaagatt
241 tcgagggtcg aggcggagga tgtcggagtc tacttttggt cgcagtccac acatgtcccc
301 tggacgtttg ggcaggggac gaaggtggaa atcaagcgca cagttgctgc ccccagcgtg
361 ttcattttcc cacctagcga tgagcagctg aaaagcggta ctgcctctgt cgtatgcttg
421 ctcaacaact ttaccacag tgaggctaag gtgcagtgga aagtggataa tgcacttcaa
481 tctggaaca gtcaagagtc cgtgacagaa caggacagca aagactcaac ttattcactc
541 tcttccacc tgactctgtc caaggcagac tatgaaaaac acaaggtata cgctgcgag
601 gttacacacc agggtttgc tagtctgct accaagtcct tcaatagggg cgaatgt
```

Secuencia de proteínas que define la cadena ligera de longitud completa Hu4F11 Kv2D-29 (región variable de la cadena kappa humanizada y región constante de kappa humana) (SEQ ID NO: 88)

5

```
1 dvvmtqtpls lsvtpgqpas iscrssqslv htngntylhw ylkpqqspq lliykvsnrf
61 sgvpdrfsgs gsgtdftlki srveaedvgv yfcsqsthvp wtfqggtkve ikrtvaapsv
121 fifppsdeql ksgtasvvc lnnfybreak vqwkvdnalq sgnsqesvte qdskdstysl
181 sstltlskad yekhkvyace vthqglsspv tksfnrgec
```

Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la cadena ligera de longitud completa Hu4F11 Kv2D-29 N28H (región variable de la cadena kappa humanizada y región constante de kappa humana (versión 2)) (SEQ ID NO: 89)

10

```
1 gatgtagtca tgacccaaac gccgctttcg ttgtcgggta cgcccggaca gcccgcgtca
61 atctcgtgtc ggtcatcgca gtcgttggta cacacacacg gtaataccta tctccattgg
121 tatctccaga agcccggcca gtcgccgcag ctcttgatct acaaagttag caatcgcttt
181 tcgggggtgc cggatcgggt ctcgggatcg gggtcaggaa cggacttcac gcttaagatt
241 tcgagggtcg aggcggagga tgtcggagtc tacttttggt cgcagtccac acatgtcccc
301 tggacgtttg ggcaggggac gaaggtggaa atcaagcgca cagttgcagc ccccagcgtg
361 ttcattttcc cacctagcga tgagcagctg aaaagcggta ctgcctctgt cgtatgcttg
421 ctcaacaact ttaccacag tgaggctaag gtgcagtgga aagtggataa tgcacttcaa
481 tctggaaca gtcaagagtc cgtgacagaa caggacagca aagactcaac ttattcactc
541 tcttccacc tgactctgtc caaggcagac tatgaaaaac acaaggtata cgctgcgag
601 gttacacacc agggtttgc tagtctgct accaagtcct tcaatagggg cgaatgt
```

Secuencia de proteínas que define la cadena ligera de longitud completa Hu4F11 Kv2D-29 N28H (región variable de la cadena Kappa humanizada y región constante de Kappa humana) (SEQ ID NO: 90)

15

```
1 dvvmtqtpls lsvtpgqpas iscrssqslv htngntylhw ylkpqqspq lliykvsnrf
61 sgvpdrfsgs gsgtdftlki srveaedvgv yfcsqsthvp wtfqggtkve ikrtvaapsv
121 fifppsdeql ksgtasvvc lnnfybreak vqwkvdnalq sgnsqesvte qdskdstysl
181 sstltlskad yekhkvyace vthqglsspv tksfnrgec
```

Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la cadena ligera de longitud completa Hu4F11 Kv2D-29 N28Q (región variable de la cadena kappa humanizada y región constante de kappa humana (versión 2)) (SEQ ID NO: 91)

20

```
1 gatgtagtca tgacccaaac gccgctttcg ttgtcgggta cgcccggaca gcccgcgtca
61 atctcgtgtc ggtcatcgca gtcgttggta cacacacaag gtaataccta tctccattgg
121 tatctccaga agcccggcca gtcgccgcag ctcttgatct acaaagttag caatcgcttt
181 tcgggggtgc cggatcgggt ctcgggatcg gggtcaggaa cggacttcac gcttaagatt
241 tcgagggtcg aggcggagga tgtcggagtc tacttttggt cgcagtccac acatgtcccc
301 tggacgtttg ggcaggggac gaaggtggaa atcaagcgca cagttgcagc ccccagcgtg
361 ttcattttcc cacctagcga tgagcagctg aaaagcggta ctgcctctgt cgtatgcttg
421 ctcaacaact ttaccacag tgaggctaag gtgcagtgga aagtggataa tgcacttcaa
481 tctggaaca gtcaagagtc cgtgacagaa caggacagca aagactcaac ttattcactc
541 tcttccacc tgactctgtc caaggcagac tatgaaaaac acaaggtata cgctgcgag
601 gttacacacc agggtttgc tagtctgct accaagtcct tcaatagggg cgaatgt
```

Secuencia de proteínas que define la cadena ligera de longitud completa Hu4F11 Kv2D-29 N28Q (región variable de la cadena Kappa humanizada y región constante de Kappa humana) (SEQ ID NO: 92)

```

1  dvvmtqtpls lsvtpgqpas iscrssqslv htqgntylhw ylqkpgqspq lliykvsnrf
61  sgvpdrfsgs gsgtdftlki srveaedvgv yfcsqsthvp wtfgggtkve ikrtvaapsv
121 fifppsdeql ksqtasvvc1 lnnfybreak vqwkvdnalq sgnsqesvte qdskdstysl
181 sstltlskad yekhkvyace vthqglsspv tksfnrgec
    
```

5

Secuencia de ácidos nucleicos que codifica la cadena ligera de longitud completa Hu4F11 Kv2D-29 N28Y (región variable de la cadena kappa humanizada y región constante de kappa humana (versión 2)) (SEQ ID NO: 93)

```

1  gatgtagtca tgacccaaac gccgctttcg ttgtcgggtga cgcccgaca gcccgcgctca
61  atctcgtgtc ggtcatcgca gtcggtgta cacacatacg gtaatacgtat tctccattgg
121 tatctccaga agcccgcca gtcgcccag ctcttgatct acaaagttag caatcgcttt
181 tcgggggtgc cggatcgggt ctcgggatcg gggtcaggaa cggactcac gcttaagatt
241 tcgagggtcg aggcggagga tgcggagtc tacttttgtt cgcagtcac acatgtcccc
301 tggacgtttg ggcaggggac gaaggtgaa atcaagcga cagttgcagc cccagcgtg
361 ttcattttcc cacctagcga tgagcagctg aaaagcggta ctgcctctgt cgtatgcttg
421 ctcaacaact tttaccacg tgaggctaag gtgcagtgga aagtgataa tgcaattcaa
481 tctggaaaca gtcaagagtc cgtgacagaa caggacagca aagactcaac ttattcactc
541 tcttccacc tgactctgtc caaggcagc tatgaaaaac acaaggtata cgctgagag
601 gttacacacc agggtttgtc tagtctctg accaagtcct tcaatagggg cgaatgt
    
```

10

Secuencia de proteínas que define la cadena ligera de longitud completa Hu4F11 Kv2D-29 N28Y (región variable de la cadena kappa humanizada y región constante de kappa humana) (SEQ ID NO: 94)

```

1  dvvmtqtpls lsvtpgqpas iscrssqslv htygntylhw ylqkpgqspq lliykvsnrf
61  sgvpdrfsgs gsgtdftlki srveaedvgv yfcsqsthvp wtfgggtkve ikrtvaapsv
121 fifppsdeql ksqtasvvc1 lnnfybreak vqwkvdnalq sgnsqesvte qdskdstysl
181 sstltlskad yekhkvyace vthqglsspv tksfnrgec
    
```

15

Tabla 12 es un gráfico de concordancia que muestra la SEQ ID NO. de cada secuencia descrita en este Ejemplo.

Tabla 12

SEQ ID NO.	Ácido nucleico o proteína
68	IgG1 humana constante-ácido nucleico
69	IgG1 humana constante-proteína
70	Kappa humana constante-ácido nucleico (versión 1)
71	Kappa humana constante-ácido nucleico (versión 2)
72	Kappa humana constante-proteína (las versiones 1 y 2 de ácidos nucleicos codifican la misma secuencia de aminoácidos)
73	pesada quimérica Ch4F11 variable + IgG1 humana constante-ácido nucleico
74	pesada quimérica Ch4F11 variable + IgG1 humana constante-proteína
75	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 humanizada variable + IgG1 Humana constante-ácido nucleico
76	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 humanizada variable + IgG1 humana constante-proteína
77	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S humanizada variable + IgG1 humana constante-ácido nucleico
78	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S humanizada variable + IgG1 humana constante-proteína
79	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S humanizada variable + IgG1 humana constante-ácido nucleico
80	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S humanizada variable + IgG1 humana constante-proteína
81	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S humanizada variable + IgG1 humana constante-ácido nucleico
82	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S humanizada variable + IgG1 humana constante-proteína
83	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S humanizada variable + IgG1 humana constante-ácido nucleico
84	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S humanizada variable + IgG1 humana constante-proteína

(continuación)

SEQ ID NO.	Ácido nucleico o proteína
85	Kappa quimérica Ch4F11 variable + Kappa humana constante-ácido nucleico (versión 1)
86	Kappa quimérica Ch4F11 variable + Kappa humana constante-proteína
87	Kappa humana Hu4F11 Kv2D-29 humanizada variable + Kappa humana constante-ácido nucleico (versión 1)
88	Kappa humana Hu4F11 Kv2D-29 humanizada variable + Kappa humana constante-proteína
89	Kappa humana Hu4F11 Kv2D-29 N28H humanizada variable + Kappa Humana constante-ácido nucleico (versión 2)
90	Kappa humana Hu4F11 Kv2D-29 N28H humanizada variable + Kappa humana constante-proteína
91	Kappa humana Hu4F11 Kv2D-29 N28Q humanizada variable + Kappa Humana constante-ácido nucleico (versión 2)
92	Kappa humana Hu4F11 Kv2D-29 N28Q humanizada variable + Kappa humana constante-proteína
93	Kappa humana Hu4F11 Kv2D-29 N28Y humanizada variable + Kappa Humana constante-ácido nucleico (versión 2)
94	Kappa humana Hu4F11 Kv2D-29 N28Y humanizada variable + Kappa humana constante-proteína

La **Tabla 13** a continuación muestra los anticuerpos que contienen cadenas pesadas y ligeras de inmunoglobulina quimérica y combinaciones ejemplares de cadenas pesadas y ligeras de inmunoglobulina quimérica o humanizada de longitud completa.

5

Tabla 13

Nombre de Anticuerpo	Cadena pesada	Cadena ligera
Hu4F11-1	pesada quimérica Ch4F11 variable + IgG1 humana constante (SEQ ID NO: 74)	Kappa quimérica Ch4F11 variable + Kappa humana constante (SEQ ID NO: 86)
Hu4F11-10	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 humanizada variable + IgG1 humana constante (SEQ ID NO: 76)	Kappa quimérica Ch4F11 variable + Kappa humana constante (SEQ ID NO: 86)
Hu4F11-18	pesada quimérica Ch4F11 variable + IgG1 humana constante (SEQ ID NO: 74)	humana Hu4F11 Kv2D-29 humanizada variable + Kappa humana constante (SEQ ID NO: 88)
Hu4F11-32	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 humanizada variable + IgG1 humana constante (SEQ ID NO: 76)	Kappa humana Hu4F11 Kv2D-29 humanizada variable + Kappa humana constante (SEQ ID NO: 88)
Hu4F11-69	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S humanizada variable + IgG1 humana constante (SEQ ID NO: 82)	Kappa humana Hu4F11 Kv2D-29 N28H humanizada variable + Kappa humana constante (SEQ ID NO: 90)
Hu4F11-70	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S humanizada variable + IgG1 humana constante (SEQ ID NO: 78)	Kappa humana Hu4F11 Kv2D-29 N28H humanizada variable + Kappa humana constante (SEQ ID NO: 90)
Nombre de Anticuerpo	Cadena pesada	Cadena ligera
Hu4F11-71	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S humanizada variable + IgG1 humana constante (SEQ ID NO: 84)	Kappa humana Hu4F11 Kv2D-29 N28H humanizada variable + Kappa humana constante (SEQ ID NO: 90)
Hu4F11-72	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S humanizada variable + IgG1 humana constante (SEQ ID NO: 80)	Kappa humana Hu4F11 Kv2D-29 N28H humanizada variable + Kappa humana constante (SEQ ID NO: 90)
Hu4F11-73	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S humanizada variable + IgG1 humana constante (SEQ ID NO: 82)	Kappa humana Hu4F11 Kv2D-29 N28Y humanizada variable + Kappa humana constante (SEQ ID NO: 94)
Nombre del anticuerpo	Cadena pesada	Cadena ligera
Hu4F11-74	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S humanizada variable + IgG1 humana constante (SEQ ID NO: 78)	Kappa humana Hu4F11 Kv2D-29 N28Y humanizada variable + Kappa humana constante (SEQ ID NO: 94)
Hu4F11-75	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S humanizada variable + IgG1 humana constante (SEQ ID NO: 84)	Kappa humana Hu4F11 Kv2D-29 N28Y humanizada variable + Kappa humana constante (SEQ ID NO: 94)

(continuación)

Nombre de Anticuerpo	Cadena pesada	Cadena ligera
Hu4F11-76	pesada humana SMF11 Hv3-23 S31H T62S humanizada variable + IgG1 humana constante (SEQ ID NO: 80)	Kappa humana Hu4F11 Kv2D-29 N28Y humanizada variable + Kappa humana constante (SEQ ID NO: 94)
Hu4F11-77	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S humanizada variable + IgG1 humana constante (SEQ ID NO: 82)	Kappa humana Hu4F11 Kv2D-29 N28Q humanizada variable + Kappa humana constante (SEQ ID NO: 92)
Hu4F11-78	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S humanizada variable + IgG1 humana constante (SEQ ID NO: 78)	Kappa humana Hu4F11 Kv2D-29 N28Q humanizada variable + Kappa humana constante (SEQ ID NO: 92)
Hu4F11-79	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S humanizada variable + IgG1 humana constante (SEQ ID NO: 84)	Kappa humana Hu4F11 Kv2D-29 N28Q humanizada variable + Kappa humana constante (SEQ ID NO: 92)
Hu4F11-80	pesada humana Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S humanizada variable + IgG1 humana constante (SEQ ID NO: 80)	Kappa humana Hu4F11 Kv2D-29 N28Q humanizada variable + Kappa humana constante (SEQ ID NO: 92)

La construcción del anticuerpo que contiene las cadenas pesada y ligera quiméricas de longitud completa se designa a continuación: **4F11 quimérico (Hu4F11-1)** = Cadena pesada quimérica de longitud completa Ch4F11 (región variable de la cadena pesada de ratón y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO: 74) más cadena ligera quimérica de longitud completa Ch4F11 (región variable de la cadena de Kappa de ratón y región constante de Kappa humana) (SEQ ID NO: 86)

A continuación se describen trece de las posibles construcciones de anticuerpos que contienen las cadenas pesada y ligera de inmunoglobulina de longitud completa que contienen regiones variables humanizadas:

Hu4F11-32 = Cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 (región variable humanizada de la cadena pesada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO:76) más cadena ligera de longitud completa Hu4F11 Kv2D-29 (región variable de la cadena Kappa humanizada y región constante de Kappa humana) SEQ ID NO:88)

Hu4F11-69 = Cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S (región variable humanizada de la cadena pesada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO:82) más cadena ligera de longitud completa Hu4F11 Kv2D-29 N28H (región variable de la cadena Kappa humanizada y región constante de Kappa humana) (SEQ ID NO:90)

Hu4F11-70 = Cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S (región variable humanizada de la cadena pesada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO:78) más cadena ligera de longitud completa Hu4F11 Kv2D-29 N28H (región variable de la cadena Kappa humanizada y región constante de Kappa humana) (SEQ ID NO:90)

Hu4F11-71 = Cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S (región variable humanizada de la cadena pesada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO:84) más cadena ligera de longitud completa Hu4F11 Kv2D-29 N28H (región variable de la cadena kappa humanizada y región constante de Kappa humana) (SEQ ID NO:90)

Hu4F11-72 = Cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S (región variable de la cadena pesada humanizada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO:80) más cadena ligera de longitud completa Hu4F11 Kv2D-29 N28H (región variable de la cadena de Kappa humanizada y región constante de Kappa humana) (SEQ ID NO:90)

Hu4F11-73 = Cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S (región variable humanizada de la cadena pesada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO:82) más cadena ligera de longitud completa Hu4F11 Kv2D-29 N28Y (región variable de la cadena Kappa humanizada y región constante de Kappa humana) (SEQ ID NO:94)

Hu4F11-74 = Cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S (región variable humanizada de la cadena pesada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO:78) más cadena ligera de longitud completa Hu4F11 Kv2D-29 N28Y (región variable de la cadena Kappa humanizada y región constante de Kappa humana) (SEQ ID NO:94)

Hu4F11-75 = Cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S (región variable humanizada de la cadena pesada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO:84) más cadena ligera de longitud completa Hu4F11 Kv2D-29 N28Y (región variable de la cadena kappa humanizada y región constante de Kappa humana)

(SEQ ID NO:94)

Hu4F11-76 = Cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S (región variable de la cadena pesada humanizada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO:80) más cadena ligera de longitud completa Hu4F11 Kv2D-29 N28Y (región variable de la cadena de Kappa humanizada y región constante de Kappa humana) (SEQ ID NO:94)

Hu4F11-77 = Cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S (región variable humanizada de la cadena pesada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO:82) más cadena ligera de longitud completa Hu4F11 Kv2D-29 N28Q (región variable de la cadena Kappa humanizada y región constante de Kappa humana) (SEQ ID NO:92)

Hu4F11-78 = Cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S (región variable humanizada de la cadena pesada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO:78) más cadena ligera de longitud completa Hu4F11 Kv2D-29 N28Q (región variable de la cadena Kappa humanizada y región constante de Kappa humana) (SEQ ID NO:92)

Hu4F11-79 = Cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S (región variable humanizada de la cadena pesada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO:84) más cadena ligera de longitud completa Hu4F11 Kv2D-29 N28Q (región variable de la cadena kappa humanizada y región constante de Kappa humana) (SEQ ID NO:92)

Hu4F11-80 = Cadena pesada de longitud completa Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S (región variable de la cadena pesada humanizada y región constante de IgG1 humana) (SEQ ID NO:80) más cadena ligera de longitud completa Hu4F11 Kv2D-29 N28Q (región variable de la cadena de Kappa humanizada y región constante de Kappa humana) (SEQ ID NO:92)

Ejemplo 9: Afinidades de unión de anticuerpos monoclonales anti-Notch3 humanizados y quiméricos

Las afinidades de unión y la cinética de la unión de anticuerpos quiméricos y humanizados a la proteína de fusión (rhNotch3 monomérico) del dominio extracelular de Notch3 monomérico recombinante humano (que contiene los dominios 1-11 de tipo EGF) y la proteína de fusión (rcNotch3 monomérica) del dominio extracelular de Notch3 monomérico recombinante de mono Cynomologus (que contiene dominios extracelulares de EGF 1-12) se midió por resonancia de plasmón superficial, utilizando un instrumento BIAcore® T100 (GE Healthcare, Piscataway, NJ).

Anti-IgG humanas de cabra (específicas del fragmento Fc, Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) se inmovilizaron en chips sensores CM4 de dextrano carboximetilados mediante acoplamiento de amina, según un protocolo estándar. Los análisis se realizaron a 25 y 37 °C utilizando PBS que contiene 0,05 % de tensioactivo P20 como tampón de ejecución. Los anticuerpos se capturaron en células de flujo individuales a un caudal de 10 µl/minuto. El tiempo de inyección se varió para cada anticuerpo para producir una R_{max} entre 30 y 60 RU. El tampón o proteína Notch3 diluido en tampón de ejecución se inyectó secuencialmente sobre una superficie de referencia (sin anticuerpo capturado) y la superficie activa (anticuerpo que se debe ensayar) durante 240 segundos a 60 µl/minuto. La fase de disociación fue controlada durante hasta 900 segundos. A continuación, la superficie se regeneró con dos inyecciones de 60 segundos de glicina-HCl 10 mM, pH 2,25, a un caudal de 30 µl/minuto. El intervalo de concentración de Notch3 ensayado fue de 50 nM a 6,25 nM.

Los parámetros cinéticos se determinaron utilizando la función cinética del software BIAevaluation (GE Healthcare) con doble resta de referencia. Se determinaron los parámetros cinéticos para cada anticuerpo, k_a (constante de velocidad de asociación), k_d (constante de velocidad de disociación) y K_D (constante de disociación de equilibrio). Los valores cinéticos de los anticuerpos monoclonales purificados en rcNotch3 monomérico a 25 °C se resumen en la **Tabla 14**.

Tabla 14

	k _a (1/Ms)	k _d (1/s)	K _d (M)	n
Hu4F11-1	4,8E+05	1,0E-02	2,4E-08	5
Hu4F11-32	7,9E+05	7,5E-03	1,8E-08	8
Hu4F11-69	1,2E+05	9,4E-04	7,7E-09	1
Hu4F11-70	2,0E+05	1,0E-03	5,2E-09	1
Hu4F11-71	1,5E+06	4,0E-03	2,7E-09	1
Hu4F11-71	2,8E+06	4,5E-03	1,6E-09	1
Hu4F11-73	7,6E+05	1,9E-03	2,6E-09	1
Hu4F11-74	9,0E+05	2,5E-03	2,8E-09	1
Hu4F11-75	7,2E+05	2,6E-03	3,7E-09	1
Hu4F11-76	7,8E+05	1,9E-03	2,5E-09	1
Hu4F11-77	9,6E+05	2,5E-03	2,6E-09	1

(continuación)

	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_d (M)	n
Hu4F11-78	1,8E+06	3,8E-03	2,2E-09	1
Hu4F11-79	1,3E+06	4,6E-03	3,4E-09	1
Hu4F11-80	8,2E+05	3,2E-03	4,0E-09	1

5 Se realizaron mediciones cinéticas adicionales para cada anticuerpo mostrado en la **Tabla 14**. Estas mediciones confirmaron que los anticuerpos tienen afinidades que van desde aproximadamente 1 nM a aproximadamente 25 nM para rcNotch3 monomérico a 25 °C.

Los valores cinéticos de los anticuerpos monoclonales purificados en rcNotch3 monomérico a 37 °C se resumen en la **Tabla 15**.

10

Tabla 15

Anticuerpo	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_d (M)	n
Hu4F11-32	5,0E+05	1,6E-02	3,2E-08	5
Hu4F11-69	4,0E+05	3,8E-03	1,1E-08	3
Hu4F11-70	3,7E+05	2,9E-03	9,1E-09	3
Hu4F11-71	4,1E+05	5,6E-03	1,4E-08	3
Hu4F11-72	4,4E+05	3,2E-03	9,8E-09	3
Hu4F11-73	5,0E+05	6,3E-03	1,5E-08	3
Hu4F11-74	4,4E+05	4,5E-03	1,2E-08	3
Hu4F11-75	3,8E+05	8,9E-03	2,4E-08	3
Hu4F11-76	5,4E+05	6,2E-03	1,2E-08	3
Hu4F11-77	9,1E+05	1,0E-02	1,2E-08	3
Hu4F11-78	6,6E+05	7,0E-03	1,1E-08	3
Hu4F11-79	9,8E+05	2,1E-02	2,3E-08	3
Hu4F11-80	9,1E+05	1,0E-02	1,2E-08	3

Se realizaron mediciones cinéticas adicionales para cada anticuerpo mostrado en la **Tabla 15**. Estas mediciones confirmaron que los anticuerpos tienen afinidades que van desde aproximadamente 9 nM a aproximadamente 35 nM para rcNotch3 monomérico a 37 °C.

15

Los valores cinéticos de los anticuerpos monoclonales purificados en rhNotch3 monomérico a 37 °C se resumen en la **Tabla 16**.

Tabla 16

Anticuerpo	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_d (M)	n
Hu4F11-32	1,7E+06	4,6E-03	2,7E-09	1
Hu4F11-69	1,3E+06	3,8E-03	2,9E-09	1
Hu4F11-70	9,4E+05	2,8E-03	3,0E-09	1
Hu4F11-71	1,2E+06	3,7E-03	3,0E-09	1
Hu4F11-72	1,8E+05	9,4E-04	5,2E-09	1
Hu4F11-73	2,1E+05	1,3E-03	5,9E-09	1
Hu4F11-74	5,6E+05	2,2E-03	3,9E-09	1
Hu4F11-75	2,7E+06	9,0E-03	3,4E-09	1
Hu4F11-76	1,7E+06	5,5E-03	3,3E-09	1
Hu4F11-77	2,2E+06	7,3E-03	3,3E-09	1
Hu4F11-78	1,5E+06	5,5E-03	3,8E-09	1
Hu4F11-79	1,8E+06	6,0E-03	3,2E-09	1
Hu4F11-80	1,1E+06	4,1E-03	3,8E-09	1

20

Se realizaron mediciones cinéticas adicionales para cada anticuerpo mostrado en la **Tabla 16**. Las mediciones adicionales se promediaron junto con las presentadas en la **Tabla 16**. Estas mediciones combinadas indicaron que los anticuerpos tienen afinidades que van desde aproximadamente 7 nM a aproximadamente 16 nM para rhNotch3 monomérico a 37 °C (**Tabla 17**).

25

Tabla 17

Anticuerpo	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_d (M)	n
Hu4F11-32	7,4E+06	8,4E-02	7,6E-09	2
Hu4F11-69	7,1E+05	3,7E-03	8,5E-09	3
Hu4F11-70	6,9E+05	3,9E-03	7,5E-09	4
Hu4F11-71	1,1E+06	9,5E-03	9,2E-09	3
Hu4F11-72	7,1E+05	6,9E-03	7,0E-09	4

(continuación)

Anticuerpo	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_d (M)	n
Hu4F11-73	4,9E+05	4,6E-03	1,1E-08	3
Hu4F11-74	4,9E+05	5,1E-03	1,0E-08	4
Hu4F11-75	1,7E+06	1,3E-02	1,0E-08	3
Hu4F11-76	9,8E+05	6,4E-03	8,2E-09	3
Hu4F11-77	1,2E+06	7,4E-03	8,6E-09	3
Hu4F11-78	8,2E+05	6,0E-03	9,0E-09	4
Hu4F11-79	9,0E+05	9,1E-03	1,6E-08	3
Hu4F11-80	5,9E+05	5,6E-03	1,4E-08	3

Los resultados en las **Tablas 14-17** demuestran que los anticuerpos quiméricos y cada uno de los humanizados, tienen velocidades de asociación rápidas (k_a), velocidades de disociación muy lentas (k_d) y afinidades muy elevadas (K_D). En particular, los anticuerpos tienen afinidades que van desde aproximadamente 1 nM hasta aproximadamente 35 nM.

Ejemplo 10: Unión de anticuerpos 4F11 humanizados a Notch3 expresado en la superficie celular

La unión de las variantes de 4F11 humanizadas al receptor Notch3 de la superficie celular se confirmó mediante FACS. Las líneas de CHO FlpIn™ que expresan Notch3 humano de forma estable, o líneas de CHO FlpIn™ que no expresan receptores Notch humanos, se utilizaron para experimentos de unión. Las células CHO se recogieron utilizando un tampón de disociación celular (Life Technologies, Grand Island, NY) y se volvieron a suspender en 2,5 x 10⁶ células/ml en PBS/BSA al 0,5 %. Se agregaron 100 µl de suspensión celular por muestra a una placa con fondo en V de 96 pocillos. Se añadieron anticuerpos humanizados 4F11 o IgG humana a 5 µg/ml a los pocillos, se mezclaron e incubaron en hielo durante una hora. Después de lavar con PBS/BSA al 0,5 %, se añadió anticuerpo secundario conjugado con PE humano a una dilución 1:100 en PBS/BSA al 0,5 % y se dejó incubar en hielo en la oscuridad durante 30 minutos. Las células se lavaron con PBS/BSA al 0,5 %, luego se resuspendió en 300 µl de PBS/BSA al 0,5 % y se realizó un análisis FACS. La expresión del receptor Notch3 humano se confirmó utilizando PE anti-Notch3 humano (BioLegend, San Diego, CA) como control positivo. El análisis FACS confirmó que las variantes del anticuerpo 4F11 humanizado se unen a Notch3 humano expresado en la superficie celular.

Ejemplo 11: Inhibición de la escisión de ICD de Notch3 inducida por ligando con anticuerpos 4F11 humanizados

Se ensayaron las variantes de 4F11 humanizadas seleccionadas para determinar su capacidad para inhibir la activación de Notch3 inducida por ligando, como se mide por la presencia de ICD escindido. La línea celular de cáncer de mama MDA-MB-468, que expresa Notch3 humano endógeno, se colocó en placas de 96 pocillos previamente recubiertas con proteína de fusión hJag2-mFc. Los pocillos se prepararon diluyendo Fc de ratón α (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) a 5 µg/ml en un tampón de recubrimiento de carbonato-bicarbonato esterilizado por filtración, pH 9,4 (Thermo Fisher Scientific, Rockland, MD). A continuación, se agregaron 100 µl del anticuerpo diluido a cada pocillo de una placa Maxisorp™ de 96 pocillos y se incubó durante la noche a 4 °C. Al día siguiente, los pocillos se lavaron tres veces con PBS/BSA al 0,5 % antes de agregar 100 µl de proteína de fusión Jag2-mFc soluble o Fc de IgG de ratón (Jackson Immunolabs) diluida a 5 µg/ml en PBS/BSA al 0,5 %. Después de incubarse durante dos horas a temperatura ambiente en un agitador orbital, los pocillos se lavaron tres veces con PBS/BSA al 0,5 % para eliminar el ligando no unido. Las células MDA-MB-468 se contaron y se volvieron a suspender en medios de crecimiento frescos a 0,4 x 10⁶ células/ml. Las células se preincubaron con 10 µg/ml de los anticuerpos humanizados 4F11 durante 30 minutos a 37 °C, antes de sembrar 100 µl de la suspensión en placas de 96 pocillos recubiertas con ligando hJag2-mFc o mFc. Estas se incubaron durante la noche a 37 °C. Al día siguiente, los pocillos se lavaron suavemente con PBS enfriado con hielo, a continuación, las células se recogieron agregando tampón RIPA que contiene inhibidores de proteasa directamente al pocillo. Los lisados se clarificaron por centrifugación en una microcentrífuga refrigerada. Los sobrenadantes se hirvieron con tampón de muestra SDS 5X antes de cargarlos en un gel SDS PAGE y transferencia de Western. Las transferencias se exploraron con un anticuerpo α -Notch3 para detectar el dominio intracelular escindido (Cell Signaling, Danvers, MA). Las mismas transferencias también se sondaron con anti- β tubulina (Cell Signaling) para usar como control de carga. Las bandas se cuantificaron utilizando el software ImageLab (BioRad, Hercules, CA) y los valores se ajustaron en relación con sus respectivos controles de carga. A continuación, cada muestra se normalizó con respecto al valor de la banda de ICD de Notch3 de las células colocadas en placas en pocillos sin ligando en presencia del anticuerpo de control hIgG.

Las variantes del anticuerpo 4F11 humanizado inhiben significativamente la escisión inducida por ligando de ICD de Notch3 como se resume en la **Figura 11**.

Ejemplo 12: Inhibición de la transcripción dependiente de Notch3 por anticuerpos 4F11 humanizados

Se usaron ensayos de indicador de luciferasa para evaluar la capacidad de ciertos anticuerpos 4F11 humanizados

para inhibir la señalización del receptor Notch3 dependiente de ligando y la actividad transcripcional. Las líneas de indicador HCC1143 cocultivadas con células CHO que expresan ligandos Notch se utilizaron para estos ensayos.

5 Se produjeron líneas estables que expresaban ligandos de Notch de longitud completa en la superficie celular transfectando células CHO FlpIn™ con Jag1, Jag2, Los ADNc de DLL1 o DLL4 se clonaron en el vector pcDNA5FRT utilizando Lipofectamine 2000 (Life Technologies) de acuerdo con el protocolo del fabricante. Veinticuatro horas después de la transfección, las células CHO se dividieron en medio F12 que contenía FBS al 10 %, 2 mM de L-glutamina y 700 µg/ml de higromicina B (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) para seleccionar las células transfectadas. La expresión de los ligandos de Notch se confirmó mediante análisis FACS utilizando anticuerpos contra Jag1 (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN), Jag2 (R&D Systems), DLL1 (R&D Systems) y DLL4 (BioLegend, San Diego, CA).

15 Las líneas de CHO FlpIn™ que expresan de forma estable los ligandos de Notch se tripsinizaron, se contaron y se sembraron en placas de 96 pocillos a 60K células/pocillo en 100 µl de medio F12 K de Ham sin higromicina B. Al día siguiente, Las células indicadoras HCC1143 se centrifugaron y se volvieron a suspender en medios RPMI que contenían un 2 % de FBS a $0,2 \times 10^6$ células/ml. Los anticuerpos se diluyeron en RPMI sin FBS, y se agregaron 100 µl de solución de anticuerpo a un volumen igual de células indicadoras durante 30 minutos a 37 °C en una incubadora con CO2 al 5 %. Después de eliminar de los medios las células CHO hJag2, se añadieron 100 µl de la mezcla de indicador/anticuerpo HCC1143 a las células que expresaban el ligando y se dejaron incubar a 37 °C durante la noche. Veinticuatro horas después, se colocaron las placas de 96 pocillos a temperatura ambiente durante 20 minutos, después, se procesaron con el protocolo de ensayo indicador Bright Glo (Promega, Madison, WI) según las instrucciones del fabricante. Los lisados se transfirieron a placas de 96 pocillos de pared blanca (Greiner Bio-One, Frickenhausen, Alemania) y se leyeron en un luminómetro GloMax (Promega) usando el programa Bright Glo.

25 Como se muestra en la **Figura 12A-B**, las variantes del anticuerpo 4F11 humanizadas inhiben la activación de la transcripción inducida por ligando en la línea celular indicadora HCC1143.

Ejemplo 13: Inhibición de la escisión de ICD de Notch3 *In vivo*

30 Los anticuerpos 4F11 humanizados seleccionados (es decir, Hu4F11-70, Hu4F11-72, Hu4F11-78) se ensayaron para determinar su capacidad para inhibir la escisión de ICD de Notch3 expresado en tumores HCC2429 *in vivo*.

35 Todos los ratones fueron tratados de acuerdo con la Política del Servicio de Salud Pública de la OLAW sobre Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio y la Guía ILAR para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio. Todos los estudios *in vivo* se realizaron siguiendo los protocolos aprobados por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales AVEO. HCC2429 es una línea celular de cáncer de pulmón que alberga una translocación del cromosoma 19 que produce una sobreexpresión del receptor Notch3. Para los experimentos de escisión de ICD de Notch3, ratones lampiños de NCR de aproximadamente trece semanas de edad (Taconic, Germantown, NY) se inocularon por vía subcutánea en el flanco derecho con 5×10^6 células en 1:1 DMEM + Matrigel (Invitrogen, Carlsbad, CA)/Matrigel (BD Biosciences, San Jose, CA). Las mediciones tumorales se tomaron dos veces por semana, utilizando pinzas de vernier. El volumen tumoral se calculó usando la siguiente fórmula: $V = 0,5 \times \text{ancho} \times \text{ancho} \times \text{largo}$. Cuando los tumores se acercaron a un volumen de 300-400 mm³, los ratones se asignaron al azar en grupos de tres animales cada uno (corresponde al ratón 1 (m1) al ratón 3 (m3), como se designa en la **Figura 13**). Al día siguiente, los ratones se trataron con 20 mg/kg de hlgG (control), o 20 mg/kg de anticuerpos Hu4F11-70, Hu4F11-72, Hu4F11-78 o 4F11 murino (mu4F11) por inyección intraperitoneal. Los ratones se dosificaron una vez, y los tumores se recogieron 24 horas después y se congelaron rápidamente.

45 Para evaluar los niveles de ICD de Notch3 escindido, los tumores se pulverizaron utilizando un impactador cryoPREP™ de Covaris (Covaris, Woburn, MA), se volvieron a suspender en tampón RIPA (Boston BioProducts) que contenía inhibidores de proteasa y se rotaron a 4 °C durante 1 hora. Los lisados se clarificaron mediante centrifugación a 14k rpm durante 15 minutos en una microcentrífuga refrigerada. La concentración de proteínas para cada muestra se midió utilizando el ensayo de proteínas DC de BioRad (BioRad). Concentraciones iguales de proteína de cada muestra se cargaron en un gel de SDS PAGE y se transfirieron a nitrocelulosa mediante transferencia de Western. Las transferencias se exploraron con anticuerpo contra el extremo C de Notch3 (Cell Signaling) para detectar los niveles del ICD escindido. Las transferencias también se exploraron con el anticuerpo contra β-tubulina (Cell Signaling) para su uso como control de carga. Las bandas se cuantificaron utilizando el software Image Lab 3.0 (BioRad) y la intensidad de las bandas de ICD de Notch3 se normalizó a su respectivo control de carga de β-tubulina. Todos los anticuerpos 4F11 humanizados ensayados (es decir, Hu4F11-70, Hu4F11-72, Hu4F11-78) inhiben significativamente la activación de Notch3 *in vivo*, según lo medido por los niveles de ICD de Notch3 presentes en tumores 24 horas después del tratamiento con anticuerpos de dosis única (**Figura 13**).

60 Las realizaciones anteriores se deben considerar en todos los aspectos ilustrativos en lugar de limitarse a la invención descrita en este documento. De este modo, el alcance de la invención se indica por las reivindicaciones adjuntas en lugar de por la descripción anterior, y todos los cambios que vienen dentro del significado y del intervalo de equivalencia de las reivindicaciones se pretende que se incluyan en el mismo.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> AVEO PHARMACEUTICALS, INC.

5 <120> ANTICUERPOS ANTI-NOTCH3

<130> AVO-030PC

10 <140>
<141>

<150> 61/866.787
<151> 16-08-2013

15 <150> 61/739.435
<151> 19-12-2012

<160> 96

20 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
<211> 360
<212> ADN

25 <213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

30 <400> 1

gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttagtgaagc ctggagggtc cctgaaactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cgctttcagt agctatgaca tgtcttgggt tgcgagact 120

ccggagaaga ggctggagtg ggctgcatac attagtcgtg gtggtggtag cacctactat 180

ccagacactg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa caccctgtac 240

ctgcaaatga gcagtctgaa gtctgaggac acagccatgt attactgtgg aagacatgct 300

actacggcct actggtactt cgatgtctgg ggcgcagga ccacggtcac cgtctctca 360

35 <210>2
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

45 <400> 2

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 Ala Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

ES 2 737 649 T3

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr 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

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

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210>3
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

<400>3

gatgttgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttgaga tcaagcctcc 60
 atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacactaatg gcaacaccta tttacattgg 120
 tacctgcaga agccaggcca gtctcctaaa ctcctgatct acaaagtttc caaccgattt 180
 tctgggggtcc cagacagggt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240
 agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg 300
 tggacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaaa 336

<210>4
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

<400> 4

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

ES 2 737 649 T3

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

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

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

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

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

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

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

10 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400>5

Ser Tyr Asp Met Ser
 1 5

15 <210>6
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

25 <400> 6

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

30 Gly
 <210>7
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

ES 2 737 649 T3

<400>7

His Ala Thr Thr Ala Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

5

<210>8
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

15

<400> 8

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Thr Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

20

<210>9
<211>7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25

<220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 9

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

30

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

35

<220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

40

<400> 10

Ser Gln Ser Thr His Val Pro Trp Thr
1 5

45

<210> 11
<211>7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

50

<220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

55

<400> 11

ES 2 737 649 T3

Gly Phe Ala Phe Ser Ser Tyr
1 5

5 <210> 12
<211>6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 12

Ser Arg Gly Gly Gly Ser
1 5

15 <210> 13
<211> 45
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético"

25 <400> 13

ctaatacgcac tcactatagg gcaagcagtg gtatcaacgc agagt 45

30 <210> 14
<211>8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 14

Gly Phe Ala Phe Ser Ser Tyr Asp
1 5

40 <210> 15
<211>8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

50 <400> 15

Ile Ser Arg Gly Gly Gly Ser Thr
1 5

55 <210> 16
<211> 13
<212> PRT

ES 2 737 649 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

5 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 16

	Gly	Arg	His	Ala	Thr	Thr	Ala	Tyr	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val
	1				5					10			

10

<210> 17

<211> 22

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<221> fuente

<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético"

20

<400> 17

ctaatacgac tcactatagg gc 22

25

<210> 18

<211> 21

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<221> fuente

<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético"

<400> 18

35

tatgcaaggc ttacaaccac a 21

40

<210> 19

<211> 23

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

45

<220>

<221> fuente

<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético"

<400> 19

cgactgaggc acctccagat gtt 23

50

<210> 20

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

55

<220>

<221> fuente

<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 20

60

	Gln	Ser	Leu	Val	His	Thr	Asn	Gly	Asn	Thr	Tyr
	1				5					10	

ES 2 737 649 T3

<210>21
 <211> 17
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético"
 10
 <400> 21

 gtaaaacgac ggccagt 17

 15 <210> 22
 <211> 972
 <212> ADN
 <213> *Mus* sp.

 20 <400> 22

 gccaaaacga ccccccatc tgtctatcca ctggcccctg gatctgctgc ccaaactaac 60
 tccatggtga ccctgggatg cctggtcaag ggctatttcc ctgagccagt gacagtgacc 120
 tggaaactctg gatccctgtc cagcgggtg cacaacctcc cagctgtcct gcagctctgac 180
 ctctacactc tgagcagctc agtgactgtc ccctccagca cctggcccag cgagaccgtc 240
 acctgcaacg ttgcccaccc ggccagcagc accaaggtgg acaagaaaat tgtgcccagg 300
 gattgtggtt gtaagccttg catatgtaca gtcccagaag tatcatctgt cttcatcttc 360
 ccccaaagc ccaaggatgt gctcaccatt actctgactc ctaaggtcac gtgtggtgtg 420
 gtagacatca gcaaggatga tcccagggtc cagttcagct ggttttaga tgatgtggag 480
 gtgcacacag ctgagacgca accccgggag gagcagttca acagcacttt cgcctcagtc 540
 agtgaacttc ccatcatgca ccaggactgg ctcaatggca aggagttcaa atgcagggtc 600
 aacagtgcag ctttccctgc ccccatcgag aaaaccatct ccaaaaccaa aggcagaccg 660
 aaggctccac aggtgtacac cattccacct cccaaggagc agatggccaa ggataaagtc 720
 agtctgacct gcatgataac agacttcttc cctgaagaca ttactgtgga gtggcagtg 780
 aatgggcagc cagcggagaa ctacaagaac actcagccca tcatggacac agatggctct 840
 tacttctgtct acagcaagct caatgtgcag aagagcaact gggaggcagg aaatactttc 900

 acctgctctg tgttacatga gggcctgcac aaccaccata ctgagaagag cctctcccac 960
 tctcctggta aa 972

 25 <210> 23
 <211> 324
 <212> PRT
 <213> *Mus* sp.

 <400> 23

ES 2 737 649 T3

Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala
1 5 10 15

Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu
50 55 60

Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val
65 70 75 80

Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
85 90 95

Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro
100 105 110

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

Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser
130 135 140

Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu
145 150 155 160

Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
165 170 175

Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn
180 185 190

Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro
195 200 205

ES 2 737 649 T3

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln
 210 215 220

Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val
 225 230 235 240

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

Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln
 260 265 270

Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn
 275 280 285

Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val
 290 295 300

Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His
 305 310 315 320

Ser Pro Gly Lys

5 <210> 24
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> *Mus* sp.

<400> 24

cgggctgatg ctgcaccaac tgtatccatc ttcccacat ccagtgagca gttaacatct 60
 ggaggtgcct cagtcgtgtg cttcttgaac aacttctacc ccaaagacat caatgtcaag 120
 tggaagattg atggcagtga acgacaaaat ggcgtcctga acagttggac tgatcaggac 180
 agcaaagaca gcacctacag catgagcagc accctcacgt tgaccaagga cgagtatgaa 240
 cgacataaca gctatacctg tgaggccact cacaagacat caacttcacc cattgtcaag 300
 agcttcaaca ggaatgagtg t 321

10

15 <210> 25
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> *Mus* sp.

<400> 25

ES 2 737 649 T3

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu
 1 5 10 15

Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe
 20 25 30

Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg
 35 40 45

Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60

Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu
 65 70 75 80

Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser
 85 90 95

Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
 100 105

<210> 26

<211> 1332

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 26

ES 2 737 649 T3

gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttagtgaagc ctggagggtc cctgaaactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cgctttcagt agctatgaca tgtcttgggt tcgccagact 120
 ccggagaaga ggctggagtg ggtcgcatac attagtcgtg gtggtggtag cacctactat 180
 ccagacactg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa caccctgtac 240
 ctgcaaatga gcagtctgaa gtctgaggac acagccatgt attactgtgg aagacatgct 300
 actacggcct actggtactt cgatgtctgg ggcgcaggga ccacggtcac cgtctcctca 360
 gccaaaacga ccccccatc tgtctatcca ctggcccctg gatctgctgc ccaaactaac 420
 tccatggtga ccctgggatg cctggtcaag ggctatttcc ctgagccagt gacagtgacc 480
 tggaactctg gatccctgtc cagcgggtgtg cacaccttcc cagctgtcct gcagtctgac 540
 ctctacactc tgagcagctc agtgactgtc ccctccagca cctggcccag cgagaccgtc 600
 acctgcaacg ttgccacccc ggccagcagc accaaggtgg acaagaaaat tgtgcccagg 660
 gattgtgggt gtaagccttg catatgtaca gtcccagaag tatcatctgt cttcatcttc 720
 cccccaaagc ccaaggatgt gctcaccatt actctgactc ctaaggtcac gtgtgtttgtg 780
 gtagacatca gcaaggatga tcccgaggtc cagttcagct ggttttaga tgatgtggag 840
 gtgcacacag ctcagacgca accccgggag gagcagttca acagcacttt ccgctcagtc 900

 agtgaacttc ccatcatgca ccaggactgg ctcaatggca aggagttaa atgcagggtc 960
 aacagtgcag ctttccctgc ccccatcgag aaaaccatct ccaaaaccaa aggcagaccg 1020
 aaggctccac aggtgtacac cattccacct cccaaggagc agatggccaa ggataaagtc 1080
 agtctgacct gcatgataac agacttcttc cctgaagaca ttactgtgga gtggcagtggt 1140
 aatgggcagc cagcggagaa ctacaagaac actcagccca tcatggacac agatggctct 1200
 tacttctct acagcaagct caatgtgcag aagagcaact gggaggcagg aaatactttc 1260
 acctgctctg tgttacatga gggcctgcac aaccaccata ctgagaagag cctctcccac 1320
 tctcctggta aa 1332

5 <210> 27
 <211> 444
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 27

ES 2 737 649 T3

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 Ala Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr 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

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

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

 Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr
 130 135 140

ES 2 737 649 T3

Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr
145 150 155 160

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

Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala
195 200 205

Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys
210 215 220

Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe
260 265 270

Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro
275 280 285

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

Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val
305 310 315 320

Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr
325 330 335

Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys
340 345 350

Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp
355 360 365

Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro
370 375 380

Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser
385 390 395 400

ES 2 737 649 T3

Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala
 405 410 415

Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His
 420 425 430

His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
 435 440

5 <210> 28
 <211> 657
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 28

gatgttgatga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60
 atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacactaatg gcaacaccta ttacattgg 120
 tacctgcaga agccaggcca gtctccaaaa ctctgatct acaaagtttc caaccgattt 180
 tctgggggtcc cagacagggt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240
 agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg 300
 tggacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaaacggg ctgatgctgc accaactgta 360
 tccatcttcc caccatccag tgagcagtta acatctggag gtgcctcagt cgtgtgcttc 420
 ttgaacaact tctaccccaa agacatcaat gtcaagtgga agattgatgg cagtgaacga 480
 caaaatggcg tcttgaacag ttggactgat caggacagca aagacagcac ctacagcatg 540
 agcagcacc tcacgttgac caaggacgag tatgaacgac ataacagcta tacctgtgag 600
 gccactcaca agacatcaac ttcaccatt gtcaagagct tcaacaggaa tgagtgt 657

15 <210> 29
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

25 <400> 29

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

ES 2 737 649 T3

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

<210> 30

<211> 18

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético"

<400> 30

ES 2 737 649 T3

caggaacag ctatgacc 18

5 <210> 31
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 31

gaggtacagc ttgtcgagtc gggaggagga ttggtaaaac cgggtgggtc actcaaattg 60

tcgtgtgctg cgctcgggatt tgcgttttcg tcgtatgata tgcctgtgggt gcgccagacg 120

ccggaaaaac gattggaatg ggtcgcgtat atctcccag ggggaggttc gacatactat 180

cccagacacgg tcaaagggcg cttcacgatt tcacgggaca atgcgaaaaa cacgctttat 240

cttcaaattgt cgctcgttgaa atcggaagat accgcgatgt attactgcgg gaggcattgcg 300

15 acgacggcgt attggtatct cgatgtgtgg ggagccggaa cgacggtgac ggtgtcgtcg 360

20 <210> 32
<211> 336
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

25 <400> 32

gacgtggtaa tgacgcagac gccgttgtcc cttcctgtct cgctcggaga tcaggcgtcg 60

atctcgtgta gaagctcgca gtcactcgtc cataccaacg ggaatacata tcttcaactgg 120

tatttgcaaa agcccggaca gtcaccgaag ctcttgatct acaaagtatc caatcggttt 180

tcgggggtgc ccgaccgatt ctcgggatcg ggttcgggga cggattttac gttgaagatt 240

tcgcgggtgg aagcggagga tctcgggtgc tacttttgtt cgcagtcaac gcatgtcccg 300

tggacgttcg gaggcgggac aaaacttgag atcaag 336

30 <210> 33
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

40 <400> 33

ES 2 737 649 T3

gaagtacagt tgttgagtc aggaggaggg ttgggtccagc cgggtggatc gttgcggctt 60
 tcgtgtgctg cgtcgggatt cgcgttttca tcgtatgaca tgtcgtgggt gaggcaggca 120
 ccggggaaag ggcttgaatg ggtatcgtac atttcgagag ggggaggatc gacgtattac 180
 ccggatacgg taaaaggaag gtttacgata tcgcgcgaca attcaaagaa tacgctttat 240
 cttcagatga actcgtccg agcgggaagat acggcggtat actattgcgg tcgccatgcg 300
 acgacggcgt attggtatct cgatgtgtgg ggacaaggga cgatggtcac ggtgtcgtcg 360

5 <210> 34
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 10 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 34

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 Ala Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Arg Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr 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
 Gly Arg His Ala Thr Thr Ala Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

15 <210> 35
 <211> 360
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

5 <400> 35

```

gaagtacagt tgttggagtc aggaggaggg ttggtccagc cgggtggatc gttgcggctt      60
tcgtgtgcgg cgtcgggatt caccttttca cactatgaca tgctgtgggt gaggcaggca      120
ccggggaaaag ggcttgaatg ggtatcgtac atttcgagag ggggaggatc gacgtattac      180
ccggattccg tgaaaggaag gtttacgata tcgcgcgaca attcaaagaa tacgctttat      240
cttcagatga actcgctccg agcgggaagat acggcgggat actattgcgg tcgccatgcg      300
acgacggcgt attggtatth cgatgtgtgg ggacaagga cgatggtcac ggtgtcgtcg      360
    
```

10 <210> 36
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

<400> 36

```

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 His Tyr
          20          25          30

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

Ser Tyr Ile Ser Arg Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro 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

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

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
          115          120
    
```

20 <210> 37

ES 2 737 649 T3

<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

10 <400> 37

```
gaagtacagt tgttggagtc aggaggaggg ttggtccagc cgggtggatc gttgcggctt      60
tcgtgtgctg cgtcgggatt cgcgttttca cactatgaca tgcctgtggg gaggcaggca      120
ccggggaaag ggcttgaatg ggtatcgtac atttcgagag ggggaggatc gacgtattac      180
ccggattccg tgaaaggaag gtttacgata tcgctgcgaca attcaaagaa tacgctttat      240
cttcagatga actcgtctcg agcgggaagat acggcgggat actattgcgg tcgcatgcg      300
acgacggcgt attggtattt cgatgtgtgg ggacaaggga cgatggtcac ggtgtcgtcg      360
```

15 <210> 38
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

<400> 38

ES 2 737 649 T3

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 Ala Phe Ser His Tyr
 20 25 30
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Arg Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro 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
 Gly Arg His Ala Thr Thr Ala Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

5 <210> 39
 <211> 360
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"
 <400> 39

gaagtacagt tgttggagtc aggaggaggg ttggtccagc cgggtggatc gttgcggctt 60
 tcgtgtgctg cgctcgggatt caccttttca aactatgaca tgcgtgggt gaggcaggca 120
 ccggggaaag ggcttgaatg ggtatcgtac atttcgagag ggggaggatc gacgtattac 180
 ccgattccg tgaaggaag gtttacgatc tcgcgcgaca attcaaagaa tacgctttat 240
 cttcagatga actcgctccg agcgggaagat acggcggtat actattgctg tcgcatgctg 300
 acgacggcgt attggtatct cgatgtgtgg ggacaagggg cgatggtcac ggtgtcgtcg 360

15 <210> 40
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>

ES 2 737 649 T3

<221> fuente

<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

<400> 40

5

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

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

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

Ser Tyr Ile Ser Arg Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro 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

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

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser 115 120

10

<210>41

<211> 360

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<221> fuente

<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

20

<400> 41

gaagtacagt tgttggagtc aggaggaggg ttggtccagc cgggtggatc gttgcggctt 60
tcgtgtgctg cgtcgggatt caccttttca tcgtatgaca tgcgtgggt gaggcaggca 120
ccggggaaag ggcttgaatg ggtatcgtac atttcgagag ggggaggatc gacgtattac 180
ccgattccg tgaagaag gtttacgac tcgcgcgaca attcaaagaa tacgctttat 240
cttcagatga actcgtctcg agcgggaagat acggcgggtat actattgctg tcgccatgctg 300
acgacggcgt attggtattt cgatgtgtgg ggacaagga cgatggtcac ggtgtcgtcg 360

25

<210> 42

<211> 120

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 737 649 T3

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

5 <400> 42

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			
Asp	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
		35					40					45				
Ser	Tyr	Ile	Ser	Arg	Gly	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Pro	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		
Gly	Arg	His	Ala	Thr	Thr	Ala	Tyr	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	
			100					105					110			
Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser									
		115					120									

10 <210> 43
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 43

gatgtagtca	tgacccaaac	gccgctttcg	ttgtcgggta	cgcccggaca	gcccgcgtca	60
atctcgtgtc	ggatcatcgca	gtcgttggtgta	cacacaaacg	gtaatacgta	tctccattgg	120
tatctccaga	agcccggcca	gtcgcgcgag	ctcttgatct	acaaagtgag	caatcgcttt	180
tcgggggtgc	cggatcgggt	ctcgggatcg	gggtcaggaa	cggacttcac	gcttaagatt	240
tcgaggggtcg	aggcggagga	tgctcggagtc	tacttttggt	cgcagtccac	acatgtcccc	300
tggacgtttg	ggcaggggac	gaagtgga	atcaag			336

20 <210> 44
 <211> 112

ES 2 737 649 T3

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

<400> 44

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Thr
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

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

10 Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

15 <210> 45
<211> 336
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 45

gatgtagtca tgacccaaac gccgctttcg ttgtcgggtga cgcccggaca gcccgctca 60
atctcgtgtc ggtcatcgca gtcgttggta cacacacacg gtaatacgta tctccattgg 120
tatctccaga agcccggcca gtcgccgcag ctcttgatct acaaagtgag caatcgcttt 180
tcgggggtgc cggatcggtt ctcgggatcg gggtcaggaa cggacttcac gcttaagatt 240
tcgagggctg aggcggagga tgcggagtc tacttttggt cgcagtccac acatgtcccc 300
tggacgtttg ggcaggggac gaaggtggaa atcaag 336

25 <210> 46
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

ES 2 737 649 T3

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

5 <400> 46

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

10 <210> 47
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

20 <400> 47

gatgtagtca	tgacccaaac	gccgctttcg	ttgtcgggtga	cgcccggaca	gcccgcgctca	60
atctcgtgtc	ggcatcgcga	gtcgttggtga	cacacacaag	gtaatacgtg	tctccattgg	120
tatctccaga	agcccggcca	gtcgccgcag	ctcttgatct	acaaagtgag	caatcgcttt	180
tcgggggtgc	cggatcgggt	ctcgggatcg	gggtcaggaa	cggacttcac	gcttaagatt	240
tcgagggctc	aggcggagga	tgtcggagtc	tacttttgtt	cgcagtccac	acatgtcccc	300
tggacgtttg	ggcaggggac	gaaggtggaa	atcaag			336

25 <210> 48
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

ES 2 737 649 T3

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

5 <400> 48

```

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Thr
          20           25           30

Gln Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
          35           40           45

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

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

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

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
          100          105          110
  
```

10 <210> 49
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 49

```

gatgtagtca tgacccaaac gccgctttcg ttgtcgggtga cgcccggaca gcccgcgctca      60
atctcgtgtc ggtcatcgca gtcgttggta cacacatacg gtaatacgta tctccattgg      120
tatctccaga agcccggcca gtgcccgcag ctcttgatct acaaagtgag caatcgcttt      180
tcgggggtgc cggatcgggt ctcgggatcg gggtcaggaa cggacttcac gcttaagatt      240
tcgaggggtcg aggcggagga tgtcggagtc tacttttggt cgcagtccac acatgtcccc      300
tggacgtttg ggcaggggac gaaggtggaa atcaag                                     336
  
```

20
 <210> 50
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

ES 2 737 649 T3

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

5 <400> 50

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

10 <210>51
 <211>5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 51

			His	Tyr	Asp	Met	Ser
20			1				5

<210> 52
 <211>5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

30 <400> 52

			Asn	Tyr	Asp	Met	Ser
			1				5

ES 2 737 649 T3

<210> 53
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5

<220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

10

<400> 53

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

Gly

15

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

20

<220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

25

<400> 54

Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr
1 5

30

<210> 55
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35

<220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 55

Gly Phe Ala Phe Ser His Tyr
1 5

40

<210> 56
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45

<220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

50

<400> 56

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
1 5

55

<210> 57
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

ES 2 737 649 T3

<220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

5 <400> 57

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
1 5

10 <210> 58
<211>8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 58

20 **Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr Asp**
1 5

25 <210> 59
<211>8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 59

Gly Phe Ala Phe Ser His Tyr Asp
1 5

35 <210> 60
<211>8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 60

45

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Asp
1 5

50 <210>61
<211>8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

55 <220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 61

ES 2 737 649 T3

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Asp
 1 5

5 <210> 62
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"
 <400> 62

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Thr His Gly Asn Thr Tyr Leu His

15 1 5 10 15

<210> 63
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"
 25 <400> 63

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Thr Gln Gly Asn Thr Tyr Leu His
 1 5 10 15

30 <210> 64
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"
 40 <400> 64

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Thr Tyr Gly Asn Thr Tyr Leu His
 1 5 10 15

45 <210> 65
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"
 <400> 65

ES 2 737 649 T3

Gln Ser Leu Val His Thr His Gly Asn Thr Tyr
 1 5 10

5 <210> 66
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

<400> 66

Gln Ser Leu Val His Thr Gln Gly Asn Thr Tyr
 1 5 10

15 <210> 67
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético"

25 <400> 67

Gln Ser Leu Val His Thr Tyr Gly Asn Thr Tyr
 1 5 10

30 <210> 68
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

35 <400> 68

ES 2 737 649 T3

gcctcaacaa aaggaccaag tgtggtccca ctgccccta gcagcaagag tacatccggg 60
ggcactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattattttc cagagccagt aaccgtgagc 120
tggaacagtg gagcactcac ttctggtgtc catacttttc ctgctgtcct gcaaagctct 180
ggcctgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc 240
tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aataactaag tcgataagcg ggtggaaccc 300
aagagctgcg acaagactca cacttgtccc ccatgccctg cccctgaact tctgggcggt 360
cccagcgtct ttttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacaccc 420
gaggtgacat gtgttgttgt agacgtttcc cacgaggacc cagaggtaa gttcaactgg 480
tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagtataat 540
agtacatacc gtgtagtcag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa 600
gaatacaaat gcaaagtgtc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt 660
aaggcaaagg ggcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccaccag tagagaggaa 720
atgacaaaga accaagtctc attgacctgc ctggtgaaag gcttctaccc cagcgacatc 780
gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaac cccccagtg 840
ctggatagtg acgggtcttt ctttctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgtgg 900
cagcagggta acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa ccactacacc 960
cagaagtcac tgagcctgag cccaggggaag 990

<210> 69
<211> 330
5 <212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 69

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

10

ES 2 737 649 T3

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

ES 2 737 649 T3

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

5 <210> 70
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 70

cgcacagttg ctgccccag cgtgttcatt ttccaccta gcgatgagca gctgaaaagc 60
 ggtactgcct ctgtcgtatg cttgctcaac aacttttacc cacgtgaggc taaggtgcag 120
 tggaaagtgg ataatgcact tcaatctgga aacagtcaag agtccgtgac agaacaggac 180
 agcaaagact caacttattc actctcttcc accctgactc tgtccaaggc agactatgaa 240
 aaacacaagg tatacgctg cgagggttaca caccagggtt tgtctagtcc tgtcaccaag 300
 tccttcaata ggggcgaatg t 321

10
 15 <210> 71
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 71

cgcacagttg cagccccag cgtgttcatt ttccaccta gcgatgagca gctgaaaagc 60
 ggtactgcct ctgtcgtatg cttgctcaac aacttttacc cacgtgaggc taaggtgcag 120
 tggaaagtgg ataatgcact tcaatctgga aacagtcaag agtccgtgac agaacaggac 180
 agcaaagact caacttattc actctcttcc accctgactc tgtccaaggc agactatgaa 240
 aaacacaagg tatacgctg cgagggttaca caccagggtt tgtctagtcc tgtcaccaag 300
 tccttcaata ggggcgaatg t 321

20 <210> 72
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

ES 2 737 649 T3

<400> 72

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

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

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

5

<210> 73
<211> 1350
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

15

<400> 73

ES 2 737 649 T3

gaggtacagc ttgtcagtc gggaggagga ttggtaaaac cgggtgggtc actcaaattg 60
 tcgtgtgcgg cgtcgggatt tgcgttttcg tcgtatgata tgtcgtgggt gcgccagacg 120
 ccggaaaaac gattggaatg ggtcgcgtat atctcccagag ggggaggttc gacatactat 180
 cccgacacgg tcaaagggcg cttcacgatt tcacgggaca atgcgaaaaa cacgctttat 240
 cttcaaattgt cgtcgttgaa atcgggaagat accgcgatgt attactgagg gaggcattgcg 300
 acgacggcgt attggtatth c gatgtgtgg ggagccggaa cgacggtgac ggtgtcgtcg 360
 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctgcgcccta gcagcaagag tacatccggg 420
 ggcactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattatthtc cagagccagt aaccgtgagc 480
 tggaacagtg gagcactcac ttctgggtgc catactthtc ctgctgtcct gcaaagctct 540
 ggcctgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc 600
 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aatactaagg tcgataagcg ggtggaacct 660
 aagagctgcg acaagactca cacttgtccc ccatgccctg cccctgaact tctgggcggt 720
 cccagcgtct ttttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacacct 780
 gaggtgacat gtgttgttgt agacgtttcc cacgaggacc cagagggtta gttcaactgg 840
 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagtataat 900
 agtacatacc gtgtagtcag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa 960
 gaatacaaat gcaaagtgtc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt 1020
 aaggcaaagg ggcagcctcg tgaaccacag gtgtactc tgccaccag tagagaggaa 1080
 atgacaaaga accaagtctc attgacctgc ctggtgaaag gcttctacct cagcgacatc 1140
 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaac cccccagtg 1200
 ctggatagtg acgggtctth ctttctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgtgg 1260
 cagcagggtg acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa cactacacc 1320
 cagaagtac tgagcctgag cccagggag 1350

<210> 74
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

10

<400> 74

ES 2 737 649 T3

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 Ala Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr 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

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

ES 2 737 649 T3

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

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160

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

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205

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

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320

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

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

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

ES 2 737 649 T3

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

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

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

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

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

Gly Lys
450

- <210> 75
- <211> 1350
- 5 <212> ADN
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- <221> fuente
- 10 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

- <400> 75

ES 2 737 649 T3

gaagtacagt tgttggagtc aggaggaggg ttggtccagc cgggtggatc gttgcggctt 60
 tcgtgtgctg cgtcgggatt cgcgttttca tcgtatgaca tgcctgtggg gaggcaggca 120
 ccggggaaag ggcttgaatg ggtatcgtac atttcgagag ggggaggatc gacgtattac 180
 ccggatacgg tgaaaggaag gtttacgatc tcgcgcgaca attcaaagaa tacgctttat 240
 cttcagatga actcgcctcc agcgggaagat acggcgggat actattgcgg tcgccatgctg 300
 acgacggcgt attggtatct cgatgtgtgg ggacaagggg cgatgggtcac ggtgtcgtcg 360
 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctcgccccta gcagcaagag tacatccggg 420
 ggcactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattatcttc cagagccagt aaccgtgagc 480
 tggaacagtg gagcactcac ttctgggtgc catacttttc ctgctgtcct gcaaagctct 540
 ggctgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc 600
 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aatactaagg tcgataagcg ggtggaacct 660
 aagagctgct acaagactca cacttgtccc ccatgccctg cccctgaact tctgggcggc 720
 cccagcgtct ttttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacacct 780
 gaggtgacat gtgttgttgt agacgtttcc caccgaggacc cagaggttaa gttcaactgg 840

 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagtataat 900
 agtacatacc gtgtagtcag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa 960
 gaatacaaat gcaaagtgtc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt 1020
 aaggcaaagg ggcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccaccag tagagaggaa 1080
 atgacaaaga accaagtctc attgacctgc ctgggtgaaag gcttctacct cagcgacatc 1140
 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaac cccccagtg 1200
 ctggatagtg acgggtcttt ctttctgtac agtaagctga ctgtggacia gtcccgtctg 1260
 cagcagggtg acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacia ccactacacc 1320
 cagaagtcac tgagcctgag cccaggggag 1350

<210> 76

<211> 450

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

<400> 76

ES 2 737 649 T3

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 Ala Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Arg Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr 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
 Gly Arg His Ala Thr Thr Ala Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125

ES 2 737 649 T3

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

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

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

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

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

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

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

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

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

ES 2 737 649 T3

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

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

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

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

Gly Lys
450

- <210> 77
- <211> 1350
- 5 <212> ADN
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- <221> fuente
- 10 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

- <400> 77

ES 2 737 649 T3

gaagtacagt tgttggagtc aggaggaggg ttggtccagc cgggtggatc gttgicggctt 60
 tcgtgtgcgg cgtcgggatt caccttttca cactatgaca tgcctgtgggt gaggcaggca 120
 ccggggaaaag ggcttgaatg ggtatcgtac atttcgagag ggggaggatc gacgtattac 180
 ccggattccg tgaaggaag gtttacgac tgcgcgcaca attcaaagaa tacgctttat 240
 cttcagatga actcgcctcc agcgggaagat acggcgggat actattgcgg tcgccatgcg 300
 acgacggcgt attggtatth cgatgtgtgg ggacaagggg cgatggtcac ggtgtcgtcg 360
 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctgcgcccta gcagcaagag tacatccggg 420
 ggcactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattatthttc cagagccagt aaccgtgagc 480
 tggaacagtg gagcactcac ttctgggtgc catactthttc ctgctgtcct gcaaagctct 540
 ggctgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc 600
 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aataactaagg tcgataagcg ggtggaacct 660
 aagagctgcg acaagactca cacttgtccc ccatgccctg cccctgaact tctgggicgg 720
 cccagcgtct ttttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacacct 780
 gaggtgacat gtgttgttgt agacgtthcc cacgaggacc cagaggttaa gttcaactgg 840
 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagtataat 900
 agtacatacc gtgtagtcag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa 960

gaatacaaat gcaaagtgtc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt 1020
 aaggcaaagg ggcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccaccag tagagaggaa 1080
 atgacaaaga accaagtctc attgacctgc ctggtgaaag gcttctacct cagcgacatc 1140
 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaac cccccagtg 1200
 ctggatagtg acgggtctth cthtctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgtgg 1260
 cagcagggtg acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa cactacacc 1320
 cagaagtcac tgagcctgag cccagggaag 1350

<210> 78
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

10

<400> 78

ES 2 737 649 T3

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 His Tyr
 20 25 30
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Arg Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro 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
 Gly Arg His Ala Thr Thr Ala Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140

ES 2 737 649 T3

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160

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

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205

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

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315

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

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

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

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

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

ES 2 737 649 T3

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

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

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

Gly Lys
450

- <210> 79
- <211> 1350
- 5 <212> ADN
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- <221> fuente
- 10 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

- <400> 79

ES 2 737 649 T3

gaagtacagt tgttggagtc aggaggaggg ttggtccagc cgggtggatc gttgicggctt 60
 tcgtgtgcgg cgtcgggatt cgcgttttca cactatgaca tgcctgtgggt gaggcaggca 120
 ccggggaaaag ggcttgaatg ggtatcgtac atttcgagag ggggaggatc gacgtattac 180
 ccggattccg tgaaaggaag gtttacgatc tcgcgcgaca attcaaagaa tacgctttat 240
 cttcagatga actcgcctccg agcgggaagat acggcgggat actattgcgg tcgccatgcg 300
 acgacggcgt attggtatth cgatgtgtgg ggacaagggg cgatggtcac ggtgtcgtcg 360
 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctcgccccta gcagcaagag tacatccggg 420
 ggcactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattatthtc cagagccagt aaccgtgagc 480
 tggaacagtg gagcactcac ttctgggtgc catactthtc ctgctgtcct gcaaagctct 540
 ggcctgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc 600
 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aatactaagg tcgataagcg ggtggaaccc 660
 aagagctgcg acaagactca cacttgtccc ccatgccctg cccctgaact tctgggcggg 720
 cccagcgtct ttttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacaccc 780
 gaggtgacat gtgttgttgt agacgtthtc cacgaggacc cagaggttaa gttcaactgg 840
 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagtataat 900
 agtacatacc gtgtagtcag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa 960
 gaatacaaat gcaaagtgtc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt 1020
 aaggcaaagg ggcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccaccag tagagaggaa 1080
 atgacaaaaga accaagtctc attgacctgc ctggtgaaag gcttctaccc cagcgacatc 1140
 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaac cccccagtg 1200
 ctggatagtg acgggtctth cthtctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgtgg 1260
 cagcagggtg acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa ccactacacc 1320
 cagaagtcac tgagcctgag cccaggggag 1350

<210> 80
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

10

<400> 80

ES 2 737 649 T3

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 Ala Phe Ser His Tyr
 20 25 30
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Arg Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro 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
 Gly Arg His Ala Thr Thr Ala Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160

ES 2 737 649 T3

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

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205

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

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320

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

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

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

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

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

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

ES 2 737 649 T3

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

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

Gly Lys
450

- <210>81
- <211> 1350
- 5 <212> ADN
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- <221> fuente
- 10 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

- <400> 81

ES 2 737 649 T3

gaagtacagt tgttggagtc aggaggaggg ttggtccagc cgggtggatc gttgcbgctt 60
 tcgtgtgcbg cgtcgggatt caccttttca aactatgaca tgcctggggg gaggcaggca 120
 ccggggaaag ggcttgaatg ggtatcgtac atttcagagag ggggaggatc gacgtattac 180
 ccggattccg tgaaggaag gtttacgac tcgcbgca attcaaagaa tacgctttat 240
 cttcagatga actcgbctcg agcbgaagat acgcbggtat actattgcbg tcbcatgcbg 300
 acgacggcbg attggtattt cbgctgtggb ggacaagggg cbgctggcac ggtgcbgcbg 360
 gcctcaaaa aaggaccaag tgtgttccca ctcbcccta gcbgcaagag tacatcbggg 420
 ggcbctgcbg cbctcbgctg cbctcbgcaag gattattttc cbgagcbgct aaccgtgcbg 480
 tggaaagcbg gcbcbctcbg ttctgggtgc catacttttc ctgctgcbct gcaagcbctt 540
 ggcbctgcbt cbctcbgctc cbgcbgcbgcb gcbcbctctt cbctctgcbg cbctcbgcbt 600
 tacatcbgta atgtaaacca caagcbctagc aatacbtaagb tcbgataagcb ggtggaaccc 660
 aagagcbgcbg acaagactca cbctgtcbcc cbatgcbcbt ccbctgaaact tctgggcbggt 720
 ccbcbgcbtct ttttgbtcbcc accaaagcbt aaagatacbt tgbtgataag tagaacaccc 780
 gaggtgcbat gbtgtgtgtg agcbgttcb cbcbgagcbt cbgaggbttaa gttcaactgg 840
 tacgttgatg gcbtcbgaagb acataatgcb aagaccaagb cbtagagagga gcbgtataat 900
 agtacatacb gbtgtagtcbg tbtctcbca gbtgcbgcbt aagactggbt caacggcaaa 960
 gaatacaaat gcaagbtgcb caacaaagca ctcbcbgcbt cbatcbgagaa gcbtattagb 1020
 aaggcaagb ggbcbcbtcbg tgaaccacag gbtgtcbcbt tgbcbcbcbg tagagagbaa 1080
 atgacaaaagb accaagbtcb attgcbcbtcb cbggtgaaag gcbtctcbcb cbcbgcbatcb 1140
 gcbgttgagb ggbgagbtaa cbgtcbgcbt gagaacaatt acaagacaac ccbcbcbgcbt 1200
 cbggbatggb acgggtcbtt cttctcbtcb agtaagcbtga cbgtggbcaa gbtcbcbgcbt 1260
 cbcbgaggbta acgtcbtcbg cbgttcbcbt atgcbcbgagb cbttgcbcaa cbcbtcbcbt 1320
 cbgaagbcbt tgbcbcbtgb ccbgagbaag 1350

<210> 82
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

10

<400> 82

ES 2 737 649 T3

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Arg Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro 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
 Gly Arg His Ala Thr Thr Ala Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175

ES 2 737 649 T3

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205

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

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320

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

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

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

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

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

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

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430

ES 2 737 649 T3

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

Gly Lys
450

- <210> 83
- <211> 1350
- 5 <212> ADN
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- <221> fuente
- 10 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"
- <400> 83

ES 2 737 649 T3

gaagtacagt tgttgagtc aggaggagg ttggtccagc cgggtggatc gttgcggctt 60
 tcgtgtgcgg cgtcgggatt caccttttca tcgtatgaca tgcgtgggt gaggcaggca 120
 ccggggaaag ggcttgaatg ggtatcgtac atttcgagag ggggaggatc gacgtattac 180
 ccggattccg tgaaaggaag gtttacgac tcgcgcgaca attcaaagaa tacgctttat 240
 cttcagatga actcgctccg agcgggaagat acggcggat actattgcgg tcgccatgcg 300
 acgacggcgt attggtatth cgatgtgtgg ggacaagga cgatggtcac ggtgtcgtcg 360
 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctcgccccta gcagcaagag tacatccggg 420
 ggactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattatthtc cagagccagt aaccgtgagc 480
 tggaacagtg gagcactcac ttctggtgtc catactthtc ctgctgtcct gcaaagctct 540
 ggcctgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc 600
 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aatactaagg tcgataagcg ggtggaaccc 660
 aagagctgcg acaagactca cacttgtccc ccatgccctg ccctgaact tctgggcggt 720
 cccagcgtct thttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacaccc 780
 gagtgacat gtgttgttgt agacgtthtc cagcaggacc cagaggttaa gttcaactgg 840
 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagtataat 900
 agtacatacc gtgtagtcag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa 960
 gaatacaaat gcaaagtgtc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt 1020
 aaggcaaagg ggcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccacccag tagagaggaa 1080
 atgacaaaaga accaagtctc attgacctgc ctggtgaaag gcttctaccc cagcgacatc 1140
 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaac cccccagtg 1200
 ctggatagtg acgggtctth cthtctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgtgg 1260
 cagcagggta acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa cactacacc 1320

 cagaagtcac tgagcctgag cccaggggaag 1350

- <210> 84
- <211> 450
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- <221> fuente
- 10 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"
- <400> 84

ES 2 737 649 T3

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
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Arg Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro 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
 Gly Arg His Ala Thr Thr Ala Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190

ES 2 737 649 T3

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

Gly Lys
450

5 <210> 85
<211> 657
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 85

gacgtggtaa	tgacgcagac	gccgttgtcc	cttctgtct	cgctcggaga	tcaggcgtcg	60
atctcgtgta	gaagctcgca	gtcactcgtc	cataccaacg	ggaatacata	tcttcactgg	120
tatttgcaaa	agcccgaca	gtcaccgaag	ctcttgatct	acaaagtatc	caatcggttt	180
tcgggggtgc	ccgaccgatt	ctcgggatcg	ggttcgggga	cggattttac	gttgaagatt	240
tcgcgggtgg	aagcggagga	tctcgggtgc	tacttttggt	cgcagtcaac	gcatgtcccg	300
tggacgttcg	gaggcgggac	aaaacttgag	atcaagcgca	cagttgctgc	cccagcgtg	360
ttcattttcc	cacctagcga	tgagcagctg	aaaagcggta	ctgcctctgt	cgtatgcttg	420
ctcaacaact	tttaccacg	tgaggctaag	gtgcagtgga	aagtggataa	tgcacttcaa	480
tctggaaaca	gtcaagagtc	cgtgacagaa	caggacagca	aagactcaac	ttattcactc	540
tcttcaccc	tgactctgtc	caaggcagac	tatgaaaaac	acaaggtata	cgctgcgag	600
gttacacacc	agggtttgtc	tagtcctgtc	accaagtctc	tcaatagggg	cgaatgt	657

15 <210> 86
<211> 219
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

25 <400> 86

ES 2 737 649 T3

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

<210> 87
 <211> 657
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

ES 2 737 649 T3

<220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

5

<400> 87

```
gatgtagtca tgaccctaac gccgctttcg ttgtcgggtga cgcccggaca gcccgctca      60
atctcgtgtc ggtcatcgca gtcgcttggtta cacacaaacg gtaatacgtta tctccattgg    120
tatctccaga agcccggcca gtcgcccagcag ctcttgatct acaaagtgag caatcgcttt      180
tcggggggtgc cggatcgggtt ctcgggatcgc gggtcaggaa cggacttcac gcttaagatt    240
tcgaggggtcg aggcggagga tgtcggagtc tacttttgtt cgcagtccac acatgtcccc     300

tgacagtttg ggcaggggac gaaggtggaa atcaagcgcga cagttgctgc cccagcgtg      360
ttcattttcc cacctagcga tgagcagctg aaaagcggta ctgcctctgt cgtatgcttg      420
ctcaacaact tttaccacag tgaggctaag gtgcagtgga aagtggataa tgcacttcaa      480
tctggaaaca gtcaagagtc cgtgacagaa caggacagca aagactcaac ttattcactc     540
tcttccaccc tgactctgtc caaggcagac tatgaaaaac acaaggtata cgcctgcgag      600
gttacacacc agggtttgtc tagtcctgtc accaagtcct tcaatagggg cgaatgt         657
```

10 <210> 88
<211> 219
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

20 <400> 88

ES 2 737 649 T3

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Thr
 20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

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

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

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

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

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

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 89
 <211> 657
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

5

ES 2 737 649 T3

<221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 89

5

gatgtagtca	tgacccaaac	gccgctttcg	ttgtcgggta	cgcccggaca	gcccgcgtca	60
atctcgtgtc	ggtcacgca	gtcgttggtgta	cacacacacg	gtaatacgta	tctccattgg	120
tatctccaga	agcccggcca	gtcgcgcgag	ctcttgatct	aaaagtgag	caatcgcttt	180
tcggggggtgc	cggatcgggtt	ctcgggatcg	gggtcaggaa	cggacttcac	gcttaagatt	240
tcgaggggtcg	aggcggagga	tgtcgggagtc	tacttttggtt	cgcagtccac	acatgtcccc	300
tggacgtttg	ggcaggggac	gaaggtggaa	atcaagcgca	cagttgcagc	ccccagcgtg	360
ttcattttcc	cacctagcga	tgagcagctg	aaaagcggta	ctgcctctgt	cgtatgcttg	420
ctcaacaact	tttaccacg	tgaggctaag	gtgcagtgga	aagtggataa	tgcacttcaa	480
tctggaaca	gtcaagagtc	cgtgacagaa	caggacagca	aagactcaac	ttattcactc	540
tcttcaccc	tgactctgtc	caaggcagac	tatgaaaaac	acaaggtata	cgcctgcgag	600
gttacacacc	agggtttgtc	tagtcctgtc	accaagtcct	tcaatagggg	cgaatgt	657

<210> 90
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

15

<400> 90

ES 2 737 649 T3

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Thr
 20 25 30

His Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

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

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

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

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

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

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210>91
 <211> 657
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <221> fuente

ES 2 737 649 T3

<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 91

gatgtagtca tgacccaaac gccgctttcg ttgtcgggta cgcccggaca gcccgcgtca 60
atctcgtgtc ggtcatcgca gtcgcttgta cacacacaag gtaatacgta tctccattgg 120
tatctccaga agcccggcca gtcgcccag ctcttgatct acaaagtgag caatcgcttt 180
tcgggggtgc cggatcgggtt ctcgggatcg gggtcaggaa cggacttcac gcttaagatt 240
tcgagggtcg aggcggagga tgtcggagtc tacttttggt cgcagtccac acatgtcccc 300
tggacgtttg ggcaggggac gaaggtggaa atcaagcgca cagttgcagc ccccagcgtg 360
ttcattttcc cacctagcga tgagcagctg aaaagcggta ctgcctctgt cgtatgcttg 420
ctcaacaact tttaccacg tgaggctaag gtgcagtgga aagtggataa tgcacttcaa 480
tctggaaca gtcaagagtc cgtgacagaa caggacagca aagactcaac ttattcactc 540
tcttccacc tgactctgtc caaggcagac tatgaaaaac acaaggtata cgctgcgag 600
5 gttacacacc agggtttgc tagtcctgtc accaagtcct tcaatagggg cgaatgt 657

<210> 92

<211> 219

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

15

<400> 92

ES 2 737 649 T3

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

<210> 93
 <211> 657
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

ES 2 737 649 T3

<220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

5

<400> 93

```
gatgtagtca tgacccaaac gccgctttcg ttgtcgggta cgcccggaca gcccgcgtca      60
atctcgtgtc ggtcatcgca gtcgttggta cacacatacg gtaatacgta tctccattgg      120
tatctccaga agcccggcca gtcgcccag ctcttgatct acaaagtgag caatcgcttt      180
tcgggggtgc cggatcgggt ctcgggatcg gggtcaggaa cggacttcac gcttaagatt      240
tcgagggtcg aggcggagga tgcggagtc tacttttgtt cgcagtccac acatgtcccc      300
tggacgtttg ggcaggggac gaaggtggaa atcaagcgca cagttgcagc cccagcgtg      360
ttcattttcc cacctagcga tgagcagctg aaaagcggta ctgcctctgt cgtatgcttg      420
ctcaacaact tttaccacg tgaggctaag gtgcagtgga aagtggataa tgcacttcaa      480
tctggaaaca gtcaagagtc cgtgacagaa caggacagca aagactcaac ttattcactc      540
tcttcacccc tgactctgtc caaggcagac tatgaaaaac acaaggtata cgctgcgag      600
gttacacacc agggtttgtc tagtcctgtc accaagtcct tcaatagggg cgaatgt      657
```

10 <210> 94
<211> 219
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<221> fuente
<223> /nota= "Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético"

20 <400> 94

ES 2 737 649 T3

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

<210> 95
 <211> 1604
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 95

5

ES 2 737 649 T3

Ala Pro Pro Cys Leu Asp Gly Ser Pro Cys Ala Asn Gly Gly Arg Cys
1 5 10 15

Thr Gln Leu Pro Ser Arg Glu Ala Ala Cys Leu Cys Pro Pro Gly Trp
20 25 30

Val Gly Glu Arg Cys Gln Leu Glu Asp Pro Cys His Ser Gly Pro Cys
35 40 45

Ala Gly Arg Gly Val Cys Gln Ser Ser Val Val Ala Gly Thr Ala Arg
50 55 60

Phe Ser Cys Arg Cys Pro Arg Gly Phe Arg Gly Pro Asp Cys Ser Leu
65 70 75 80

Pro Asp Pro Cys Leu Ser Ser Pro Cys Ala His Gly Ala Arg Cys Ser
85 90 95

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

Gly Arg Ser Cys Arg Ser Asp Val Asp Glu Cys Arg Val Gly Glu Pro
115 120 125

Cys Arg His Gly Gly Thr Cys Leu Asn Thr Pro Gly Ser Phe Arg Cys
130 135 140

Gln Cys Pro Ala Gly Tyr Thr Gly Pro Leu Cys Glu Asn Pro Ala Val
145 150 155 160

Pro Cys Ala Pro Ser Pro Cys Arg Asn Gly Gly Thr Cys Arg Gln Ser
165 170 175

Gly Asp Leu Thr Tyr Asp Cys Ala Cys Leu Pro Gly Phe Glu Gly Gln
180 185 190

Asn Cys Glu Val Asn Val Asp Asp Cys Pro Gly His Arg Cys Leu Asn
195 200 205

ES 2 737 649 T3

Gly Gly Thr Cys Val Asp Gly Val Asn Thr Tyr Asn Cys Gln Cys Pro
 210 215 220

Pro Glu Trp Thr Gly Gln Phe Cys Thr Glu Asp Val Asp Glu Cys Gln
 225 230 235 240

Leu Gln Pro Asn Ala Cys His Asn Gly Gly Thr Cys Phe Asn Thr Leu
 245 250 255

Gly Gly His Ser Cys Val Cys Val Asn Gly Trp Thr Gly Glu Ser Cys
 260 265 270

Ser Gln Asn Ile Asp Asp Cys Ala Thr Ala Val Cys Phe His Gly Ala
 275 280 285

Thr Cys His Asp Arg Val Ala Ser Phe Tyr Cys Ala Cys Pro Met Gly
 290 295 300

Lys Thr Gly Leu Leu Cys His Leu Asp Asp Ala Cys Val Ser Asn Pro
 305 310 315 320

Cys His Glu Asp Ala Ile Cys Asp Thr Asn Pro Val Asn Gly Arg Ala
 325 330 335

Ile Cys Thr Cys Pro Pro Gly Phe Thr Gly Gly Ala Cys Asp Gln Asp
 340 345 350

Val Asp Glu Cys Ser Ile Gly Ala Asn Pro Cys Glu His Leu Gly Arg
 355 360 365

Cys Val Asn Thr Gln Gly Ser Phe Leu Cys Gln Cys Gly Arg Gly Tyr
 370 375 380

Thr Gly Pro Arg Cys Glu Thr Asp Val Asn Glu Cys Leu Ser Gly Pro
 385 390 395 400

Cys Arg Asn Gln Ala Thr Cys Leu Asp Arg Ile Gly Gln Phe Thr Cys
 405 410 415

Ile Cys Met Ala Gly Phe Thr Gly Thr Tyr Cys Glu Val Asp Ile Asp
 420 425 430

Glu Cys Gln Ser Ser Pro Cys Val Asn Gly Gly Val Cys Lys Asp Arg
 435 440 445

Val Asn Gly Phe Ser Cys Thr Cys Pro Ser Gly Phe Ser Gly Ser Thr
 450 455 460

ES 2 737 649 T3

Cys Gln Leu Asp Val Asp Glu Cys Ala Ser Thr Pro Cys Arg Asn Gly
 465 470 475 480
 Ala Lys Cys Val Asp Gln Pro Asp Gly Tyr Glu Cys Arg Cys Ala Glu
 485 490 495
 Gly Phe Glu Gly Thr Leu Cys Asp Arg Asn Val Asp Asp Cys Ser Pro
 500 505 510
 Asp Pro Cys His His Gly Arg Cys Val Asp Gly Ile Ala Ser Phe Ser
 515 520 525
 Cys Ala Cys Ala Pro Gly Tyr Thr Gly Thr Arg Cys Glu Ser Gln Val
 530 535 540
 Asp Glu Cys Arg Ser Gln Pro Cys Arg His Gly Gly Lys Cys Leu Asp
 545 550 555 560
 Leu Val Asp Lys Tyr Leu Cys Arg Cys Pro Ser Gly Thr Thr Gly Val
 565 570 575
 Asn Cys Glu Val Asn Ile Asp Asp Cys Ala Ser Asn Pro Cys Thr Phe
 580 585 590
 Gly Val Cys Arg Asp Gly Ile Asn Arg Tyr Asp Cys Val Cys Gln Pro
 595 600 605
 Gly Phe Thr Gly Pro Leu Cys Asn Val Glu Ile Asn Glu Cys Ala Ser
 610 615 620
 Ser Pro Cys Gly Glu Gly Gly Ser Cys Val Asp Gly Glu Asn Gly Phe
 625 630 635 640
 Arg Cys Leu Cys Pro Pro Gly Ser Leu Pro Pro Leu Cys Leu Pro Pro
 645 650 655
 Ser His Pro Cys Ala His Glu Pro Cys Ser His Gly Ile Cys Tyr Asp
 660 665 670
 Ala Pro Gly Gly Phe Arg Cys Val Cys Glu Pro Gly Trp Ser Gly Pro
 675 680 685
 Arg Cys Ser Gln Ser Leu Ala Arg Asp Ala Cys Glu Ser Gln Pro Cys
 690 695 700
 Arg Ala Gly Gly Thr Cys Ser Ser Asp Gly Met Gly Phe His Cys Thr

ES 2 737 649 T3

705 710 715 720

Cys Pro Pro Gly Val Gln Gly Arg Gln Cys Glu Leu Leu Ser Pro Cys
 725 730 735

Thr Pro Asn Pro Cys Glu His Gly Gly Arg Cys Glu Ser Ala Pro Gly
 740 745 750

Gln Leu Pro Val Cys Ser Cys Pro Gln Gly Trp Gln Gly Pro Arg Cys
 755 760 765

Gln Gln Asp Val Asp Glu Cys Ala Gly Pro Ala Pro Cys Gly Pro His
 770 775 780

Gly Ile Cys Thr Asn Leu Ala Gly Ser Phe Ser Cys Thr Cys His Gly
785 790 795

Gly Tyr Thr Gly Pro Ser Cys Asp Gln Asp Ile Asn Asp Cys Asp Pro
 805 810 815

Asn Pro Cys Leu Asn Gly Gly Ser Cys Gln Asp Gly Val Gly Ser Phe
 820 825 830

Ser Cys Ser Cys Leu Pro Gly Phe Ala Gly Pro Arg Cys Ala Arg Asp
 835 840 845

Val Asp Glu Cys Leu Ser Asn Pro Cys Gly Pro Gly Thr Cys Thr Asp
 850 855 860

His Val Ala Ser Phe Thr Cys Thr Cys Pro Pro Gly Tyr Gly Gly Phe
865 870 875 880

His Cys Glu Gln Asp Leu Pro Asp Cys Ser Pro Ser Ser Cys Phe Asn
 885 890 895

Gly Gly Thr Cys Val Asp Gly Val Asn Ser Phe Ser Cys Leu Cys Arg
 900 905 910

Pro Gly Tyr Thr Gly Ala His Cys Gln His Glu Ala Asp Pro Cys Leu
 915 920 925

Ser Arg Pro Cys Leu His Gly Gly Val Cys Ser Ala Ala His Pro Gly
 930 935 940

Phe Arg Cys Thr Cys Leu Glu Ser Phe Thr Gly Pro Gln Cys Gln Thr
945 950 955 960

ES 2 737 649 T3

Leu Val Asp Trp Cys Ser Arg Gln Pro Cys Gln Asn Gly Gly Arg Cys
 965 970 975
 Val Gln Thr Gly Ala Tyr Cys Leu Cys Pro Pro Gly Trp Ser Gly Arg
 980 985 990
 Leu Cys Asp Ile Arg Ser Leu Pro Cys Arg Glu Ala Ala Ala Gln Ile
 995 1000 1005
 Gly Val Arg Leu Glu Gln Leu Cys Gln Ala Gly Gly Gln Cys Val
 1010 1015 1020
 Asp Glu Asp Ser Ser His Tyr Cys Val Cys Pro Glu Gly Arg Thr
 1025 1030 1035
 Gly Ser His Cys Glu Gln Glu Val Asp Pro Cys Leu Ala Gln Pro
 1040 1045 1050
 Cys Gln His Gly Gly Thr Cys Arg Gly Tyr Met Gly Gly Tyr Met
 1055 1060 1065
 Cys Glu Cys Leu Pro Gly Tyr Asn Gly Asp Asn Cys Glu Asp Asp
 1070 1075 1080
 Val Asp Glu Cys Ala Ser Gln Pro Cys Gln His Gly Gly Ser Cys
 1085 1090 1095
 Ile Asp Leu Val Ala Arg Tyr Leu Cys Ser Cys Pro Pro Gly Thr
 1100 1105 1110
 Leu Gly Val Leu Cys Glu Ile Asn Glu Asp Asp Cys Gly Pro Gly
 1115 1120 1125
 Pro Pro Leu Asp Ser Gly Pro Arg Cys Leu His Asn Gly Thr Cys
 1130 1135 1140
 Val Asp Leu Val Gly Gly Phe Arg Cys Thr Cys Pro Pro Gly Tyr
 1145 1150 1155
 Thr Gly Leu Arg Cys Glu Ala Asp Ile Asn Glu Cys Arg Ser Gly
 1160 1165 1170
 Ala Cys His Ala Ala His Thr Arg Asp Cys Leu Gln Asp Pro Gly
 1175 1180 1185
 Gly Gly Phe Arg Cys Leu Cys His Ala Gly Phe Ser Gly Pro Arg
 1190 1195 1200

ES 2 737 649 T3

Cys Gln Thr Val Leu Ser Pro Cys Glu Ser Gln Pro Cys Gln His
 1205 1210 1215

 Gly Gly Gln Cys Arg Pro Ser Pro Gly Pro Gly Gly Gly Leu Thr
 1220 1225 1230

 Phe Thr Cys His Cys Ala Gln Pro Phe Trp Gly Pro Arg Cys Glu
 1235 1240 1245

 Arg Val Ala Arg Ser Cys Arg Glu Leu Gln Cys Pro Val Gly Val
 1250 1255 1260

 Pro Cys Gln Gln Thr Pro Arg Gly Pro Arg Cys Ala Cys Pro Pro
 1265 1270 1275

 Gly Leu Ser Gly Pro Ser Cys Arg Ser Phe Pro Gly Ser Pro Pro
 1280 1285 1290

 Gly Ala Ser Asn Ala Ser Cys Ala Ala Ala Pro Cys Leu His Gly
 1295 1300 1305

 Gly Ser Cys Arg Pro Ala Pro Leu Ala Pro Phe Phe Arg Cys Ala
 1310 1315 1320

 Cys Ala Gln Gly Trp Thr Gly Pro Arg Cys Glu Ala Pro Ala Ala
 1325 1330 1335

 Ala Pro Glu Val Ser Glu Glu Pro Arg Cys Pro Arg Ala Ala Cys
 1340 1345 1350

 Gln Ala Lys Arg Gly Asp Gln Arg Cys Asp Arg Glu Cys Asn Ser
 1355 1360 1365

 Pro Gly Cys Gly Trp Asp Gly Gly Asp Cys Ser Leu Ser Val Gly
 1370 1375 1380

 Asp Pro Trp Arg Gln Cys Glu Ala Leu Gln Cys Trp Arg Leu Phe
 1385 1390 1395

 Asn Asn Ser Arg Cys Asp Pro Ala Cys Ser Ser Pro Ala Cys Leu
 1400 1405 1410

 Tyr Asp Asn Phe Asp Cys His Ala Gly Gly Arg Glu Arg Thr Cys
 1415 1420 1425

 Asn Pro Val Tyr Glu Lys Tyr Cys Ala Asp His Phe Ala Asp Gly
 1430 1435 1440

ES 2 737 649 T3

Arg Cys Asp Gln Gly Cys Asn Thr Glu Glu Cys Gly Trp Asp Gly
 1445 1450 1455

Leu Asp Cys Ala Ser Glu Val Pro Ala Leu Leu Ala Arg Gly Val
 1460 1465 1470

Leu Val Leu Thr Val Leu Leu Pro Pro Glu Glu Leu Leu Arg Ser
 1475 1480 1485

Ser Ala Asp Phe Leu Gln Arg Leu Ser Ala Ile Leu Arg Thr Ser
 1490 1495 1500

Leu Arg Phe Arg Leu Asp Ala His Gly Gln Ala Met Val Phe Pro
 1505 1510 1515

Tyr His Arg Pro Ser Pro Gly Ser Glu Pro Arg Ala Arg Arg Glu
 1520 1525 1530

Leu Ala Pro Glu Val Ile Gly Ser Val Val Met Leu Glu Ile Asp
 1535 1540 1545

Asn Arg Leu Cys Leu Gln Ser Pro Glu Asn Asp His Cys Phe Pro
 1550 1555 1560

Asp Ala Gln Ser Ala Ala Asp Tyr Leu Gly Ala Leu Ser Ala Val
 1565 1570 1575

Glu Arg Leu Asp Phe Pro Tyr Pro Leu Arg Asp Val Arg Gly Glu
 1580 1585 1590

Pro Leu Glu Pro Pro Glu Pro Ser Val Pro Leu
 1595 1600

<210> 96
 <211> 428
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 96

Ala Pro Pro Cys Leu Asp Gly Ser Pro Cys Ala Asn Gly Gly Arg Cys
 1 5 10 15

Thr Gln Leu Pro Ser Arg Glu Ala Ala Cys Leu Cys Pro Pro Gly Trp
 20 25 30

Val Gly Glu Arg Cys Gln Leu Glu Asp Pro Cys His Ser Gly Pro Cys
 35 40 45

10

ES 2 737 649 T3

Ala Gly Arg Gly Val Cys Gln Ser Ser Val Val Ala Gly Thr Ala Arg
50 55 60

Phe Ser Cys Arg Cys Pro Arg Gly Phe Arg Gly Pro Asp Cys Ser Leu
65 70 75 80

Pro Asp Pro Cys Leu Ser Ser Pro Cys Ala His Gly Ala Arg Cys Ser
85 90 95

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

Gly Arg Ser Cys Arg Ser Asp Val Asp Glu Cys Arg Val Gly Glu Pro
115 120 125

Cys Arg His Gly Gly Thr Cys Leu Asn Thr Pro Gly Ser Phe Arg Cys
130 135 140

Gln Cys Pro Ala Gly Tyr Thr Gly Pro Leu Cys Glu Asn Pro Ala Val
145 150 155 160

Pro Cys Ala Pro Ser Pro Cys Arg Asn Gly Gly Thr Cys Arg Gln Ser
165 170 175

Gly Asp Leu Thr Tyr Asp Cys Ala Cys Leu Pro Gly Phe Glu Gly Gln
180 185 190

Asn Cys Glu Val Asn Val Asp Asp Cys Pro Gly His Arg Cys Leu Asn
195 200 205

Gly Gly Thr Cys Val Asp Gly Val Asn Thr Tyr Asn Cys Gln Cys Pro
210 215 220

Pro Glu Trp Thr Gly Gln Phe Cys Thr Glu Asp Val Asp Glu Cys Gln
225 230 235 240

Leu Gln Pro Asn Ala Cys His Asn Gly Gly Thr Cys Phe Asn Thr Leu
245 250 255

Gly Gly His Ser Cys Val Cys Val Asn Gly Trp Thr Gly Glu Ser Cys
260 265 270

Ser Gln Asn Ile Asp Asp Cys Ala Thr Ala Val Cys Phe His Gly Ala
275 280 285

Thr Cys His Asp Arg Val Ala Ser Phe Tyr Cys Ala Cys Pro Met Gly
290 295 300

ES 2 737 649 T3

Lys Thr Gly Leu Leu Cys His Leu Asp Asp Ala Cys Val Ser Asn Pro
 305 310 315 320

Cys His Glu Asp Ala Ile Cys Asp Thr Asn Pro Val Asn Gly Arg Ala
 325 330 335

Ile Cys Thr Cys Pro Pro Gly Phe Thr Gly Gly Ala Cys Asp Gln Asp
 340 345 350

Val Asp Glu Cys Ser Ile Gly Ala Asn Pro Cys Glu His Leu Gly Arg
 355 360 365

Cys Val Asn Thr Gln Gly Ser Phe Leu Cys Gln Cys Gly Arg Gly Tyr
 370 375 380

Thr Gly Pro Arg Cys Glu Thr Asp Val Asn Glu Cys Leu Ser Gly Pro
 385 390 395 400

Cys Arg Asn Gln Ala Thr Cys Leu Asp Arg Ile Gly Gln Phe Thr Cys
 405 410 415

Ile Cys Met Ala Gly Phe Thr Gly Thr Tyr Cys Glu
 420 425

ES 2 737 649 T3

Lys Thr Gly Leu Leu Cys His Leu Asp Asp Ala Cys Val Ser Asn Pro
 305 310 315 320

Cys His Glu Asp Ala Ile Cys Asp Thr Asn Pro Val Asn Gly Arg Ala
 325 330 335

Ile Cys Thr Cys Pro Pro Gly Phe Thr Gly Gly Ala Cys Asp Gln Asp
 340 345 350

Val Asp Glu Cys Ser Ile Gly Ala Asn Pro Cys Glu His Leu Gly Arg
 355 360 365

Cys Val Asn Thr Gln Gly Ser Phe Leu Cys Gln Cys Gly Arg Gly Tyr
 370 375 380

Thr Gly Pro Arg Cys Glu Thr Asp Val Asn Glu Cys Leu Ser Gly Pro
 385 390 395 400

Cys Arg Asn Gln Ala Thr Cys Leu Asp Arg Ile Gly Gln Phe Thr Cys
 405 410 415

Ile Cys Met Ala Gly Phe Thr Gly Thr Tyr Cys Glu
 420 425

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo aislado que se une a Notch3 humana que comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina seleccionada del grupo que consiste en:

(a)

(i) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende una CDRH1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:51, una CDRH2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53, y una CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7; y

(ii) una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende una CDRL1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:62, una CDRL2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9 y una CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10;

(b)

(i) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende una CDRH1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:51, una CDRH2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53, y una CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7; y

(ii) una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende una CDRL1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:8, una CDRL2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9 y una CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10;

(c)

(i) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende una CDRH1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:51, una CDRH2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53, y una CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7; y

(ii) una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende una CDRL1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:63, una CDRL2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9 y una CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10;

(d)

(i) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende una CDRH1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:51, una CDRH2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53, y una CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7; y

(ii) una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende una CDRL1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:64, una CDRL2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9, y una CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10.

2. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde las secuencias de CDR están interpuestas entre secuencias estructurales humanas o humanizadas.

3. Un anticuerpo aislado que se une a Notch3 humana que comprende una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina seleccionada del grupo que consiste en:

(a) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:36 (Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S), y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:46 (Hu4F11 Kv2D-29 N28H);

(b) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:38 (Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S), y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:46 (Hu4F11 Kv2D-29 N28H);

(c) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:36 (Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S), y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:48 (Hu4F11 Kv2D-29 N28Q);

(d) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:38 (Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S), y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:48 (Hu4F11 Kv2D-29 N28Q);

(e) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:36 (Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S), y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:50 (Hu4F11 Kv2D-29 N28Y);

(f) una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:38 (Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S), y una región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina

que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:50 (Hu4F11 Kv2D-29 N28Y).

4. Un anticuerpo aislado que se une a Notch3 humana que comprende una cadena pesada de inmunoglobulina y una cadena ligera de inmunoglobulina seleccionada del grupo que consiste en:

5 (a) una cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78 (Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S), y una cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 90 (Hu4F11 Kv2D-29 N28H Kappa);

10 (b) una cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 80 (Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S), y una cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 90 (Hu4F11 Kv2D-29 N28H Kappa);

(c) una cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 78 (Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S), y una cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 92 (Hu4F11 Kv2D-29 N28Q Kappa);

15 (d) una cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 80 (Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S), y una cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 92 (Hu4F11 Kv2D-29 N28Q Kappa);

(e) una cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 78 (Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S), y una cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94 (Hu4F11 Kv2D-29 N28Y Kappa);

20 (f) una cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 80 (Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S), y una cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94 (Hu4F11 Kv2D-29 N28Y Kappa).

25 5. Un ácido nucleico o ácidos nucleicos aislado(s) que comprende(n) una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena pesada de inmunoglobulina de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena ligera de inmunoglobulina de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4.

30 6. Un vector o vectores de expresión que comprende(n) el ácido nucleico o ácidos nucleicos de la reivindicación 5.

7. Una célula hospedadora que comprende el vector o vectores de expresión de la reivindicación 6.

8. Un método para producir un anticuerpo que se une a Notch3 humana o un fragmento de unión al antígeno del anticuerpo, comprendiendo el método:

35 (a) cultivar la célula hospedadora de la reivindicación 7 en condiciones para que la célula hospedadora exprese un polipéptido o polipéptidos que comprende(n) la región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina y la región variable de la cadena ligera de inmunoglobulina, de este modo, produciendo el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del anticuerpo; y

40 (b) purificar el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del anticuerpo.

9. Un método para inhibir o reducir la proliferación de una célula tumoral *in vitro* que comprende exponer la célula a una cantidad eficaz del anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para inhibir o reducir la proliferación de la célula tumoral.

45 10. Un anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para su uso en el tratamiento del cáncer en un sujeto humano, opcionalmente, en donde el cáncer se selecciona entre el grupo que consiste en cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer cervical, cáncer de pulmón, cáncer de cerebro, cáncer de piel, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de cabeza y de cuello, y leucemia.

50 11. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el anticuerpo tiene una KD de 35 nM o inferior, 25 nM o inferior, 15 nM o inferior, 5 nM o inferior o 1 nM o inferior, según se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

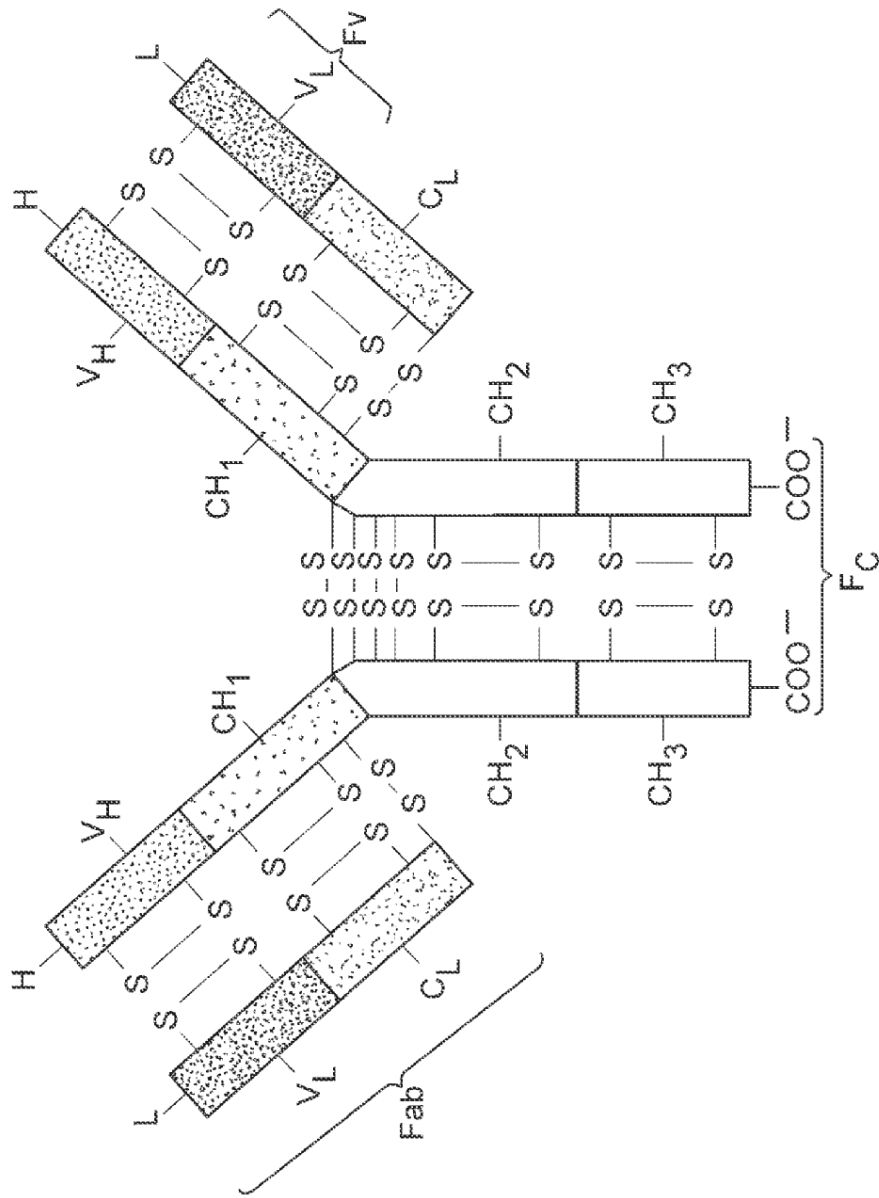


FIG. 1

FIG. 2

ECD de Notch3 humano (aminoácidos 40-1643)

	<u>40</u>	<u>50</u>	<u>60</u>		
	A PPCLDGSEPCA NNGRCTQLPS				
<u>70</u>	<u>80</u>	<u>90</u>	<u>100</u>	<u>110</u>	<u>120</u>
REAACLCP	WVGERCQLED	PCHSGPCAGR	GVCQSSVVAG	TARFSCRCPR	GFRGPDCSLP
<u>130</u>	<u>140</u>	<u>150</u>	<u>160</u>	<u>170</u>	<u>180</u>
DPCLSSPCA	GARCSVGP	RFLCSCPPGY	QGRSCRSDVD	ECRVGEP	GGTCLNTPGS
<u>190</u>	<u>200</u>	<u>210</u>	<u>220</u>	<u>230</u>	<u>240</u>
FRCQCPAGYT	GPLCENPAVP	CAPSPCRN	TCRQSGDLTY	DCACLPGFEG	QNCEVNVDDC
<u>250</u>	<u>260</u>	<u>270</u>	<u>280</u>	<u>290</u>	<u>300</u>
PGHRCLNGGT	CVDGVNTYNC	QCPPEWTGQF	CTEDVDECQL	QPNACHNGGT	CFNTLGGHSC
<u>310</u>	<u>320</u>	<u>330</u>	<u>340</u>	<u>350</u>	<u>360</u>
VCVNGWTGES	CSQNIDDCAT	AVCFHGATCH	DRVASFYCAC	PMGKTGLLCH	LDDACVSNPC
<u>370</u>	<u>380</u>	<u>390</u>	<u>400</u>	<u>410</u>	<u>420</u>
HEDAICDTNP	VNGRAICTCP	PGFTGGACDQ	DVDECSIGAN	PCEHLGRCVN	TQGSFLCQCG
<u>430</u>	<u>440</u>	<u>450</u>	<u>460</u>	<u>470</u>	<u>480</u>
RGYTGPRCET	DVNECLSGPC	RNQATCLDRI	GQFTCICMAG	FTGTycevdi	DECQSSPCVN
<u>490</u>	<u>500</u>	<u>510</u>	<u>520</u>	<u>530</u>	<u>540</u>
GGVCKDRVNG	FSCTCPSGFS	GSTCQLDVDE	CAS	KCVDQPDGYE	CRCAEGFEGT
<u>550</u>	<u>560</u>	<u>570</u>	<u>580</u>	<u>590</u>	<u>600</u>
LCDRNVDDCS	PDPCHHGRCV	DGIASFSCAC	APGYTGTRCE	SQVDECRSQP	CRHGGKCLDL
<u>610</u>	<u>620</u>	<u>630</u>	<u>640</u>	<u>650</u>	<u>660</u>
VDKYLCRCPS	GTTGVNCEVN	IDDCASNPCT	FGVCRDGINR	YDCVCQPGFT	GPLCNVEINE
<u>670</u>	<u>680</u>	<u>690</u>	<u>700</u>	<u>710</u>	<u>720</u>
CASSPCGEGG	SCVDGENGER	CLCPGSLPP	LCLPPSHPCA	HEPCSHGICY	DAPGGFRCVC
<u>730</u>	<u>740</u>	<u>750</u>	<u>760</u>	<u>770</u>	<u>780</u>
EPGWSGPRCS	QSLARDACES	QPCRAGGTCS	SDGMGFHCTC	PPGVQGRQCE	LLSPCTPNPC

FIG. 2 (cont.)

<u>790</u>	<u>800</u>	<u>810</u>	<u>820</u>	<u>830</u>	<u>840</u>
EHGGRCESAP	GQLPVCSCPQ	GWQGPRCQQD	VDECAGPAPC	GPHGICTNLA	GSFSCTCHGG
<u>850</u>	<u>860</u>	<u>870</u>	<u>880</u>	<u>890</u>	<u>900</u>
YTGPSCDQDI	NDCDPNPCLN	GGSCQDGVGS	FSCSCLPGFA	GPRCARDVDE	CLSNPCGPGT
<u>910</u>	<u>920</u>	<u>930</u>	<u>940</u>	<u>950</u>	<u>960</u>
CTDHVASEFTC	TCPPGYGGFH	CEQDLPCDPC	SSCFNGGTCV	DGVNSFSLC	RPGYTGAHCQ
<u>970</u>	<u>980</u>	<u>990</u>	<u>1000</u>	<u>1010</u>	<u>1020</u>
HEADPCLSRP	CLHGGVCSAA	HPGFRCTCLE	SFTGPQCQTL	VDWCSRQPCQ	NGGRCVQTGA
<u>1030</u>	<u>1040</u>	<u>1050</u>	<u>1060</u>	<u>1070</u>	<u>1080</u>
YCLCPPGWSG	RLCDIRSLPC	REAAAQIGVR	LEQLCQAGGQ	CVDEDSSHYC	VCPEGRTGSH
<u>1090</u>	<u>1100</u>	<u>1110</u>	<u>1120</u>	<u>1130</u>	<u>1140</u>
CEQEVDPLA	QPCQHGGTCR	GYMGGYMCEC	LPGYNGDNCE	DDVDECASQP	CQHGGSCIDL
<u>1150</u>	<u>1160</u>	<u>1170</u>	<u>1180</u>	<u>1190</u>	<u>1200</u>
VARYLCSCPP	GTLGVLCEIN	EDDCGPGPPL	DSGPRCLHNG	TCVDLVGGFR	CTCPPGYTGL
<u>1210</u>	<u>1220</u>	<u>1230</u>	<u>1240</u>	<u>1250</u>	<u>1260</u>
RCEADINECR	SGACHAAHTR	DCLQDPGGGF	RCLCHAGFSG	PRCQTVLSPC	ESQPCQHGGQ
<u>1270</u>	<u>1280</u>	<u>1290</u>	<u>1300</u>	<u>1310</u>	<u>1320</u>
CRPSPGPGGG	LTFTCHCAQP	FWGPRCERVA	RSCRELQCPV	GVPCQQTFRG	PRCACPPGLS
<u>1330</u>	<u>1340</u>	<u>1350</u>	<u>1360</u>	<u>1370</u>	<u>1380</u>
GPSCRSEFPGS	PPGASNASCA	AAPCLHGGSC	RPAPLAPFFR	CACAQGWTFP	RCEAPAAAPE
<u>1390</u>	<u>1400</u>	<u>1410</u>	<u>1420</u>	<u>1430</u>	<u>1440</u>
VSEEPRCpra	ACQAKRGDQR	CDRECNSPGC	GWDGGDCSLs	VGDPWRQCEA	LQCWRLFNNS
<u>1450</u>	<u>1460</u>	<u>1470</u>	<u>1480</u>	<u>1490</u>	<u>1500</u>
RCDPACSSPA	CLYDNFDCHA	GGRERTCNPV	YEKYCADHFA	DGRCDQGCNT	EECGWDGLDC
<u>1510</u>	<u>1520</u>	<u>1530</u>	<u>1540</u>	<u>1550</u>	<u>1560</u>
ASEVPALLAR	GVLVLTVLLP	PEELLRSSAD	FLQRLSAILR	TSLRFRLDAH	GQAMVFPYHR

FIG. 2 (cont.)

1570 1580 1590 1600 1610 1620
PSPGSEPRAR RELAPEVIGS VVMLEIDNRL CLQSPENDHC FPDAQSAADY LGALSAVERL
1630 1640
DFPYPLRDVR GEPLEPPEPS VPL

FIG. 3

Repeticiones 1-11 tipo EGF de Notch3 humano (aminoácidos 40-467)

			<u>40</u>	<u>50</u>	<u>60</u>	
				A	PPCLDGSPCA	NGGRCTQLPS
<u>70</u>	<u>80</u>	<u>90</u>	<u>100</u>	<u>110</u>	<u>120</u>	
REAACLPPPG	WVGERCQLED	PCHSGPCAGR	GVCQSSVVAG	TARFSCRCPR	GFRGPDCSLP	
<u>130</u>	<u>140</u>	<u>150</u>	<u>160</u>	<u>170</u>	<u>180</u>	
DPCLSSPCAH	GARCSVGPDG	RFLCSCPPGY	QGRSCRSDVD	ECRVGEPCRH	GGTCLNTPGS	
<u>190</u>	<u>200</u>	<u>210</u>	<u>220</u>	<u>230</u>	<u>240</u>	
FRCQCPAGYT	GPLCENPAVP	CAPSPCRNGG	TCRQSGDLTY	DCACLPGFEG	QNCEVNVDDC	
<u>250</u>	<u>260</u>	<u>270</u>	<u>280</u>	<u>290</u>	<u>300</u>	
PGHRCLNGGT	CVDGVNTYNC	QCPPEWTGQF	CFEDVDECQL	QPNACHNGGT	CFNTLGGHSC	
<u>310</u>	<u>320</u>	<u>330</u>	<u>340</u>	<u>350</u>	<u>360</u>	
VCVNGWTGES	CSQNIDDCAT	AVCFHGATCH	DRVASFYCAC	PMGKTGLLCH	LDDACVSNPC	
<u>370</u>	<u>380</u>	<u>390</u>	<u>400</u>	<u>410</u>	<u>420</u>	
HEDAICDTNP	VNGRAICTCP	PGFTGGACDQ	DVDECSIGAN	PCEHLGRCVN	TQGSFLCQCG	
<u>430</u>	<u>440</u>	<u>450</u>	<u>460</u>			
RGYTGPRCET	DVNECLSGPC	RNQATCLDRI	GQFTCICMAG	FTGTYCE		

FIG. 4

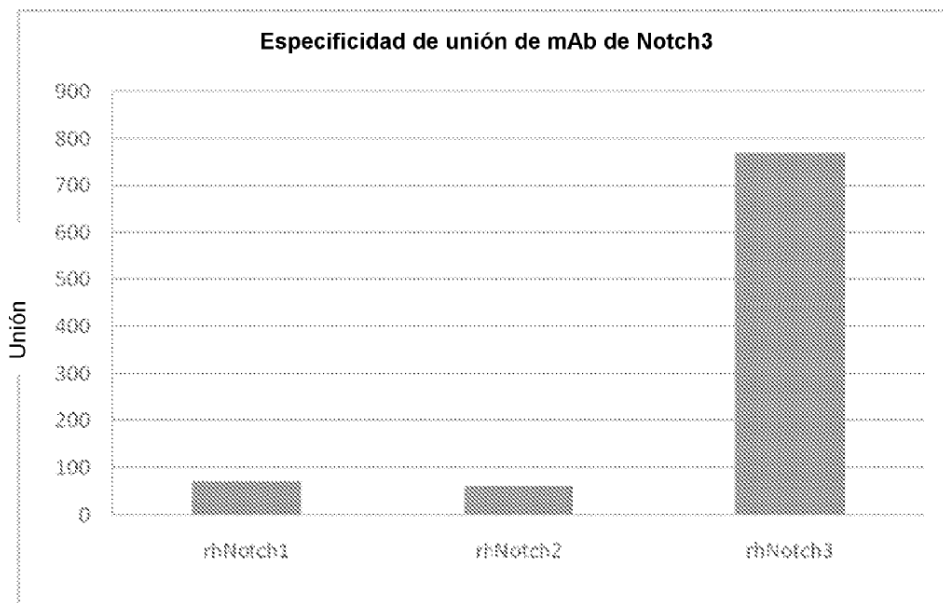


FIG. 5A

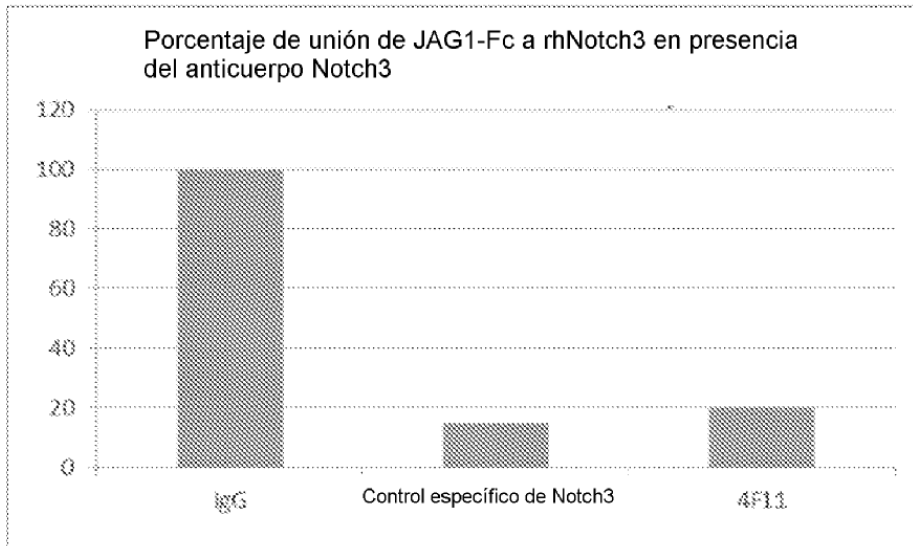


FIG. 5B

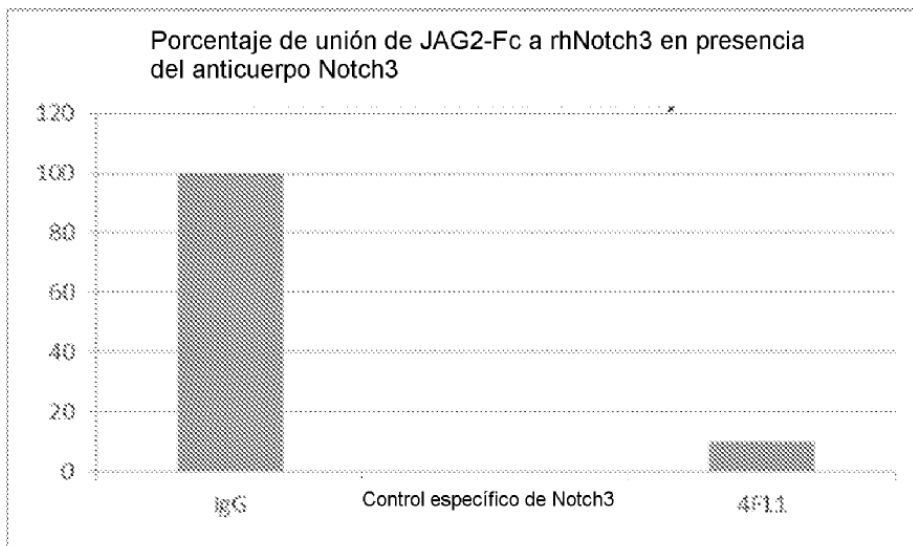


FIG. 5C

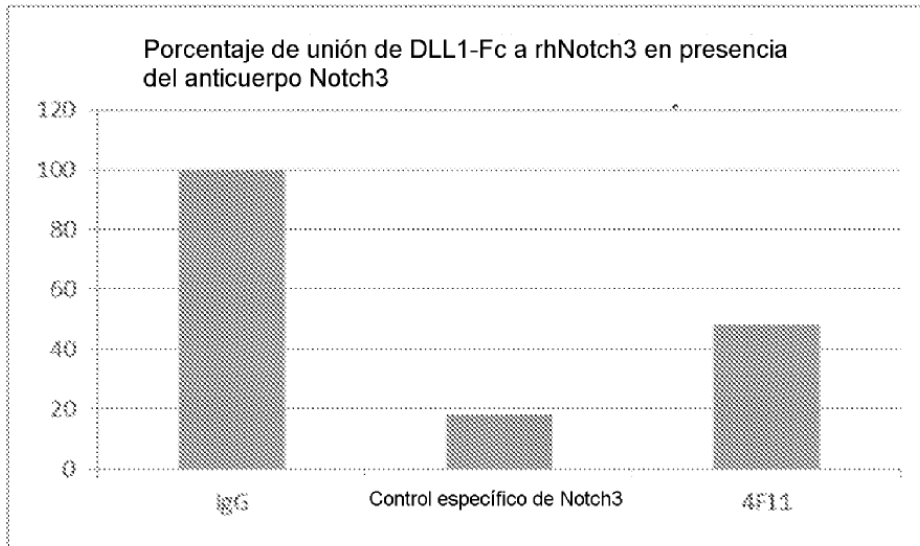


FIG. 5D

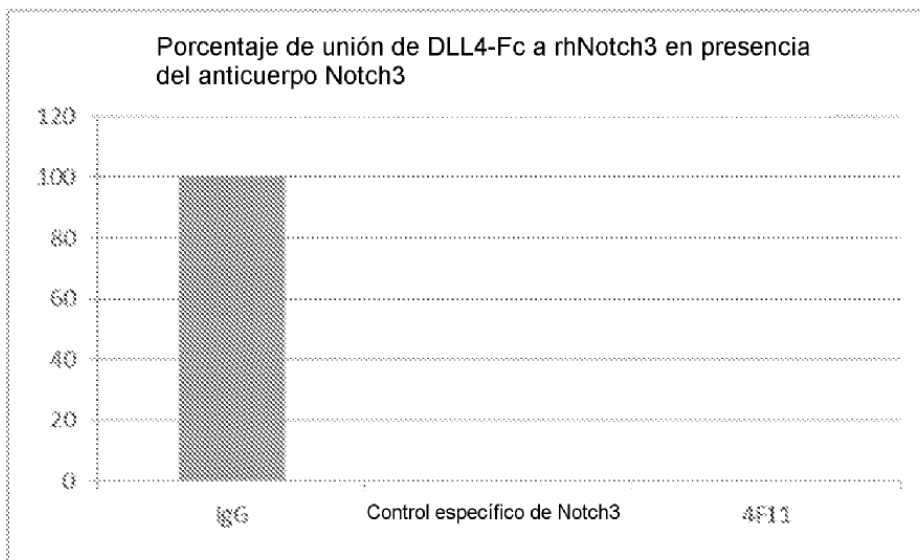


FIG. 6A

Inhibición de señalización de Notch3 estimulada por JAG-Fc

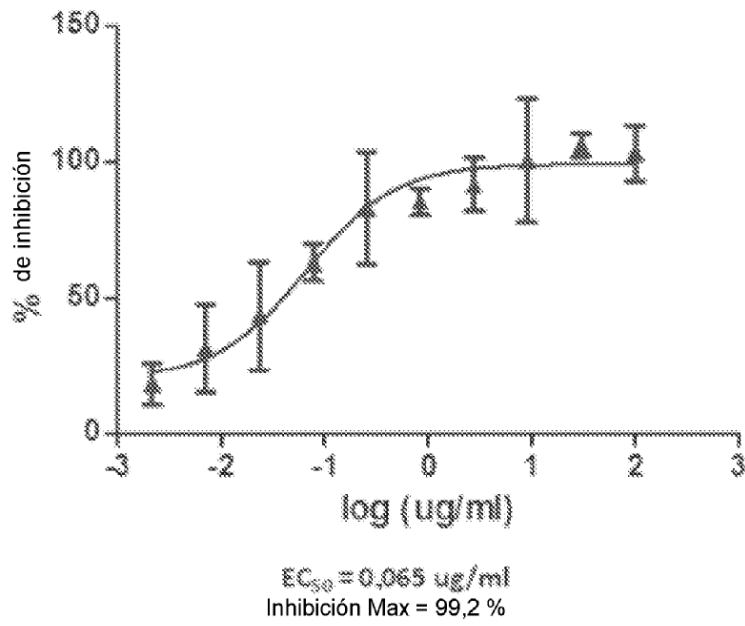


FIG. 6B

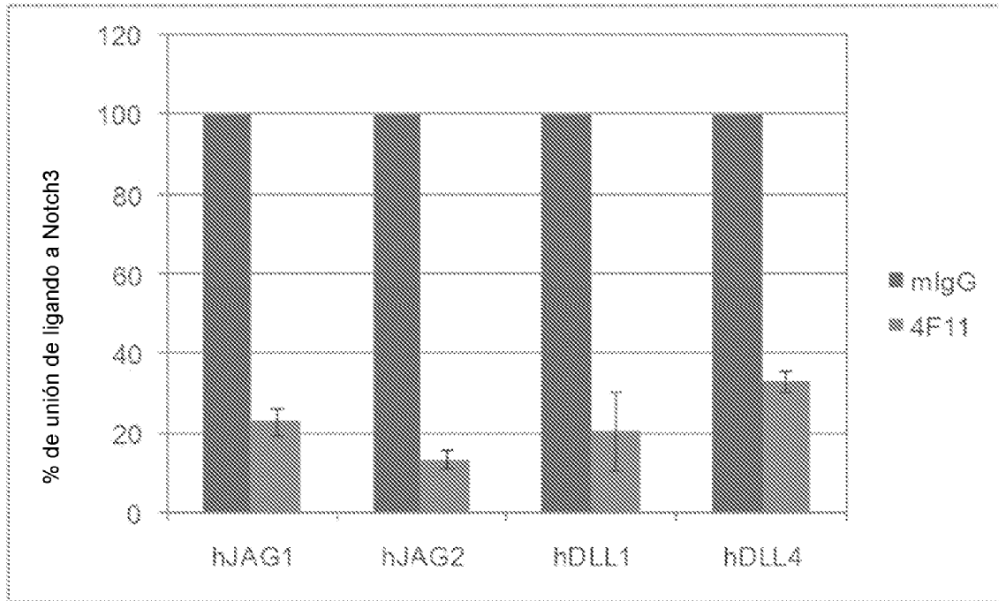


FIG. 7

Alineamientos de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada completa

Anticuerpo	CDR1	CDR2
Ch4F11	EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGFAFS	YSDMSWVRQTPKRLWVAIISRGGSTYYPDTVKGRFTI
Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S	EVQLLESVGGGLVQPKGGSLRLSCAASGFAFS	YSDMSWVRQAPKGLWVSIISRGGSTYYPDTVKGRFTI
Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S	EVQLLESVGGGLVQPKGSLRLSCAASGFTFS	HYDMSWVRQAPKGLWVSIISRGGSTYYPDSVKGRFTI
Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S	EVQLLESVGGGLVQPKGSLRLSCAASGFAFS	HYDMSWVRQAPKGLWVSIISRGGSTYYPDSVKGRFTI
Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S	EVQLLESVGGGLVQPKGSLRLSCAASGFTFS	MYDMSWVRQAPKGLWVSIISRGGSTYYPDSVKGRFTI
Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S	EVQLLESVGGGLVQPKGSLRLSCAASGFTFS	SYDMSWVRQAPKGLWVSIISRGGSTYYPDSVKGRFTI
CDR3		
Ch4F11	SRDIAKNTLYLQMSLKSEDTAMYYCGR	HATTAYWYFDVIMCAGTIVIVSS (SEQ ID NO:2)
Sh4F11 Hv3-23	SRDIAKNTLYLQMSLRAEDTAVYYCGR	HATTAYWYFDVIMCAGTIVIVSS (SEQ ID NO:34)
Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S	SRDIAKNTLYLQMSLRAEDTAVYYCGR	HATTAYWYFDVIMCAGTIVIVSS (SEQ ID NO:36)
Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S	SRDIAKNTLYLQMSLRAEDTAVYYCGR	HATTAYWYFDVIMCAGTIVIVSS (SEQ ID NO:38)
Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S	SRDIAKNTLYLQMSLRAEDTAVYYCGR	HATTAYWYFDVIMCAGTIVIVSS (SEQ ID NO:40)
Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S	SRDIAKNTLYLQMSLRAEDTAVYYCGR	HATTAYWYFDVIMCAGTIVIVSS (SEQ ID NO:42)

FIG. 8

Alineamientos de aminoácidos de CDR de la cadena pesada

Anticuerpo	CDR1	CDR2	CDR3
Ch4F11	SYDMS (SEQ ID NO:5)	YISRGGGSTYYPDIVKG (SEQ ID NO:6)	
Sh4F11 Hv3-23	SYDMS (SEQ ID NO:5)	YISRGGGSTYYPDIVKG (SEQ ID NO:6)	
Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S	HYDMS (SEQ ID NO:51)	YISRGGGSTYYPDSVKG (SEQ ID NO:53)	
Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S	HYDMS (SEQ ID NO:51)	YISRGGGSTYYPDSVKG (SEQ ID NO:53)	
Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S	NYDMS (SEQ ID NO:52)	YISRGGGSTYYPDSVKG (SEQ ID NO:53)	
Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S	SYDMS (SEQ ID NO:5)	YISRGGGSTYYPDSVKG (SEQ ID NO:53)	
Anticuerpo	CDR3		
Ch4F11	HATTAYWYFDV (SEQ ID NO:7)		
Sh4F11 Hv3-23	HATTAYWYFDV (SEQ ID NO:7)		
Sh4F11 Hv3-23 A28T S31H T62S	HATTAYWYFDV (SEQ ID NO:7)		
Sh4F11 Hv3-23 S31H T62S	HATTAYWYFDV (SEQ ID NO:7)		
Sh4F11 Hv3-23 A28T S31N T62S	HATTAYWYFDV (SEQ ID NO:7)		
Sh4F11 Hv3-23 A28T T62S	HATTAYWYFDV (SEQ ID NO:7)		

FIG. 9

Alineamientos de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera (kappa) completa

Anticuerpo	CDR1	CDR2
Ch4F11	DVVMTQTPPLSLPVSLGDQASISCSRSSQSLVHTNGNTYLLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFS	GVPDRFSGS
Hu4F11 Kv2D-29	DVVMTQTPPLSLSVTPGQPASISCSRSSQSLVHTNGNTYLLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFS	GVPDRFSGS
Hu4F11 Kv2D-29 N28H	DVVMTQTPPLSLSVTPGQPASISCSRSSQSLVHTNGNTYLLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFS	GVPDRFSGS
Hu4F11 Kv2D-29 N28Q	DVVMTQTPPLSLSVTPGQPASISCSRSSQSLVHTQGNNTYLLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFS	GVPDRFSGS
Hu4F11 Kv2D-29 N28Y	DVVMTQTPPLSLSVTPGQPASISCSRSSQSLVHTYGNNTYLLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFS	GVPDRFSGS
CDR3		
Ch4F11	GGTDFTLKISRVEAEDLVGYFCSSQSTHVPWTFGGGTKLEIK	(SEQ ID NO:4)
Hu4F11 Kv2D-29	GGTDFTLKISRVEAEDLVGYFCSSQSTHVPWTFGGTKVEIK	(SEQ ID NO:44)
Hu4F11 Kv2D-29 N28H	GGTDFTLKISRVEAEDLVGYFCSSQSTHVPWTFGGTKVEIK	(SEQ ID NO:46)
Hu4F11 Kv2D-29 N28Q	GGTDFTLKISRVEAEDLVGYFCSSQSTHVPWTFGGTKVEIK	(SEQ ID NO:48)
Hu4F11 Kv2D-29 N28Y	GGTDFTLKISRVEAEDLVGYFCSSQSTHVPWTFGGTKVEIK	(SEQ ID NO:50)

FIG. 10

Alineamientos de aminoácidos de CDR de la cadena ligera (Kappa)

Anticuerpo	CDR1	CDR2
CH4F11	RSSQSLVHTNGNTYLH (SEQ ID NO:8)	KVSNRFS (SEQ ID NO:9)
Hu4F11 Kv2D-29	RSSQSLVHTNGNTYLH (SEQ ID NO:8)	KVSNRFS (SEQ ID NO:9)
Hu4F11 Kv2D-29 N28H	RSSQSLVHTHGNTYLH (SEQ ID NO:62)	KVSNRFS (SEQ ID NO:9)
Hu4F11 Kv2D-29 N28Q	RSSQSLVHTQGNTYLH (SEQ ID NO:63)	KVSNRFS (SEQ ID NO:9)
Hu4F11 Kv2D-29 N28Y	RSSQSLVHTYGNNTYLH (SEQ ID NO:64)	KVSNRFS (SEQ ID NO:9)
Anticuerpo	CDR3	
CH4F11	SQSTHVPWT (SEQ ID NO:10)	
Hu4F11 Kv2D-29	SQSTHVPWT (SEQ ID NO:10)	
Hu4F11 Kv2D-29 N28H	SQSTHVPWT (SEQ ID NO:10)	
Hu4F11 Kv2D-29 N28Q	SQSTHVPWT (SEQ ID NO:10)	
Hu4F11 Kv2D-29 N28Y	SQSTHVPWT (SEQ ID NO:10)	

FIG. 11

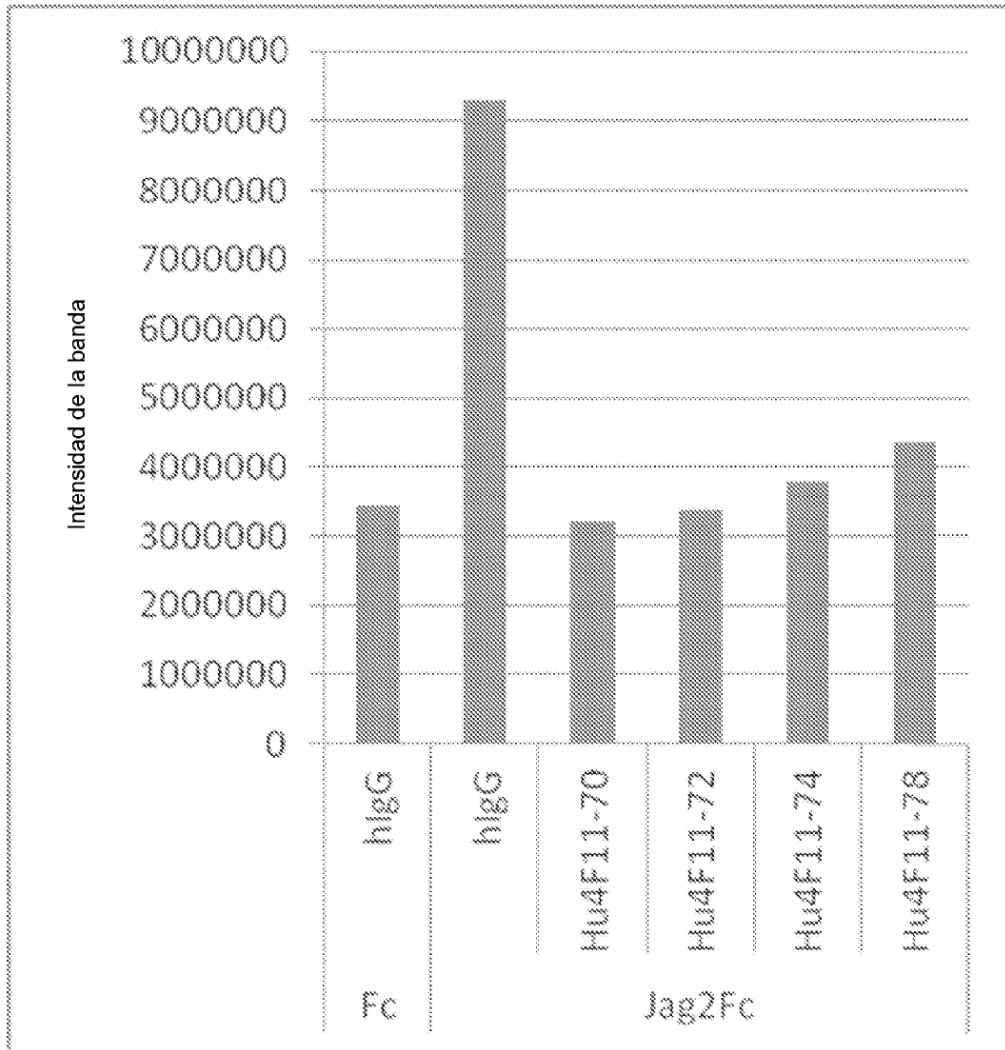


FIG. 12A

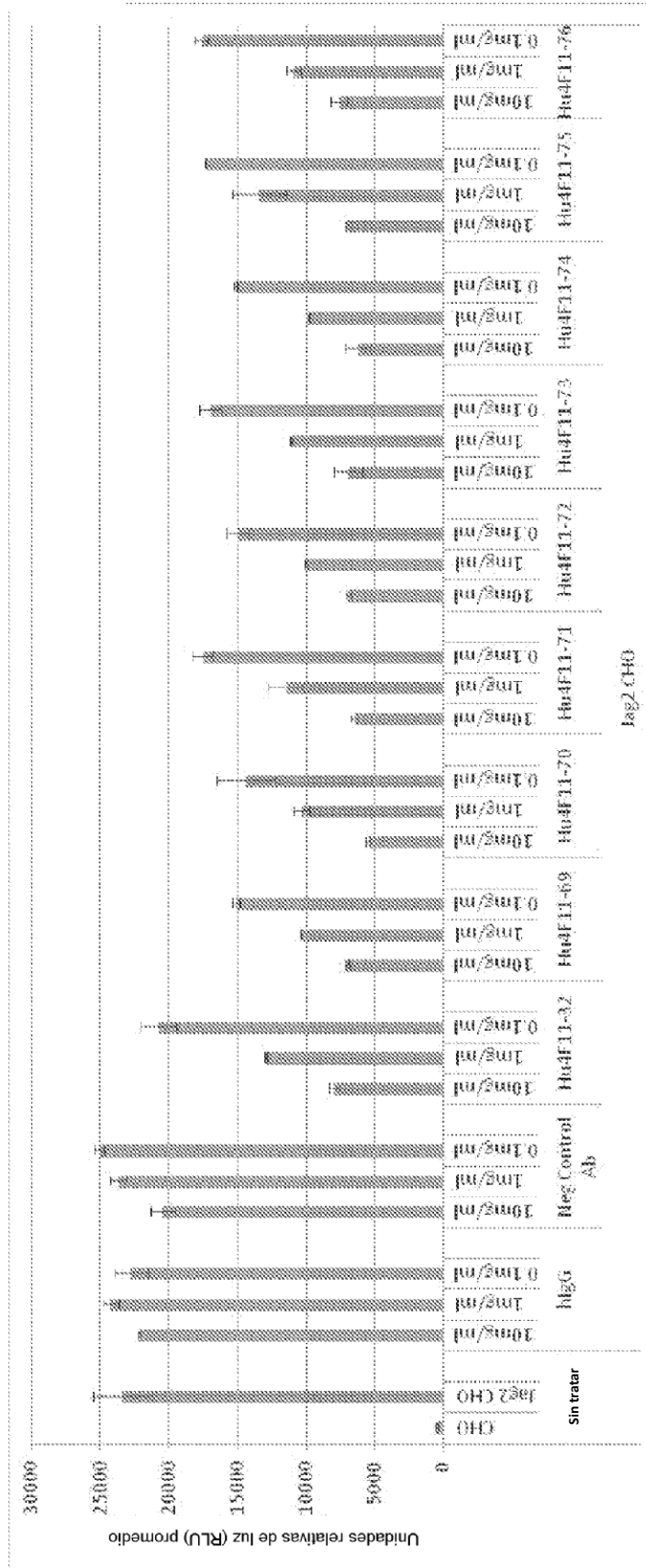


FIG. 12B

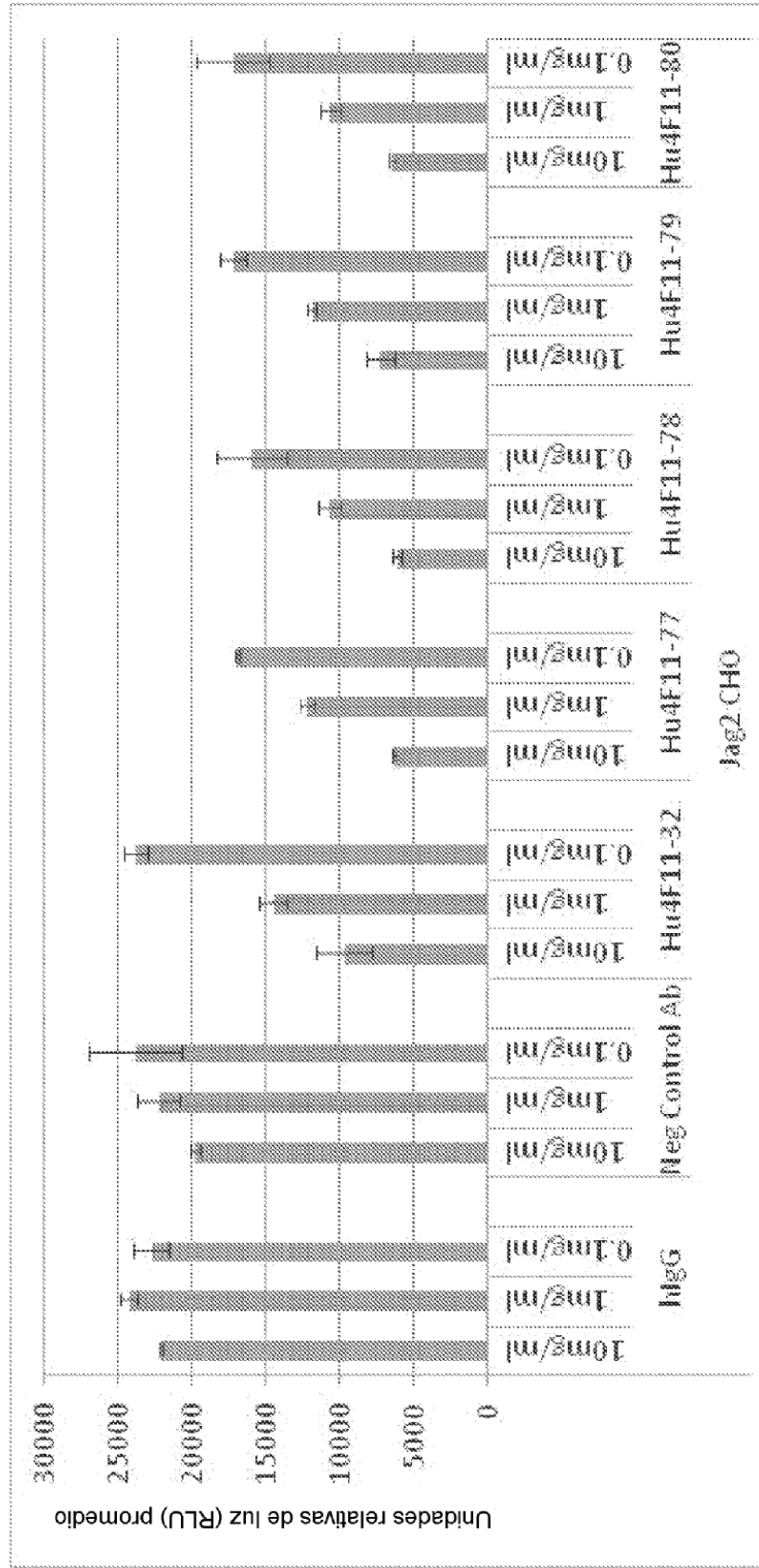


FIG. 13

