

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 373 652**

51 Int. Cl.:
C12N 15/06 (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **03794236 .4**
96 Fecha de presentación: **04.09.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1541680**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **15.06.2005**

54 Título: **ANTICUERPO CITOTÓXICO CONTRA UN PÉPTIDO C-TERMINAL DE GPC-3.**

30 Prioridad:
04.09.2002 WO PCT/JP02/08999

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.02.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.02.2012

73 Titular/es:
CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA
5-1, UKIMA 5-CHOME, KITA-KU
TOKYO, 115-8543, JP

72 Inventor/es:
ABURATANI, H.;
MIDORIKAWA, Y.;
NAKANO, Kiyotaka;
OHIZUMI, Iwao;
ITO, Yukio y
TOKITA, Susumu

74 Agente: **Ungría López, Javier**

ES 2 373 652 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

Anticuerpo Citotóxico Contra un Péptido C-terminal de GPC-3

5 **Campo Técnico**

La presente invención se refiere a un anticuerpo contra un péptido C-terminal de GPC-3. La invención se refiere a un anticuerpo contra un péptido C-terminal de GPC-3 de aproximadamente 30 kDa encontrado en la forma soluble de la proteína núcleo de GPC-3.

10

Técnica Anterior

Se ha informado sobre la presencia de la familia de los glipicanos como una nueva familia de proteoglicanos de sulfato de heparano existente sobre la superficie celular. Hasta ahora, se ha informado de que existen cinco tipos de glipicano (glipicano 1, glipicano 2, glipicano 3, glipicano 4 y glipicano 5). Los miembros de la familia tienen una proteína núcleo de un tamaño uniforme (aproximadamente 60 kDa) y tienen residuos de cisteína bien conservados en común únicos, y están unidos a la membrana celular a través de un ancla de glicosifosfatidilinositol (GPI).

15

Se sabe que el glipicano 3 (GPC3) está profundamente implicado en la división celular durante el desarrollo y el control de su patrón. Además, se sabe que el gen de GPC3 es expresado sumamente en células de hepatoma y que el gen de GPC3 se utiliza posiblemente como marcador en el carcinoma hepatocelular.

20

Los autores de la presente invención encontraron previamente que un anticuerpo anti-GPC3 tenía una actividad ADCC y una actividad CDC y era útil como tratamiento terapéutico del hepatoma y presentaron una solicitud de patente (Solicitud de Patente Japonesa 2001-189443).

25

Sin embargo, GPC3 es una proteína unida a la membrana y no se ha informado de que exista una proteína GPC3 de forma secretada. De este modo, no se ha realizado ningún examen a cerca del uso de la propia proteína GPC3 como marcador tumoral en la sangre.

30

Descripción de la Invención

Los autores de la presente invención encontraron el hecho de que el glipicano 3 (GPC3) es escindido en su residuo de aminoácido 358 o en su residuo de aminoácido 374 o una región en la proximidad de los residuos.

35

Los autores de la presente invención encontraron que un anticuerpo contra el extremo C de GPC3 tenía una elevada actividad citotóxica y consideraron que el uso del anticuerpo anti-GPC3 que reconoce el extremo C sería preferible para perturbar el desarrollo de las células cancerosas, es decir para tratar terapéuticamente el cáncer. A continuación, los autores de la presente invención realizaron un intento para desarrollar un anticuerpo que reconociera el péptido C-terminal de GPC3, y de este modo completaron la invención.

40

La invención se refiere a un anticuerpo contra un péptido que consiste en los residuos de aminoácidos 375-580 de GPC3 donde el anticuerpo tiene actividad citotóxica.

45

En un caso, la actividad citotóxica es una actividad citotóxica para células HepG2 o HuH-7.

Aún más, la invención se refiere al anticuerpo, que es un anticuerpo monoclonal.

Adicionalmente, la invención se refiere al anticuerpo, que es un anticuerpo quimérico.

50

Por añadidura, la invención se refiere al anticuerpo que es un anticuerpo humanizado.

Además, la invención se refiere al anticuerpo que es un anticuerpo recombinante.

55

Por añadidura, la invención se refiere al anticuerpo en el que el anticuerpo ha sido producido en una célula de mamífero. En un caso la célula de mamífero puede ser una seleccionada entre una célula CHO, COS, de mieloma, BHK, vero y Hela. La célula de mamífero se puede transformar con un vector de expresión que comprende un gen que codifica el anticuerpo

60

En un caso, la invención se refiere al anticuerpo en el que la célula de mamífero comprende:

- (a) un vector de expresión que comprende un gen que codifica la cadena pesada (H) del anticuerpo y un vector de expresión separado que comprende un gen que codifica la cadena ligera (L) del anticuerpo; o
- (b) un vector de expresión sencillo que codifica tanto la cadena H como L.

65

En tales circunstancias, puede ser que:

- (a) el gen que codifica la cadena H del anticuerpo comprenda la secuencia del SEQ ID NO: 9; y/o
- (b) el gen que codifica la cadena L del anticuerpo comprenda la secuencia del SEQ ID NO: 17.

También puede ser que:

5

- (a) el gen que codifica la cadena H del anticuerpo comprenda la secuencia del SEQ ID NO: 11; y/o
- (b) el gen que codifica la cadena L del anticuerpo comprenda la secuencia del SEQ ID NO: 19.

10 De este modo, la invención se refiere al anticuerpo para su uso en la perturbación del desarrollo celular, donde las células cuyo desarrollo va a ser perturbado expresan GPC 3.

Además, la invención se refiere al agente para la perturbación del desarrollo celular, donde la célula es una célula cancerosa.

15 Adicionalmente, la invención se refiere a un agente anticanceroso que comprende el anticuerpo. En particular, el anticuerpo de la invención puede ser uno que se utilice en el tratamiento del cáncer, donde el cáncer expresa GPC 3.

20 En una realización el cáncer es un hepatoma, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer de próstata, leucemia o linfoma.

La invención también se refiere a una formulación farmacéutica que comprende un anticuerpo de la invención y un portador farmacéuticamente aceptable.

25 La invención se describe ahora con detalle más adelante.

Puesto que el anticuerpo contra el péptido C-terminal de GPC3 de acuerdo con la invención tiene una elevada actividad citotóxica, el anticuerpo se puede utilizar para perturbar el desarrollo de las células cancerosas, es decir para tratar terapéuticamente el cáncer. El cáncer que puede ser tratado clínicamente utilizando el anticuerpo incluye, pero no está limitado a, hepatoma, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer de próstata, leucemia, y linfoma. Preferiblemente, el cáncer es un hepatoma.

30

1. Preparación del anticuerpo anti-GPC3 contra el péptido N-terminal o del anticuerpo anti-GPC3 contra el péptido C-terminal

35

La secuencia de aminoácidos y secuencia de nucleótidos de GPC3 son descritos por Lage, H. et al., Gene 188 (1997), 151-156 o GenBank: Z37987.

40 El anticuerpo anti-GPC3 contra el péptido C-terminal utilizado en la invención debe ser capaz de unirse específicamente al péptido C-terminal de la proteína GPC3 que consiste en los residuos de aminoácido 375 a 580 de GPC3. Su origen o tipo (monoclonal, policlona) o su forma no están específicamente limitados. Específicamente, se pueden utilizar anticuerpos conocidos tales como anticuerpo de ratón, anticuerpo de rata, anticuerpo humano, anticuerpo quimérico y anticuerpo humanizado.

45 Cuando GPC3 es escindida en un sitio de escisión, GPC3 se corta en un péptido de aproximadamente 40 kDa y un péptido de aproximadamente 30 kDa, que son el lado N-terminal y el lado C-terminal, respectivamente. El sitio de escisión de GPC3 es el residuo de aminoácido 358, el residuo de aminoácido 374 o una región en su proximidad. Se cree que el sitio de escisión principal es el residuo de aminoácido 358.

50 El péptido C-terminal de GPC3 es un péptido C-terminal de GPC3 y de aproximadamente 30 kDa encontrado en la forma soluble de la proteína núcleo de GPC-3. Basándose en el sitio de escisión mencionado anteriormente, el péptido C-terminal es un péptido de una secuencia de aminoácidos de Val 375 a His 580. De acuerdo con la invención, se pueden emplear fragmentos de tal péptido C-terminal. En esta memoria, el péptido C-terminal es referido también como fragmento C-terminal o fragmento peptídico C-terminal.

55

En otras palabras, el anticuerpo contra el péptido C-terminal de GPC3 de acuerdo con la invención es un anticuerpo que reconoce un epítipo existente sobre el péptido C-terminal de la proteína GPC3 de los aminoácidos 375 a 580, y el sitio del epítipo reconocido no está limitado.

60 El anticuerpo puede ser un anticuerpo policlona pero es preferiblemente un anticuerpo monoclonal.

El anticuerpo anti-péptido C-terminal de GPC3 para su uso de acuerdo con la invención se puede obtener en forma de un anticuerpo policlona o un anticuerpo monoclonal, utilizando técnicas conocidas. El anticuerpo anti-GPC3 para su uso de acuerdo con la invención es preferiblemente un anticuerpo monoclonal derivado de mamíferos. El anticuerpo monoclonal derivado de mamíferos incluye los producidos por medio de hibridomas, y los generados en

65

anfitriones transformados con vectores de expresión que portan el gen del anticuerpo mediante tecnología de ingeniería genética.

5 El hibridoma que produce un anticuerpo monoclonal se prepara esencialmente utilizando técnicas conocidas como sigue. Un animal es inmunizado por medio de un método de inmunización convencional utilizando GPC3 como antígeno sensibilizante para obtener una célula inmunitaria, que a continuación se fusiona a una célula parental por medio de un método de fusión celular convencional. Las células fusionadas se escrutan en busca de células generadoras de anticuerpos monoclonales por medio de un método de escrutinio convencional.

10 Específicamente, un anticuerpo monoclonal se prepara como sigue.

En primer lugar, GPC3 para su uso como antígeno sensibilizante para obtener un anticuerpo se prepara expresando el gen/secuencia de aminoácidos de GPC3 (MXR7) descritos por Lage, H. et al., *Gene* 188 (1997), 151-156. Particularmente, la secuencia génica que codifica GPC3 se inserta en un vector de expresión conocido para la transformación de una célula anfitriona apropiada, a continuación la proteína GPC3 humana deseada se purifica a partir de la célula anfitriona o un sobrenadante del cultivo de la misma.

Además, también se puede purificar y utilizar GPC3 de origen natural.

20 A continuación, la proteína GPC3 purificada se utiliza como antígeno sensibilizante. La proteína GPC3 completa se puede utilizar como antígeno sensibilizante. Puesto que el anticuerpo contra el péptido N-terminal de la proteína GPC3 y un anticuerpo contra el péptido C-terminal de la misma también son inducidos en este caso, el anticuerpo contra el péptido C-terminal de la misma se puede seleccionar por separado. Alternativamente, también se puede utilizar un péptido C-terminal parcial de la misma como antígeno sensibilizante. En ese caso, tal péptido parcial se puede obtener mediante síntesis química sobre la base de la secuencia de aminoácidos de GPC3 humana o insertando una parte del gen de GPC3 en un vector de expresión o degradando GPC3 de origen natural con proteasas. Se puede utilizar un péptido C-terminal de GPC3 como péptido parcial, y también se puede utilizar un fragmento peptídico más pequeño que contiene el epítipo en la parte.

30 Los mamíferos para su inmunización con un antígeno sensibilizante se seleccionan preferiblemente, teniendo en cuenta la compatibilidad con las células parentales para su uso en la fusión celular. Los mamíferos utilizados para su inmunización preferiblemente incluyen, pero no están limitados a, roedores tales como ratón, rata, hámster o conejo o mono.

35 Para la inmunización de animales con un antígeno sensibilizante, se pueden emplear métodos conocidos. Generalmente, por ejemplo, un antígeno sensibilizante se inyecta intraperitonealmente o subcutáneamente en mamíferos. Específicamente, un antígeno sensibilizante se diluye o suspende en PBS (solución salina tamponada con fosfato) o solución salina fisiológica o similares, hasta un volumen apropiado, y se mezcla con un volumen apropiado de coadyuvantes convencionales, tales como coadyuvante completo de Freund. Después de la emulsión, la mezcla emulsionada se administra a mamíferos varias veces cada 4 a 21 días. Además, se puede utilizar un portador apropiado durante la inmunización con un antígeno sensibilizante. En caso de que se utilice un péptido parcial de un peso molecular muy pequeño como antígeno sensibilizante, el péptido parcial se puede unir preferiblemente a proteínas portadoras, tales como albúmina y hemocianina de lapa ojo de cerradura después de la inmunización.

45 Después de inmunizar los mamíferos como antes y de observar el aumento del nivel de un antígeno deseado en suero, se recogen las células inmunitarias de los mamíferos, que a continuación se someten a fusión celular. Preferiblemente, la célula inmunitaria es un esplenocito.

50 Como otra célula parental que se va a fusionar con la célula inmunitaria, se puede utilizar una célula de mieloma de mamífero. En cuanto a la célula de mieloma, se utilizan preferiblemente varias líneas celulares conocidas, incluyendo por ejemplo P3 (P3x63Ag8. 653) (*J. Immunol.* (1979) 123, 1548-1550), P3x63Ag8U. 1 (*Current Topics in Microbiology and Immunology* (1978) 81, 1-7), NS-1 (Kohler G. y Milstein, C. *Eur. J. Immunol.* (1976) 6, 511-519), MPC-11 (Margulies, D. H. et al., *Cell* (1976) 8, 405-415), SP2/0 (Shulman, M. et al., *Nature* (1978) 276, 269-270), F0 (de St. Groth, S. F. et al., *J. Immunol. Methods* (1980) 35, 1-21), S194 (Trowbridge, I. S. *J. Exp. Med.* (1978) 148, 313-323), y R210 (Galfre, G. et al., *Nature* (1979) 277, 131-133).

60 La fusión celular de la célula inmunitaria con la célula de mieloma se realiza esencialmente por medio de métodos conocidos, por ejemplo el método de Kohler & Milstein et al. (Kohler G. y Milstein C., *Methods Enzymol.* (1981) 73, 3-46).

Más específicamente, la fusión celular se lleva a cabo en medios de cultivo nutritivos convencionales en presencia de un estimulador de la fusión celular. El estimulador de la fusión celular incluye, por ejemplo, polietilenglicol (PEG) y virus Sendai (HVJ). Si se desea, se pueden añadir agentes auxiliares tales como dimetilsulfóxido y utilizar de manera que se aumente la eficacia de la fusión.

65

La razón que se va a utilizar de una célula inmunitaria y una célula de mieloma se puede determinar apropiadamente. Por ejemplo, es preferible una célula inmunitaria a una razón de 1 a 10 veces con respecto a una célula de mieloma. El medio de cultivo para su uso en la fusión celular incluye, por ejemplo, RPMI 1640 y MEM, y otros medios de cultivo convencionales adecuados para el crecimiento de líneas celulares de mieloma. Adicionalmente, se pueden utilizar combinados agentes de suero auxiliares tales como suero fetal de ternera (FCS).

La fusión celular se puede realizar mezclando cuidadosamente cantidades predeterminadas de célula inmunitarias y células de mieloma en el medio de cultivo, añadiendo la mezcla resultante a una solución de PEG (por ejemplo, un peso molecular medio de aproximadamente 1.000 a 6.000) calentada preliminarmente a aproximadamente 37°C, generalmente a una concentración de 30 a 60% p/v, y mezclando con posterioridad la mezcla para permitir que se forme la célula de fusión (hibridoma) deseada.

Con posterioridad, se eliminan un agente de fusión celular y similares no preferible para el crecimiento del hibridoma añadiendo sucesivamente el medio de cultivo apropiado y centrifugando la mezcla para descartar el sobrenadante, y repitiendo los procedimientos descritos anteriormente.

El hibridoma obtenido de este modo se selecciona por medio de cultivo en un medio de cultivo selectivo convencional, tal como medio HAT (conteniendo hipoxantina, aminopterina y timidina). El cultivo en el medio HAT se continúa durante un período de tiempo suficiente (por lo general de varios días a varias semanas) para destruir las células (células no fusionadas) distintas de las células de hibridoma deseadas. A continuación, se lleva a cabo un método de dilución limitada convencional para el escrutinio y la clonación sencilla de un hibridoma que produce el anticuerpo deseado.

El escrutinio y la clonación sencilla del hibridoma se pueden realizar por medio de un método de escrutinio sobre la base de las reacciones antígeno-anticuerpo conocidas. El antígeno se une a portadores tales como cuentas elaboradas de poliestireno y similares, o placas de microtitulación de 96 pocillos disponibles en el mercado, y se hace reaccionar con un sobrenadante de cultivo del hibridoma. Después de enjuagar los portadores, se añade a la placa un anticuerpo secundario marcado con enzima para determinar si un anticuerpo deseado que reacciona con el antígeno sensibilizante está contenido en el sobrenadante de cultivo. El hibridoma que produce el anticuerpo deseado se puede clonar por medio del método de dilución limitada. El péptido C-terminal de GPC3 o un fragmento del mismo se puede utilizar como el antígeno para el escrutinio.

Por añadidura para la obtención de un hibridoma por medio de la inmunización de un animal excepto seres humanos con un antígeno, un anticuerpo humano se puede preparar mediante otro método. El linfocito humano es sensibilizado con GPC3 in vitro y a continuación se fusiona con la célula de mieloma con una potencia de división permanente derivada de seres humanos, para obtener un anticuerpo humano deseado con una actividad de unión hacia el péptido C-terminal de GPC3 (véase el documento JP-B-1-59878). Adicionalmente, se puede obtener un anticuerpo humano contra el péptido C-terminal de GPC3 por medio de la administración de GPC3 en forma de antígeno a un animal transgénico que porte todos los repertorios de los genes de los anticuerpos humanos para obtener una célula que produce un anticuerpo anti-GPC3 contra el péptido C-terminal, y a continuación inmortalizando la célula (véase las Publicaciones de Patente Internacional WO 94/25585, WO 93/12227, WO 92/03918, y WO 94/02602).

El hibridoma que produce el anticuerpo monoclonal preparado de este modo se puede subcultivar en un medio de cultivo convencional y se puede almacenar en nitrógeno líquido durante un largo periodo de tiempo.

Un método para obtener el anticuerpo monoclonal a partir del hibridoma implica cultivar el hibridoma por medio de un método convencional y obtener el anticuerpo monoclonal a partir de un sobrenadante de cultivo del mismo. Otro método implica administrar el hibridoma a un animal compatible con el hibridoma para su proliferación y obtener el anticuerpo monoclonal en forma de ascitis. El primer método es adecuado para obtener el anticuerpo con una alta pureza, mientras que el último método es adecuado para la producción del anticuerpo a gran escala.

De acuerdo con la invención, un anticuerpo monoclonal incluye un anticuerpo recombinante producido por medio de tecnología recombinante de genes. Un anticuerpo recombinante se puede generar clonando el gen del anticuerpo del hibridoma, integrando el gen en un vector apropiado, introduciendo el gen en un anfitrión, y permitiendo que el anticuerpo recombinante sea producido por el anfitrión (véase por ejemplo Vandamme, A. M. et al., Eur. J. Biochem. (1990) 192, 767-775, 1990). Específicamente, el ARNm que codifica la región variable (V) del anti-péptido C-terminal de GPC3 es aislado del hibridoma que genera el anticuerpo anti-péptido C-terminal de GPC3, el aislamiento del ARNm se puede llevar a cabo por medio de métodos conocidos. Por ejemplo, el ARN total se prepara mediante el método de ultra-centrifugación con guanidina (Chirgwin, J. M. et al., Biochemistry (1979) 18, 5294-5299) o el método AGPC (Chomczynski, P. et al., Anal. Biochem. (1987) 162, 156-159), a partir de los cuales el ARNm deseado se prepara utilizando el kit de purificación de ARNm (fabricado por Pharmacia). Alternativamente, el ARNm se puede preparar directamente utilizando el kit de purificación de ARNm QuickPrep (fabricado por Pharmacia).

El ADNc de la región V del anticuerpo es sintetizado a partir del ARNm resultante, utilizando la transcriptasa inversa. El ADNc puede ser sintetizado, utilizando el Kit de Síntesis de la Primera Hebra de ADNc mediante Transcriptasa Inversa AMV "AMV Reverse Transcriptase First-strand ADNc Synthesis Kit" (fabricado por Seikagaku Corporation).

El ADNc también puede ser sintetizado y amplificado utilizando 5'-AmpliFinder Race Kit (fabricado por Clontech) y el método 5'-RACE utilizando PCR (Frohman, M.A. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1988) 85, 8998-9002; Belyavsky, A. et al., Nucleic Acids Res. (1989) 17, 2919-2932).

- 5 El fragmento de ADN deseado se purifica del producto de PCR resultante y se conecta a un ADN vector. Se prepara un vector recombinante a partir del ADN vector y se introduce en *Escherichia coli* y similares para seleccionar una colonia para la preparación de un vector recombinante deseado. Con posterioridad, la secuencia de nucleótidos del ADN deseado se puede confirmar por medio de métodos conocidos, por ejemplo el método de terminación de la cadena con didesoxinucleótidos.
- 10 Después de obtener el ADN que codifica la región V del anticuerpo anti-péptido C-terminal de GPC3 deseado, el ADN se inserta en un vector de expresión que contiene el ADN que codifica la región constante deseada (región C) del anticuerpo.
- 15 Con el fin de producir el anticuerpo anti-péptido C-terminal de GPC3 para su uso de acuerdo con la invención, el gen del anticuerpo se introduce en un vector de expresión de manera que el gen se exprese bajo el control de una región reguladora de la expresión, por ejemplo intensificadora y promotora. A continuación, se transforma una célula anfitriona con el vector de expresión, para expresar el anticuerpo.
- 20 El gen del anticuerpo puede ser expresado insertando separadamente el ADN que codifica la cadena pesada (cadena H) del anticuerpo y el ADN que codifica la cadena ligera (cadena L) del mismo en vectores de expresión para transformar simultáneamente una célula anfitriona, o insertando los ADN que codifican la cadena H y la cadena L en un vector de expresión sencillo para transformar una célula anfitriona (véase el documento WO 94/11523).
- 25 Además, no solo se pueden utilizar tales células anfitrionas sino también un animal transgénico para generar un anticuerpo recombinante. Por ejemplo, el gen del anticuerpo se inserta en mitad de un gen que codifica una proteína (p. ej., β -caseína de cabra) generada inherentemente en la leche para preparar una fusión génica. El fragmento de ADN que comprende el gen de fusión con el gen del anticuerpo insertado en el mismo se inyecta en un embrión de cabra, que es introducido en una cabra hembra. El anticuerpo deseado se obtiene de la leche producida por una cabra transgénica nacida de la cabra que había recibido el embrión o una progenie de la misma. Para incrementar la cantidad de leche que contiene el anticuerpo deseado producido por la cabra transgénica, la hormona se puede administrar apropiadamente a la cabra transgénica (Ebert, K. M. et al., *Bio/Technology* (1994) 12, 699-702).
- 30 De acuerdo con la invención, también se puede utilizar anticuerpos recombinantes modificados artificialmente, por ejemplo un anticuerpo quimérico (p. ej., anticuerpo humanizado). Estos anticuerpos modificados se pueden producir utilizando métodos existentes. En caso de que el anticuerpo de la invención se vaya a utilizar como un anticuerpo para un tratamiento terapéutico, se utiliza preferiblemente el anticuerpo de tipo recombinante genético.
- 35 El anticuerpo quimérico se puede obtener conectando el ADN que codifica la región V del anticuerpo obtenido de la manera descrita anteriormente a ADN que codifica la región C de un anticuerpo humano, insertando el ADN resultante en un vector de expresión, e introduciendo el vector en un anfitrión para la producción del anticuerpo. Utilizando este método existente, se puede obtener un anticuerpo quimérico útil de acuerdo con la invención.
- 40 El anticuerpo humanizado es referido también como anticuerpo humano reestructurado y se prepara trasplantando la región determinante de la complementariedad (CDR) de un anticuerpo de mamíferos excepto seres humanos, por ejemplo ratón, a la región determinante de la complementariedad de un anticuerpo humano. Sus mecanismos de recombinación genética generales son conocidos también en la técnica (véase la Solicitud de Patente Europea EP 125023; documento WO 96/02576).
- 45 Específicamente, una secuencia de ADN diseñada de manera que la CDR del anticuerpo de ratón se pueda conectar a la región marco (FR) del anticuerpo humano se prepara sintéticamente mediante PCR, utilizando varios oligonucleótidos preparados de manera que los oligonucleótidos pudieran tener porciones solapadas con las regiones terminales tanto de CDR como de FR (véase el método descrito en el documento WO 98/13388).
- 50 La región FR del anticuerpo humano que se va a conectar a la CDR se selecciona de manera que la CDR pueda formar un buen sitio de unión al antígeno. Si fuera necesario, los aminoácidos de la FR en la región V del anticuerpo se pueden sustituir, de manera que la CDR del anticuerpo humano reestructurado pueda formar un sitio de unión al antígeno apropiado (Sato, K. et al., *Cancer Res.* (1993) 53, 851-856).
- 55 En cuanto a las regiones C del anticuerpo quimérico y del anticuerpo humanizado, se utilizan las de anticuerpo humano; por ejemplo, se pueden utilizar Cy1, Cy2, Cy3, y Cy4 para la cadena H, mientras que Ck y Cl se pueden utilizar para la cadena L. Con el fin de mejorar la estabilidad del anticuerpo o su producción, se puede modificar la región C del anticuerpo humano.
- 60 Preferiblemente, el anticuerpo quimérico contiene una secuencia de un anticuerpo derivado de mamíferos excepto seres humanos en la región V, y contiene una secuencia derivada de un anticuerpo humano en la región C.
- 65

El anticuerpo humanizado comprende la CDR de un anticuerpo derivado de mamíferos excepto seres humanos, y las regiones FR y C derivadas de un anticuerpo humano. Puesto que la antigenicidad del anticuerpo quimérico tal como el anticuerpo humanizado es reducida en seres humanos, el anticuerpo quimérico es útil como componente activo de un agente terapéutico de la invención.

El anticuerpo para su uso de acuerdo con la invención no solo es la molécula de anticuerpo completa sino también un fragmento del anticuerpo o un producto modificado del mismo, incluyendo un anticuerpo divalente y un anticuerpo monovalente, siempre y cuando tal fragmento o tal producto modificado se puedan unir al péptido C-terminal de GPC-3. Por ejemplo, el fragmento de anticuerpo incluye Fab, F(ab')₂, Fv, Fab/C que tiene un Fab y FC completa, o Fv de cadena sencilla (scFv) donde los Fv de la cadena H y la cadena L están conectados a través de un conector apropiado. Específicamente, el anticuerpo se trata con enzimas, por ejemplo papaína y pepsina, para generar fragmentos de anticuerpos. Por otra parte, los genes que codifican estos fragmentos de anticuerpo se construyen, se introducen en un vector de expresión y se expresan en una célula anfitriona apropiada (véase por ejemplo, Co, M. S. et al., J. Immunol. (1994) 152, 2968-2976; Better, M. & Horwitz, A. H. Methods in Enzymology (1989) 178, 476-496, Academic Press, Inc.; Plueckthun, A. & Skerra, A. Methods in Enzymology (1989) 178, 476-496, Academic Press. Inc. : Lamoyi, E., Methods in Enzymology (1989) 121, 652-663; Rousseaux, J. et al., Methods in Enzymology (1989) 121, 663-669; Bird, R. E. et al., TIBTECH (1991) 9, 132-137).

El ScFv se puede obtener conectando la región V de la cadena H y la región V de la cadena L de un anticuerpo. En este scFv, la región V de la cadena H y la región V de la cadena L se conectan entre sí a través de un conector, preferiblemente un conector peptídico (Huston, J. S. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1988) 85, 5879-5883). La región V de la cadena H y la región V de la cadena L en el scFv pueden estar derivadas de cualquier anticuerpo descrito en la presente memoria. Se puede utilizar cualquier péptido monocatenario que comprenda de 12 a 19 residuos de aminoácido como conector peptídico para conectar la región Vs.

El ADN que codifica el scFv se obtiene amplificando en primer lugar el ADN que codifica la cadena H o la región V de la cadena H y el ADN que codifica la cadena L o la región V de la cadena L utilizando como molde una porción de ADN que codifica todas sus secuencias o una de sus secuencia de aminoácidos deseadas y un par de cebadores que definen ambos extremos, y a continuación amplificando el ADN con ADN que codifica el conector peptídico y un par de cebadores definidos de tal manera que ambos extremos del conector peptídico se puedan conectar respectivamente a la cadena H y la cadena L.

Una vez que se prepara el ADN que codifica el scFv, se puede obtener un vector de expresión que porta el ADN y un anfitrión transformado con el vector de expresión mediante métodos convencionales. El scFv se puede obtener utilizando el anfitrión por medio de métodos convencionales.

Los fragmentos de anticuerpo se pueden generar obteniendo y expresando el gen de la misma manera que se ha descrito antes y permitiendo que el anfitrión produzca los fragmentos. El "anticuerpo" de acuerdo con la invención incluye tales fragmentos de anticuerpo.

También se puede utilizar un producto modificado del anticuerpo, por ejemplo, anticuerpos anti-glicoproteína conjugados con diversas moléculas tales como sustancias marcadoras, toxinas, y materiales radiactivos. El "anticuerpo" de acuerdo con la invención incluye estos anticuerpos modificados. Tales anticuerpos modificados se pueden obtener mediante modificación química de un anticuerpo.

Los métodos para modificar anticuerpos ya han sido establecidos en la técnica.

Adicionalmente, el anticuerpo para su uso de acuerdo con la invención puede ser un anticuerpo biespecífico. El anticuerpo biespecífico puede incluir aquellos que tienen sitios de unión al antígeno que reconocen epítopos diferentes sobre el péptido C-terminal de GPC3. Alternativamente, uno de los sitio de unión al antígeno reconoce el péptido C-terminal de GPC3, mientras que el otro sitio de unión al antígeno puede reconocer una sustancia marcadora y similares. Tal anticuerpo biespecífico se puede preparar u obtener conectando pares de HL de dos tipos de anticuerpos o utilizando hibridomas que generan diferentes anticuerpos monoclonales juntos para preparar una célula de fusión capaz de producir un anticuerpo biespecífico. Adicionalmente, tal anticuerpo biespecífico se puede preparar por medio de una técnica de ingeniería genética.

De acuerdo con la invención, también se puede utilizar un anticuerpo con una cadena de azúcar modificada con el fin de potenciar la actividad citotóxica. El mecanismo de modificación de la cadena de azúcar del anticuerpo es conocido en la técnica (por ejemplo, documento WO 00/61739, documento WO 02/31140, etc.).

El gen del anticuerpo construido de la manera descrita anteriormente se puede expresar y obtener por medio de métodos conocidos. En caso de una célula de mamífero, un promotor útil convencional, el gen del anticuerpo que se va a expresar y una señal de poli(A) aguas abajo del lado 3' del mismo se conectan funcionalmente para la expresión. Por ejemplo, el promotor/intensificador incluye el promotor temprano inmediato/intensificador de citomegalovirus humano.

Además, el promotor/intensificador para su uso en la expresión del anticuerpo para su uso de acuerdo con la invención incluye, por ejemplo, promotores virales incluyendo retrovirus, virus de polio, adenovirus y virus de simios 40 (SV40)/intensificador o promotores derivados de célula de mamíferos tales como el factor de elongación humano (HEFla)/intensificador.

En caso de utilizar el promotor/intensificador de SV40, la expresión génica se puede realizar fácilmente por medio del método de Mulligan et al. (Nature (1979) 277,108). En caso de utilizar un promotor/intensificador HEFl, la expresión génica se puede realizar fácilmente por medio del método de Mizushima et al. (Nucleic Acids Res. (1990) 18, 5322).

En el caso de la Escherichia coli, un promotor convencional útil, una secuencia señal para la secreción del anticuerpo y un gen del anticuerpo que se vaya a expresar se conectan funcionalmente para expresar el gen. El promotor incluye por ejemplo el promotor lacZ y el promotor araB. En caso de que se vaya a utilizar el promotor lacZ, el gen se puede expresar por medio del método de Ward et al. (Nature (1998), 341, 544-546; FASEBJ. (1992) 6, 2422-2427). En caso de que se vaya a utilizar el promotor araB, el gen se puede expresar mediante el método de Better et al. (Science (1988) 240, 1041-1043).

En cuanto a la secuencia señal para la secreción de anticuerpo, se puede utilizar la secuencia señal pe1B (Lei, S. P. et al. J. Bacteriol. (1987) 169, 4379) cuando el anticuerpo es generado en el periplasma de Escherichia coli. Después de separar el anticuerpo generado en el periplasma, la estructura del anticuerpo se repliega apropiadamente para su uso.

En cuanto al origen de replicación, se pueden utilizar los de SV40, virus del polio, adenovirus y virus de papiloma bovino (BPV). Para la amplificación del número de copias del gen en un sistema anfitrión celular, el vector de expresión puede portar un marcador selectivo, por ejemplo, el gen de la aminoglicosido transferasa (APH), el gen de la timidina quinasa (TK), el gen de la xantina guanina fosforribosil transferasa de Escherichia coli (Ecogpt) y el gen de la deshidrofolato reductasa (dhfr).

Con el fin de producir el anticuerpo para su uso de acuerdo con la invención, se puede utilizar un sistema de expresión apropiado, por ejemplo un sistema de célula eucariótica o de célula procariótica. La célula eucariótica incluye por ejemplo líneas celulares animales establecidas tales como líneas celulares de mamífero, líneas celulares de insecto, células fúngicas y células de levaduras. La célula procariótica incluye por ejemplo células bacterianas tales como una célula de Escherichia coli.

Preferiblemente, el anticuerpo para su uso de acuerdo con la invención se expresa en células de mamífero, por ejemplo células CHO, COS, de mieloma, BHK, Vero, y HeLa.

La célula anfitriona transformada se cultiva in vitro o in vivo para producir el anticuerpo deseado. La célula anfitriona se puede cultivar por medio de métodos conocidos. En cuanto al medio de cultivo, por ejemplo, se pueden utilizar DMEM, MEM, RPMI 1640 e IMDM. También se puede utilizar combinado fluido coadyuvante de suero tal como suero fetal de ternera (FCS).

El anticuerpo expresado y generado como se ha descrito con anterioridad se puede separar de tales células o animales anfitriones y a continuación se puede purificar hasta su homogeneidad. El anticuerpo para su uso de acuerdo con la invención se puede separar y purificar utilizando una columna de afinidad. Una columna de proteína A incluye, por ejemplo, Hyper D, POROS, Sepharose F. F. (fabricada por Pharmacia). Además, se puede emplear cualquier método de separación y purificación utilizado generalmente para proteínas en la invención. Por ejemplo, se pueden utilizar columnas de cromatografía diferentes de la columna de afinidad, filtración, ultrafiltración, precipitación por adición de sal, y diálisis combinadas para separar y purificar el anticuerpo (Antibodies A Laboratory Manual, Ed. Harlow, David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988).

2. Perturbación del desarrollo de una célula cancerosa utilizando el anticuerpo anti-péptido C-terminal de GPC3 y terapia contra el cáncer utilizando el mismo

(1) Determinación de la actividad del anticuerpo

La actividad de unión al antígeno del anticuerpo para su uso de acuerdo con la invención se puede someter a ensayo utilizando técnicas conocidas (Antibodies A Laboratory Manual. Ed. Harlow, David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988) y una actividad de inhibición de la unión ligando-receptor del mismo (Harada, A. et al., International Immunology (1993) 5, 681-690).

Un método para someter a ensayo la actividad de unión al antígeno del anticuerpo anti-péptido C-terminal de GPC3 para su uso de acuerdo con la invención incluye ELISA (análisis de inmunoabsorción con enzima ligada), EIA (inmunoanálisis enzimático), RIA (radioinmunoanálisis) y el método del anticuerpo fluorescente. En el inmunoanálisis enzimático, una muestra que contiene el anticuerpo anti-péptido C-terminal de GPC3, por ejemplo un sobrenadante

de cultivo de una célula que produce el anticuerpo anti-péptido C-terminal de GPC3 o el anticuerpo purificado se añade a una placa recubierta con el péptido C-terminal de GPC-3 que consiste en los residuos de aminoácidos 375-380 de GPC3. Se añade un anticuerpo secundario marcado con una enzima tal como fosfatasa alcalina y la placa se incuba y se enjuaga, a continuación se añade un sustrato enzimático tal como ácido p-nitrofenilfosfórico para medir la absorbancia y evaluar la actividad de unión al antígeno.

Con el fin de determinar la actividad del anticuerpo para su uso de acuerdo con la invención, se mide la actividad de neutralización del anticuerpo anti-péptido C-terminal de GPC3.

(2) Citotoxicidad

Con fines terapéuticos, el anticuerpo para su uso de acuerdo con la invención preferiblemente tiene la actividad ADCC o la actividad CDC como citotoxicidad.

La actividad ADCC se puede someter a ensayo mezclando una célula efectora, una célula diana y el anticuerpo anti-péptido C-terminal de GPC3 y examinando el nivel de ADCC. Como célula efectora, se puede utilizar una célula tal como esplenocito ratón y célula mononuclear separada de sangre periférica humana o médula ósea. Como célula diana, se puede utilizar una línea celular humana tal como la línea de hepatoma humano HuH-7. Las células diana se marcan preliminarmente con ⁵¹Cr y se incuban con el anticuerpo anti-péptido C-terminal de GPC3, a continuación se añaden células efectoras a una razón apropiada a las células diana y se incuban. Después de la incubación, se recoge el sobrenadante para contar la radiactividad en el sobrenadante, para someter a ensayo la actividad ADCC.

Adicionalmente, la actividad CDC se puede someter a ensayo mezclando la célula diana marcada descrita anteriormente con el anticuerpo anti-péptido C-terminal de GPC3, añadiendo con posterioridad complemento, y contando la radiactividad en el sobrenadante después de la incubación.

El radical Fc es necesario para que el anticuerpo ejerza la citotoxicidad. En caso de que el inhibidor de la proliferación celular de acuerdo con la invención utilice la citotoxicidad del anticuerpo, el anticuerpo anti-péptido C-terminal de GPC3 para su uso de acuerdo con la invención preferiblemente contiene el radical Fc.

(3) Perturbación del desarrollo celular

El anticuerpo anti-péptido C-terminal de GPC3 de la invención también se puede utilizar para la perturbación del desarrollo celular, particularmente para la perturbación del desarrollo de una célula cancerosa. Adicionalmente, el anticuerpo anti-péptido C-terminal de GPC3 de la invención se puede utilizar como agente anticanceroso. Los cánceres que van a ser tratados terapéuticamente y prevenidos por el anticuerpo de la invención incluyen, pero no están limitados a, hepatoma, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de páncreas y linfoma, preferiblemente Hepatoma.

(4) Método de administración y formulación farmacéutica

El agente para la perturbación del desarrollo celular o el agente anticanceroso de acuerdo con la invención se utiliza con el fin de tratar terapéuticamente o mejorar enfermedades ocasionadas por el crecimiento celular anómalo, particularmente cáncer.

La dosis eficaz se seleccionan en un intervalo de 0,001 mg a 1,000 mg por 1 kg de peso corporal. Asimismo la dosis eficaz se selecciona dentro de un intervalo de 0,01 mg a 100.000 mg/de peso corporal por paciente. Sin embargo, la dosis de los agentes terapéuticos que contienen el anticuerpo anti-péptido C-terminal de GPC3 de la invención no está limitada a las dosis anteriores.

El cálculo del momento para la administración del agente terapéutico de la invención es antes o después del comienzo de los síntomas clínicos de las enfermedades.

El agente terapéutico que comprende el anticuerpo anti-péptido C-terminal de GPC3 de acuerdo con la invención como componente activo se puede formular por medio de un método convencional (Remington's Pharmaceutical Science, última edición, Mark Publishing Company, Easton, USA), y puede contener también portadores y aditivos farmacéuticamente aceptables.

Los ejemplos de tales portadores y aditivos farmacéuticos incluyen agua, disolventes orgánicos farmacéuticamente aceptables, colágeno, poli(alcohol vinílico), polivinilpirrolidona, polímero carboxivinílico, carboximetilcelulosa sódica, poliacrilato sódico, alginato sódico, dextrano soluble en agua, carboximetilalmidón sódico, pectina, metilcelulosa, etilcelulosa, goma xantana, goma arábiga, caseína, agar, polietilenglicol, diglicerina, glicerina, propilenglicol, vaselina, parafina, alcohol estearílico, ácido esteárico, albúmina de suero humana (HSA), manitol, sorbitol, lactosa y tensioactivos aceptables como aditivos farmacéuticos.

En la práctica, un aditivo o una de sus combinaciones se selecciona dependiendo de la forma de dosificación del agente terapéutico de la invención. Sin embargo, el aditivo no está limitado a los descritos antes. En caso de que el agente terapéutico se vaya a utilizar en una formulación inyectable, el anticuerpo anti-péptido C-terminal de GPC3 de la invención purificado se disuelve en un disolvente, tal como solución salina fisiológica, tampones, y solución de glucosa, y se añaden agentes que prevengan la adsorción tales como Tween 80, Tween 20, gelatina y albúmina de suero humana. Alternativamente, el agente terapéutico se proporciona en forma liofilizada como una forma de dosificación que se va a disolver y reconstituir antes de su uso. En cuanto a los excipientes para la liofilización se pueden utilizar, por ejemplo, alcoholes de azúcares tales como manitol y glucosa y azúcares.

10 Breve Descripción de los Dibujos

La Fig. 1 muestra un diagrama de barras que representa los resultados del análisis de la expresión del ARNm de GPC3 utilizando Gene Chip, donde la Fig. 1A representa la expresión de GPC3 y la Fig. 1B representa la expresión de la alfa-fetoproteína (AFP). NL, CH, LC, WD, MD y PD en el eje horizontal representan hígado normal, lesión de hepatitis inflamatoria, lesión de cirrosis hepática, cáncer bien diferenciado, cáncer moderadamente diferenciado y cáncer escasamente diferenciado, respectivamente.

La Fig. 2 muestra imágenes de GPC3 soluble purificada de tipo aducto de sulfato de heparano y proteína núcleo de GPC-3, teñidas con CBB.

La Fig. 3 muestra un diagrama de barras que representa la expresión del gen de GPC3 en hepatoma humano.

La Fig. 4 muestra los resultados de la transferencia western de la forma soluble de la proteína núcleo utilizando el anticuerpo anti-GPC3.

La Fig. 5 muestra el principio del ELISA sándwich utilizando el anticuerpo anti-GPC3.

La Fig. 6 es un gráfico de la curva patrón para el ELISA sándwich de GPC3 utilizando M6B1 y M18D4.

La Fig. 7 es una visión esquemática de la estructura de GPC3.

La Fig. 8 muestra combinaciones de los anticuerpos anti-GPC3 empleados en el ELISA.

La Fig. 9 es un gráfico de la curva patrón para el sistema ELISA sándwich de GPC3 utilizando diversas combinaciones de los anticuerpos anti-GPC3.

La Fig. 10 muestra los resultados de análisis de la actividad ADCC del anticuerpo anti-GPC3.

La Fig. 11 muestra los resultados de análisis de la actividad CDC del anticuerpo anti-GPC3.

30 Mejor Modo de Llevar a cabo la Invención

La invención se describe ahora específicamente en los siguientes Ejemplos. Sin embargo, la invención no está limitada por los Ejemplos.

En los Ejemplos descritos en esta memoria, se utilizan los siguientes materiales.

Como vectores de expresión de la forma soluble de GPC3 y la forma soluble de la proteína núcleo de GPC-3, se utilizaron pCXND2 y pCXND3 preparados integrando el gen de la DHFR y el gen de resistencia a la neomicina en pCAGGS.

DXB11 se adquirió de la ATCC. Para el cultivo, se utilizó FBS al 5% (GIBCO BRL NÚM. DE CAT. 10099-141, NÚM. de Lote A0275242/Medio Esencial Mínimo Alfa (α -MEM (+)) (GIBCO BRL NÚM. DE CAT. 12571-071)/Penicilina al 1% -Estreptomina (GIBCO BRL NÚM. DE CAT. 15140-122). Para la selección de la línea celular estable de DXB11 que expresa cada proteína, se utilizaron 500 μ g/mL de Geneticina (GIBCO BRL NÚM. DE CAT. 10131-027)/ FBS/ α -MEM al 5% sin ribonucleótidos y desoxirribonucleótidos (GIBCO BRL NÚM. DE CAT. 12561-056) (α -MEM (-))/PS solo o con un suplemento de MTX a una concentración final 25 nM.

HepG2 se adquirió de ATCC y se mantuvo en FBS al 10% /medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) (GIBCO BRL NÚM. DE CAT. 11995-065)/PS.

El hibridoma se mantuvo en FBS al 10%/RPMI1640/1 \times suplemento de medio HAT (SIGMA NÚM. DE CAT. H-0262)/0,5 \times suplemento de clonación de Hibridoma BM-Condimed H1 (Roche NÚM. DE CAT. 1088947).

55 Ejemplo 1

Clonación y análisis de expresión de ADNc de GPC3 humana (GPC3)

60 Clonación del ADNc completo que codifica el glicoproteína 3 humano (más adelante GPC3)

El ADNc completo que codifica GPC3 humana se amplificó mediante PCR, utilizando como molde un ADNc de primera hebra preparado a partir de una línea celular de cáncer de colon Caco2 por medio de un método general y un kit Advantage 2 (Clontech Núm. de Cat. 8430-1). Específicamente, 50 μ l de una solución de reacción que contenía ADNc derivado de Caco2 de 2 μ l, 1 μ l de un cebador efector (SEQ ID NO: 1), 1 μ l de un cebador antisentido (SEQ ID NO: 2), 5 μ l de Advantage 2 $10 \times$ tampón PCR, 8 μ l de mezcla dNTP (1,25 mM) y 1,0 μ l de Mezcla para polimerasa Advantage se sometieron a 35 ciclos de 94°C durante un minuto, 63°C durante 30 segundos

y 68°C durante 3 minutos. El producto amplificado a partir de la PCR (insertado en un vector TA pGEM-T Easy utilizando pGEM-T Easy Vector System I (Promega Cat No. A1360)) se secuenció utilizando un secuenciador de ADN ABI3100 para confirmar que se había aislado el ADNc que codifica la GPC3 humana completa. La secuencia representada por SEQ ID NO: 3 indica la secuencia de nucleótidos del gen de la GPC3 humana, mientras la

5 secuencia representada por el SEQ ID NO: 4 indica la secuencia de aminoácidos de la proteína GPC3 humana.

SEQ ID NO: 1: GATATC-ATGGCCGGGACCGTGCGCACCGCGT

SEQ ID NO: 2: GCTAGC-TCAGTGCACCAGGAAGAAGAAGCAC

10 **Análisis de Expresión del ARNm de GPC3 humana utilizando GeneChip**

La expresión del ARNm se analizó en 24 casos con lesiones de hepatoma (cáncer bien diferenciado: WD; cáncer moderadamente diferenciado: MD; cáncer escasamente diferenciado: PD), 16 hepatoma casos con lesiones no cancerosas (lesión de hepatitis: CH, lesión de cirrosis: LC), 8 casos con hígado normal: NL (consentimiento informado adquirido; asequeble de Tokyo University, School of Medicine and Saitama Cancer Center), utilizando GeneChip® UG-95A Target (Affymetrix). Específicamente, el ARN total se preparó utilizando ISOGEN (Nippon Gene) a partir de tejidos individuales, de los cuales se utilizaron 15 µg de cada uno de los ARN totales para el análisis de la expresión génica de acuerdo con el Expression Analysis Technical Manual (Affymetrix).

20 Como se ha mostrado en la Fig.1, el nivel de expresión del ARNm del gen GPC3 humano (Probe Set ID: 39350_at) fue aparentemente mayor en muchos de los casos en comparación con la expresión en tejido hepático normal, a pesar de las fases de diferenciación del hepatoma. Además, se realizó la comparación con la expresión del ARNm de la alfa-fetoproteína (Probe Set ID: 40114_at) utilizada muy comúnmente como marcador diagnóstico de hepatoma en la actualidad. Se mostró que incluso en cáncer bien diferenciado que casi no muestra tal expresión de ARNm de la alfa-fetoproteína, se observó una expresión del ARNm de GPC3 suficientemente aumentada, y que la razón de la activación de la expresión del ARNm de GPC3 fue mayor. De este modo, se considera que la detección de GPC3 es útil como método diagnóstico de hepatoma en una fase temprana.

30 **Ejemplo 2**

30 **Preparación de anticuerpo anti-GPC3**

Preparación de la forma soluble de GPC3 humana

35 Como material para preparar el anticuerpo anti-GPC3, se preparó la forma soluble de la proteína GPC3 que carecía de la región hidrófoba en el lado C-terminal.

Utilizando un ADN plasmídico que contenía el ADN humano de GPC3 en toda su extensión completo suministrado por Tokyo University, Advanced Technology Institute, se construyó un ADN plasmídico para expresar la forma soluble del ADNc de GPC3. La PCR se llevó a cabo utilizando un cebador aguas abajo (5'-ATA GAA TTC CAC CAT GGC CGG GAC CGT GCG C-3') (SEQ ID NO: 5) diseñado para eliminar la región hidrófoba del lado C-terminal (aminoácidos 564-580), y un cebador aguas arriba (5'-ATA GGA TCC CTT CAG CGG GGA ATG AAC GTT C-3') (SEQ ID NO.6) habiendo añadido la secuencia de reconocimiento de EcoRI y la secuencia de Kozak. El fragmento de PCR (1711 pb) resultante se clonó en pCXND2-Flag. El ADN del plásmido de expresión preparado se introdujo en una línea celular CHO DXB11. La selección con 500 µg/mL de Geneticina dio como resultado una línea CHO que expresaba sumamente la forma soluble de GPC3.

50 Utilizando una botella de cultivo rotatoria de 1700 cm², la línea CHO que expresaba sumamente la forma soluble de GPC3 se cultivó a gran escala, y el sobrenadante de cultivo se recogió para su purificación. El sobrenadante de cultivo se aplicó a DEAE Sepharose Fast Flow (Amersham NÚM. DE CAT. 17-0709-01), se lavó, y se hizo eluir con un tampón que contenía NaCl 500 mM. Con posterioridad, el producto fue sometido a purificación de afinidad utilizando gel de afinidad de agarosa Anti-Flag M2 (SIGMA NÚM. DE CAT. A-2220) y se hizo eluir con 200 µg/mL de péptido Flag. Después de la concentración con Centriprep-10 (Millipore Núm. de Cat. 4304), el péptido Flag se retiró por medio de filtración en gel con Superdex 200 HR 10/30 (Amersham NÚM. DE CAT. 17-1088-01). Finalmente, el producto se concentró utilizando una columna DEAE Sephaarose Fast Flow, se hizo eluir con PBS (que contenía NaCl 500 mM) que no contenía Tween 20 para la reposición del tampón.

Preparación de la forma soluble de la proteína núcleo de GPC3 humana

60 Utilizando el ADNc humano de GPC3 de tipo salvaje como molde, el ADNc se preparó por medio de PCR de ensamblaje, donde Ser 495 y Ser 509 se sustituyeron por Ala. Se diseñó un cebador de manera que se pudiera añadir una etiqueta de His al extremo C. El ADNc resultante se clonó en el vector pCXND3. El ADN del plásmido de expresión preparado se introdujo en una línea DXB11, seguido de selección con 500 µg/mL de Geneticina, para obtener la línea CHO que expresaba la forma soluble de la proteína núcleo de GPC-3.

65 Se realizó un cultivo a gran escala con una botella de cultivo rotatoria de 1700 cm², y el sobrenadante de cultivo se recogió para su purificación. El sobrenadante se aplicó a Q Sepharose Fast Flow (Amersham NÚM. DE CAT. 17-

0510-01), se lavó, se hizo eluir con un tampón de fosfato que contenía NaCl 500 mM. Con posterioridad, el producto fue sometido a purificación de afinidad utilizando Chelating Sepharose Fast Flow (Amersham NÚM. DE CAT. 17-0575-01), se hizo eluir con un gradiente de imidazol 10-150 mM. Finalmente, el producto se concentró con Q Sepharose Fast Flow y se hizo eluir con un tampón de fosfato que contenía NaCl 500 mM.

La electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS mostró una banda de tipo frotis de 50 a 300 kDa y una banda de aproximadamente 40 kDa. La Fig. 2 muestra los resultados de la electroforesis. La GPC3 es un proteoglicano de 69 kDa y con una secuencia de adición de sulfato de heparano en el extremo C. Se consideró que la banda de tipo frotis correspondía a GPC3 modificada con sulfato de heparano. Los resultados de la secuenciación de aminoácidos indicaron que la banda de aproximadamente 40 kDa tenía su origen en el fragmento N-terminal. De este modo, se anticipó que GPC3 estaba más o menos escindido.

Con el fin de eliminar los anticuerpos contra el sulfato de heparano en el siguiente escrutinio para el hibridoma, la forma soluble de la proteína núcleo de GPC-3 donde una secuencia señal de adición de sulfato de heparano la Ser 495 y la Ser 509 se sustituyeron por Ala. La línea de células CHO que expresa sumamente la proteína se preparó como antes, y el sobrenadante de cultivo fue sometido a purificación de afinidad utilizando la etiqueta de His. La electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS mostró tres bandas de 70 kDa, 40 kDa y 30 kDa. La secuenciación de aminoácidos indicó que la banda de 30 kDa fue el fragmento C-terminal de GPC3. El fragmento C-terminal comienza en la serina 359 o desde la valina 375. De este modo, se anticipó que GPC3 recibió cierta escisión enzimática. La razón por la que no se observó la banda de 30 kDa en la GPC3 de tipo sulfato de heparano añadido fue que el fragmento formó la banda de tipo frotis debido a la adición de sulfato de heparano. Es un descubrimiento novedoso que GPC3 reciba escisión enzimática en una secuencia específica de aminoácidos, pero su significado biológico todavía no se ha elucidado.

Los autores de la presente invención hicieron la suposición sobre la base de los resultados de que GPC3 sobre la membrana incluso en pacientes de hepatoma sería escindida y secretada como la forma soluble en sangre. En comparación con AFP como marcador de hepatoma, la expresión del gen de GPC3 se encontró más elevada en pacientes de hepatoma en las fases tempranas (Fig. 1). Con el fin de examinar la posibilidad como marcador tumoral novedoso con mayor utilidad clínica que la de AFP, se preparó un anticuerpo anti-GPC3 para construir un sistema ELISA sándwich como se describe en el Ejemplo 2 o más abajo.

Preparación de anticuerpo anti-GPC3

Debido a que la homología de GPC3 humana con GPC3 de ratón es tan alta como 94% a niveles de aminoácidos, se consideró que sería difícil obtener el anticuerpo anti-GPC3 mediante la inmunización de un ratón normal con GPC3 humana. De este modo, se utilizó un ratón MRL/lpr con enfermedad autoinmunitaria como animal que iba a ser inmunizado. Se inmunizaron cinco ratones MRL/lpr (CRL) con la forma soluble de GPC3. Para la primera inmunización, la proteína inmunógeno se ajustó a 100 µg/animal y a continuación se emulsificó utilizando FCA (coadyuvante completo de Freund (H37 Ra), Difco (3113-60), Becton Dickinson (Núm. de cat. 231131)), que a continuación se administró subcutáneamente a los ratones. Dos semanas más tarde, la proteína se ajustó a 50 µg/animal y se emulsionó con FIA (coadyuvante incompleto de Freund, Difco (0639-60), Becton Dickinson (Núm. de cat. 263910)) para su administración subcutánea a los ratones. A un intervalo de una semana desde entonces, se llevó a cabo el refuerzo 5 veces en total. Para el refuerzo final, la proteína se diluyó con PBS a 50 µg/animal, que se administró en la vena caudal. Por medio de ELISA utilizando una inmunoplaaca recubierta con la proteína núcleo de GPC-3, se confirmó que el título de anticuerpo en suero contra GPC3 se saturaba. Una célula de ratón de mieloma P3U1 y un esplenocito de ratón se mezclaron para permitir una fusión celular en presencia de PEG1500 (Roche Diagnostics, Núm. de cat. 783641). La mezcla resultante se inoculó en una placa de cultivo de 96 pocillos. A partir del día siguiente, el hibridoma se seleccionó con el medio HAT, el sobrenadante de cultivo se escrutó mediante ELISA. Los clones positivos se sometieron a monoclonación por medio del método de dilución limitada. El monoclon resultante se cultivó a gran escala y el sobrenadante de cultivo se recogió. El escrutinio mediante ELISA se realizó utilizando la actividad de unión a la proteína núcleo de GPC-3 como marcador para obtener seis clones de un anticuerpo anti-GPC3 con una fuerte potencia de unión.

El anticuerpo se purificó utilizando Hi Trap Protein G HP (Amersham NÚM. DE CAT. 17-0404-01). El sobrenadante del cultivo de hibridoma se aplicó directamente a una columna, se lavó con un tampón de unión (fosfato de sodio 20 mM, pH 7,0) y se hizo eluir con un tampón de elución (glicina 0,1 M -HCl, pH 2,7). El producto eluido se recogió en un tubo que contenía un tampón de neutralización (Tris-HCl 1 M, pH 9,0) para su neutralización inmediata. Después de reunir las fracciones de anticuerpo, la reserva resultante se sometió a diálisis contra Tween 20 al 0,05%/PBS durante la noche y durante un día entero para la reposición del tampón. Se añadió Na₂S₂O₃ al anticuerpo purificado hasta 0,02%. El anticuerpo se almacenó a 4°C.

Análisis del anticuerpo anti-GPC3

La concentración de anticuerpo se sometió a ensayo por medio de un ELISA sándwich para IgG de ratón utilizando anti-IgG de ratón de cabra (gamma) (ZYMED NÚM. DE CAT. 62-6600) y anti-IgG de ratón de cabra con fosfatasa

alcalina (gamma) (ZYMED NÚM. DE CAT. 62-6622), junto con un anticuerpo IgG1 de ratón purificado disponible en el mercado (ZYMED NÚM. DE CAT. 02-6100) como patrón.

5 El isotipaje del anticuerpo anti-GPC3 se realizó con ImmunoPure Monoclonal Antibody Isotyping Kit II (PIERCE NÚM. DE CAT. 37502) mediante el método de acuerdo con el manual adjunto. Los resultados del isotipaje indicaron que todos los anticuerpos fueron de tipo IgG1.

10 Mediante transferencia western utilizando la proteína núcleo de GPC-3, se clasificaron los epítomos del anticuerpo anti-GPC3. La forma soluble de la proteína núcleo de GPC-3 se aplicó a una SDS-PAGE al 10% mini (TEFCO NÚM. DE CAT. 01-075) a 100 ng/línea para la electroforesis (60 V durante 30 min; 120 V durante 90 min), y con posterioridad se transfirió a Immobilon-P (Millipore NÚM. DE CAT. IPVH R85 10) utilizando Trans-Blot SD Semi-Dry Electrophoretic Transfer Cell (BIO-RAD) (15 V durante 60 min). Después de enjuagar ligeramente la membrana con TBS-T (Tween 20 al 0,05 %, TBS), la membrana se sacudió con TBS-T que contenía leche desnatada al 5% durante 1 hora (a temperatura ambiente) o durante la noche (a 4°C). Después de sacudir con TBS-T durante 15 aproximadamente 10 minutos, se añadió cada anticuerpo anti-GPC3 diluido con TBS-T que contenía leche desnatada al 1% de 0,1 a 10 µg/ml durante una hora con sacudimiento. La membrana se enjuagó con TBS-T (10 minutos × tres veces) y se sacudió con anticuerpo anti-IgG de ratón-HRP (Amersham NÚM. DE CAT. NA 931) diluido a 1.1000 con TBS-T que contenía leche desnatada al 1% durante una hora, y se enjuagó con TBS-T (10 minutos × tres veces). Se utilizó ECL-Plus (Amersham RPN 2132) para la reacción cromogénica. Se utilizó Hyperfilm ECL (Amersham NÚM. DE CAT. RPN 2103K) para la detección. La Fig. 4 muestra los resultados del análisis mediante transferencia western. Para la clasificación, se determinó que el anticuerpo que reaccionaba con la banda de 40 kDa tenía un epítomo en el extremo N-terminal, mientras que el anticuerpo que reaccionaba con la banda de 30 kDa tenía un epítomo en el extremo C. Como anticuerpos que reconocían el lado N-terminal, se obtuvieron M6B1, M18D4, y M19B11. Como anticuerpos que reconocían el lado C-terminal, se obtuvieron M3C11, M13B3, y M3B8. 20 Los resultados del análisis utilizando BIACORE indicaron que los valores de KD de los anticuerpos individuales estuvieron en el intervalo de 0,2 a 17,6 nM. 25

Ejemplo de Referencia 1

30 Detección de la forma secretada de GPC3

Modelo de xenoinjerto de ratón

35 Se trasplantaron 3.000.000 de células HepG2 de hepatoma humano bajo la piel del abdomen en ratones SCID hembra de 6 semanas (Fox CHASE C. B-17/lcr-scidJcl, Japan Clair) y ratones atímicos (BALB/cA Jcl-nu, Japan Clair). Al cabo de 53 días cuando se había formado suficientemente el tumor, se retiró sangre completa de la cava posterior de los ratones SCID Núm. 1, 3, y 4 a los que se había trasplantado HepG2. El plasma se preparó en presencia de EDTA-2Na y aprotinina (tubo de sangre de vacío Nipro Neotube, NIPRO, NT-EA0205) y se almacenó a -20°C hasta los datos del análisis. En el caso del ratón SCID Núm. 2 al que se había trasplantado HepG2, la sangre completa se recogió 62 días después del trasplante de HepG2. En el caso de los ratones atímicos Núm. 1 y Núm. 2 a los que se había trasplantado HepG2, la sangre completa se recogió 66 días después del trasplante de HepG2. Como control, se preparó plasma a partir de ratón SCID normal de la misma edad mediante los mismos procedimientos.

45 ELISA Sándwich

Con el fin de detectar la forma secretada de GPC3 en sangre, se construyó un sistema ELISA sándwich de GPC3. Se utilizó M6B1 como anticuerpo que se iba a aplicar como recubrimiento en una placa de 96 pocillos. Se utilizó M18D4 marcado con biotina como anticuerpo que detecta GPC3 unida a M6B1. Para la reacción cromogénica, se utilizó AMPAK de DAKO para lograr una alta sensibilidad de detección.

50 Una inmunoplaaca de 96 pocillos se recubrió con el anticuerpo anti-GPC3 diluido con un tampón de recubrimiento (NaHCO₃ 0,1 M, pH 9,6, NaN₃ al 0,02 % p/v) para obtener una concentración de 10 µg/mL, y se incubó a 4°C durante la noche. Al día siguiente, la placa se enjuagó tres veces con 300 µl/pocillo de tampón de enjuague (Tween 20 al 0,05% v/v, PBS) y se añadieron para el bloqueo 200 µl de tampón de dilución (Tris-HCl 50 mM, pH 8,1, MgCl₂ 1 mM, NaCl 150 mM, Tween 20 al 0,05% v/v, NaN₃ al 0,02% p/v, BSA al 1% p/v). Después del almacenamiento durante varias horas a temperatura ambiente o a 4°C durante la noche, se añadió el plasma de ratón o el sobrenadante de cultivo diluido apropiadamente con un tampón de dilución y se incubó a temperatura ambiente durante una hora. Después de enjuagar con RB a 300 µl/pocillo tres veces, se añadió el anticuerpo anti-GPC3 marcado con biotina diluido un tampón de dilución a 10 µg/mL, y se incubó a temperatura ambiente durante una hora. Después de enjuagar con RB a 300 µl/pocillo tres veces, se añadió AP-estreptavidina (ZYMED) diluida a 1/1000 con un tampón de dilución, y se incubó a temperatura ambiente durante una hora. Después de enjuagar con el tampón de enjuague a 300 µl/pocillo cinco veces, se añadió AMPAK (DAKO NÚM. DE CAT. K6200) para la reacción cromogénica de acuerdo con el protocolo adjunto, y se midió la absorbancia con un lector de microplacas.

Para la biotilación del anticuerpo, se utilizó Biotin Labeling Kit (NÚM. DE CAT. 1 418 165) de Roche. Se utilizó un programa de hoja de cálculo GlaphPad PRISM (GlaphPad Software Inc. ver. 3.0) para calcular la concentración de la forma soluble de GPC3 en una muestra. La Fig.5 muestra el principio del ELISA sándwich en este Ejemplo.

5 Utilizando la forma soluble purificada de GPC3, se preparó una curva patrón. Por consiguiente, se podría construir un sistema con un límite de detección de varios nanogramos/mL. La Fig. 6 muestra una curva patrón para el ELISA sándwich de GPC3 utilizando M6B1 y M18D4. Utilizando el sistema, se realizó un intento para detectar la forma secretada de GPC3 en el sobrenadante de cultivo de HepG2 y el suero de un ratón trasplantado con el hepatoma humano HepG2. La forma secretada de GPC3 se detectó en el sobrenadante de cultivo de HepG2 y el suero del ratón trasplantado con hepatoma humano HepG2, mientras que la forma secretada de GPC3 estuvo por debajo del límite de detección en el medio de cultivo de control y el suero de ratón de control. Sobre la base de la concentración de la forma soluble purificada de GPC3, la forma soluble de GPC3 estuvo a 1,2 µg/mL en el sobrenadante de cultivo de HepG2 y de 23 a 90 ng/mL en el suero del ratón (Tabla 1).

15 Tabla 1

Análisis de la forma secretada de GPC3 en el plasma de un ratón al que se había trasplantado HepG2 (ng/mL)						
	Volumen del Tumor (mm ³)	M6B01 (N)-M1 BD4(N)	M19B11(N)-M18D4(N)	M6B1 (N)-BioM3C11(C)	M13B3(C)-Bi oM18D4(N)	M13B3(C)-Bi oM3B8(C)
Sobrenadante de cultivo HepG2		1190	1736	224	234	<1
Ratón SCID al que se había trasplantado HepG2 Núm. 1	2022	65,4	76,9	<10	<10	<10
Ratón SCID al que se había trasplantado HepG2 Núm. 2	1706	71,7	94,8	<10	<10	<10
Ratón SCID al que se había trasplantado HepG2 Núm. 3	2257	90,3	113,9	<10	<10	<10
Ratón SCID al que se había trasplantado HepG2 Núm. 4	2081	87,3	107,3	<10	15,0	<10
Ratón atímico al que se había trasplantado HepG2 Núm. 1	1994	58,7	53,6	19,7	35,5	102,2
Ratón atímico al que se había	190 y 549	22,9	33,6	<10	11,5	40,6

trasplantado HepG2 Núm. 2							
Ratón SCID normal Núm. 1	0	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Ratón SCID normal Núm. 2	0	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Ratón SCID normal Núm. 3	0	<10	<10	<10	<10	<10	<10

Estructura de la forma secretada de GPC3

5 Se examinó si la GPC3 secretada en sangre tenía o no la estructura del fragmento N-terminal como se había
 supuesto preliminarmente. En caso de que la forma secretada de GPC3 fuera el fragmento N-terminal, se considera
 que la forma secretada de GPC3 no sería detectada por medio del ELISA sándwich con una combinación de un
 anticuerpo que reconoce el extremo N y un anticuerpo que reconoce el extremo C. Utilizando tres tipos de cada
 anticuerpo que reconoce el fragmento N-terminal y cada anticuerpo que reconoce el fragmento C-terminal, se
 10 construyeron sistemas ELISA sándwich con diversas combinaciones. La Fig.7 muestra la estructura de la forma
 secretada de GPC3 y la Fig.8 muestra combinaciones de los anticuerpos. La Fig. 9 muestra una curva patrón del
 ELISA sándwich. La Tabla 1 muestra los resultados de análisis. Como se ha mostrado en Tabla 1, la forma
 secretada de GPC3 se detectó a los valores más altos en el sobrenadante de cultivo de HepG2 y el suero de un
 ratón al que se había trasplantado el hepatoma HepG2 humano con combinaciones de anticuerpos que reconocen el
 fragmento N-terminal, mientras que éste se detectó por debajo del límite de detección en muchas muestras de los
 15 ratones con los sistemas que contenían los anticuerpos que reconocen el fragmento C-terminal. De este modo, se
 anticipó que la forma secretada de GPC3 comprendía predominantemente el fragmento N-terminal. Por lo tanto, se
 sugirió que la GPC3 secretada en sangre era detectada posiblemente a una alta sensibilidad por medio de la
 utilización de un anticuerpo contra la secuencia de aminoácidos que comprende el residuo de aminoácido 1 al
 residuo de aminoácido 374 de GPC3.

20

Ejemplo 3

Preparación de un anticuerpo quimérico de ratón-humano anti-GPC3

25 Utilizando el ARN total extraído de un hibridoma que producía un anticuerpo capaz de unirse a GPC3 humana
 (anticuerpo que reconoce el extremo C de GPC3 humana: M3C11, M1E07; anticuerpo que reconoce el extremo N
 de GPC3 humana: M19B11, M18D04, M5B09, M10D02), el ADNc de la región variable del anticuerpo se amplificó
 mediante RT-PCR. El ARN total se extrajo del hibridoma de 1×10^7 células, utilizando RNeasy Plant Mini Kits
 (fabricados por QIAGEN). Utilizando 1 µg del ARN total y también utilizando SMART RACE ADNc Amplification Kit
 30 (fabricado por CLONTECH), se amplificó un oligonucleótido sintético MHC-IgG1 (SEQ ID NO:7) complementario a la
 secuencia de la región constante de IgG1 de ratón o un oligonucleótido sintético kappa (SEQ ID NO:8)
 complementario a la secuencia de nucleótidos de la región constante de la cadena κ de ratón, un fragmento del
 extremo 5' del gen. La transcripción inversa se realizó a 42°C durante una hora y 30 minutos. Cincuenta µl de la
 solución de PCR contenían 5 µl de 10 × Tampón Advantage 2 PCR, 5 µl de 10 × Universal Primer A Mix, dNTPs 0,2
 35 mM (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), 1 µl de Advantage 2 Polymerase Mix (todo fabricado por CLONTECH), 2,5 µl del
 producto de transcripción inversa, y 10 pmoles del oligonucleótido sintético MHC-IgG1 o kappa. Después de la
 temperatura inicial a 94°C durante 30 segundos, un ciclo de 94°C durante 5 segundos y 72°C durante 3 minutos se
 repitió cinco veces; un ciclo de 94°C durante 5 segundos, 70°C durante 10 segundos y 72°C durante 3 minutos se
 repitió cinco veces; y un ciclo de 94°C durante 5 segundos, 6 °C durante 10 segundos y 7 °C durante 3 minutos se
 40 repitió 25 veces. Finalmente, el producto de reacción se calentó a 72°C durante 7 minutos. Después de purificar los
 productos de PCR individuales en gel de agarosa utilizando QIAquick Gel Extracción Kit (fabricado por QIAGEN), los
 productos se clonaron en el vector pGEM-T Easy (fabricado por Promega), y se determinó la secuencia de
 nucleótidos.

45 A continuación, las secuencias de las regiones variables de la cadena H y L se conectaron a las regiones constantes
 de la cadena H y la cadena L humanas. La PCR se realizó utilizando un oligonucleótido sintético complementario a
 la secuencia del extremo 5' de los nucleótidos de la región variable de cadena H de cada anticuerpo y que tenía la
 secuencia de Kozak y un oligonucleótido sintético complementario a la secuencia de nucleótidos del extremo 3' y
 que tenía un sitio NheI. Los productos resultantes de la PCR se clonaron en un vector pB-CH con la región
 50 constante de IgG1 humana insertada en el vector pBluescript KS+ (fabricado por TOYOBO). La región variable de la
 cadena H de ratón y la región constante de la cadena H humana (cadena γ) se conectan entre sí a través del sitio

Nhel. El fragmento génico de la cadena H preparado se clonó en un vector de expresión pCXND3. El esquema de la construcción del vector pCXND3 se describe más abajo. Con el fin de dividir el gen que codifica el anticuerpo de la cadena H y la secuencia del vector de DHFR-DE-rvH-PM1-f (véase el documento WO 92/19759), el vector se digirió en los sitios EcoRI/SmaI para enzimas de restricción para recuperar sólo la secuencia del vector. Con posterioridad, la secuencia del vector se clonó en el adaptador EcoRI-NotI-BamHI (fabricado por Takara Shuzo Co., Ltd.). este vector fue designado pCHO1. Una región de pCHO1 que expresa el gen de la DHFR se clonó en pCXN en el sitio de la enzima de restricción HindIII (Niwa et al., Gene 1991: 108: 193-200). El vector resultante fue designado pCXND3. las secuencias de nucleótidos de las cadenas H de los anticuerpos quiméricos de ratón-humano anti-GPC3 (M3C11, M1E07, M19B11, M18D04) contenidos en cada plásmido se muestran como los SEQ ID NOS: 9, 11, 13 y 15, respectivamente. Sus secuencias de aminoácidos se muestran como los SEQ ID NOS: 10, 12, 14, y 16, respectivamente. Además, la PCR se realizó utilizando un oligonucleótido sintético complementario a la secuencia de nucleótidos del extremo 5' de la región variable de la cadena L de cada anticuerpo y que tenía la secuencia de Kozak y un oligonucleótido sintético complementario a la secuencia de nucleótidos del extremo 3' y que tenía un sitio BsiWI. Los productos resultantes de la PCR se clonaron en un vector pB-CL, donde la región constante de la cadena kappa humana se insertó preliminarmente en un vector pBluescript KS+ (fabricado por TOYOBO). La región variable de la cadena L humana y la región constante se conectaron entre sí a través del sitio BsiWI. El fragmento génico de la cadena L preparado se clonó en un vector de expresión pUCAG. El vector pUCAG es un vector preparado digiriendo pCXN (Niwa et al., Gene 1991: 108: 193-200) con la enzima de restricción BamHI para obtener un fragmento de 2,6 kbp, que es clonado a continuación en el sitio para la enzima de restricción BamHI del vector pUC19 (fabricado por TOYOBO). Las secuencias de nucleótidos de las cadenas L de los anticuerpos quiméricos de ratón-humano anti-GPC3 (M3C11, M1E07, M19B11, M18D04) contenidas en cada plásmido se muestran como los SEQ ID NOS: 17, 19, 21 y 23, respectivamente. Sus secuencias de aminoácidos se muestran como los SEQ ID NOS: 18, 20, 22 y 24, respectivamente.

Con el fin de preparar un vector de expresión del anticuerpo quimérico de ratón-humano anti-GPC3, un fragmento génico obtenido digiriendo el vector pUCAG que tiene el fragmento génico de la cadena L insertado allí con la enzima de restricción HindIII (fabricado por Takara Shuzo Co., Ltd.) se clonó en el sitio de escisión de la enzima de restricción HindIII de pCXND3 que tenía el gen de la cadena H insertado allí. El plásmido expresará el gen de resistencia a la neomicina, el gen DHFR y el gen del anticuerpo quimérico de ratón-humano anti-GPC3 en células animales.

Una línea celular basada en CHO para su expresión estable (línea DG44) se preparó como sigue. El gen se introdujo mediante el método de electroporación utilizando Gene PulserII (fabricado por Bio Rad). Se mezclaron 25 µg de cada vector de expresión del anticuerpo quimérico de ratón-humano anti-GPC3 y 0,75 ml de células CHO (1 x 10⁷ células/ml) suspendidas en PBS, y se enfriaron sobre hielo durante 10 minutos, que a continuación a una cubeta y recibieron un pulso a 1,5 kV y 25 µFD. Después de un tiempo de recuperación a temperatura ambiente durante 10 minutos, las células tratadas mediante electroporación se suspendieron en 40 mL de un medio de cultivo CHO-S-SFMII (fabricado por Invitrogen) que contenía 1 x suplemento HT (fabricado por Invitrogen). Se preparó una dilución 1:50 utilizando el mismo medio de cultivo, y se añadió a 100 µl/pocillo en una placa de cultivo de 96 pocillos. Después de cultivar en una incubadora con CO₂ (CO₂ al 5%) durante 24 horas, se añadió Geneticina (fabricada por Invitrogen) a 0,5 mg/mL, y cultivo continuo durante 2 semanas. La IgG en el sobrenadante de cultivo de los pocillos de las colonias de una célula transformante resistente a la Geneticina se sometió a ensayo por medio del siguiente método de ensayo de concentración. Una línea celular con alta productividad se expandió a una escala aumentada. La línea celular que expresa establemente el anticuerpo quimérico de ratón-humano anti-GPC3 se cultivó en un cultivo a gran escala y se recogió el sobrenadante de cultivo.

La concentración de IgG en el sobrenadante de cultivo se sometió a ensayo mediante un ELISA sándwich de IgG humana utilizando Anti-IgG Humana de Cabra (fabricada por BIOSORCE) y Anti-IgG humana conjugada con fosfatasa alcalina (fabricada por BIOSORCE) y se comparó con la IgG humana purificada disponible en el mercado (fabricada por Cappel).

Cada anticuerpo quimérico de ratón-humano anti-GPC3 se purificó utilizando Hi Trap Protein G HP (fabricado por Amersham). Un sobrenadante de cultivo de una línea celular CHO producía el anticuerpo quimérico de ratón-humano anti-GPC3 aplicado directamente a una columna se hizo eluir con tampón de elución (glicina-HCl 0,1 M, pH 2,7). El producto eluido se recogió en un tubo que contenía un tampón de neutralización (Tris-HCl 1 M, pH 9,0) para su inmediata neutralización. Las fracciones de anticuerpo se reunieron y se sometieron a diálisis frente a Tween 20 al 0,05%/PBS durante la noche y durante un día entero para reemplazar el tampón. Se añadió NaN₃ al anticuerpo purificado hasta 0,02 % y se almacenó a 4 °C.

Ejemplo 4

Preparación de una línea celular CHO que expresa establemente GPC3 completa

El ADNc humano de GPC3 se obtuvo digiriendo el vector pGEM-T Easy con el ADNc humano de GPC3 completa clonado allí con la enzima de restricción EcoRI (fabricada por Takara Shuzo Co., Ltd.) y se clonó en un vector de expresión pCOS2. El esquema de la construcción del vector pCOS2 se describe más abajo. Con el fin de dividir el

gen del anticuerpo de la cadena H de DHFR- Δ E-rvH-PM1-f (véase el documento WO 92/19759) del vector, el vector se digirió en los sitios de las enzimas de restricción EcoRI/SmaI, para recuperar únicamente la secuencia del vector. Con posterioridad, la secuencia del vector se clonó en el adaptador EcoRI-NotI-BamHI (fabricado por Takara Shuzo Co., Ltd.). Este vector fue designado pCHO1. Una región de pCHO1 que expresa el gen DHFR gen se eliminó, donde se insertó la secuencia del gen de resistencia a la neomicina en HEF-VH-gy1 (Sato et al., Mol. Immunol. 1994: 31: 371-381). El vector fue designado pCOS2.

Una línea celular que expresa establemente la GPC3 humana completa se preparó como sigue. Se mezclaron 10 μ l del vector que expresa el gen de GPC3 humana completa y 60 μ l de SuperFect (fabricado por QIAGEN), para formar un complejo, que a continuación se añadió a una línea celular CHO DXB11 para introducir el gen. Después del cultivo en una incubadora con CO₂ (CO₂ al 5%) durante 24 horas, se utilizó α MEM (fabricado por GIBCO BRL) que contenía Geneticina (fabricada por Invitrogen) a una concentración final de 0,5 mg/mL y FBS al 10% (fabricado por GIBCO BRL) para comenzar la selección. La colonias resistentes a la Geneticina se recogieron y se llevó a cabo la clonación celular por medio del método de la dilución limitante. Los clones de células individuales se solubilizaron para confirmar la expresión de la GPC3 humana completa mediante transferencia western utilizando el anticuerpo anti-GPC3. Se obtuvo una cepa celular que expresa establemente GPC3 humana.

Ejemplo 5

20 **Análisis de ADCC utilizando PBMC derivadas de sangre humana periférica**

(1) Preparación de PBMC humanas

La sangre periférica se recogió de sujetos normales con jeringas heparinizadas, y se diluyó 2 veces con PBS (-), y se aplicó como revestimiento sobre Ficoll-Paque[®] PLUS (Amersham Pharmacia Biotech AB). Esto se centrifugó (500 \times g, 30 minutos, 20°C), y se recogió la capa intermedia en forma de la fracción de células mononucleares. Después de enjuagar tres veces, la fracción resultante se suspendió en FBS/RPMI al 10% para preparar una solución de PBMC humanas.

30 (2) Preparación de la célula diana

Las células HepG2 cultivadas en el medio de cultivo FBS/RPMI 1640 al 10% se despegaron de la placa utilizando tripsina-EDTA (Invitrogen Corp), se dividieron en cada pocillo a 1×10^4 células/pocillo en una placa de 96 pocillos con el fondo en U (Falcon), y se cultivaron durante 2 días. Después del cultivo, se añadieron 5,55 MBq de cromo-51 y las células se incubaron en una incubadora de gas CO₂ al 5% a 37°C durante una hora. Las células resultantes se enjuagaron una vez con el medio de cultivo, a lo que se añadieron 50 μ l de medio de cultivo FBS/RPMI 1640 al 10% para preparar una célula diana.

40 (3) Ensayo de liberación de cromo (actividad ADCC)

Se añadieron 50 μ l de una solución de anticuerpo preparada a cada concentración a la célula diana sobre hielo durante 15 minutos. Con posterioridad, se añadieron 100 μ l de una solución de PBMC humanas (5×10^5 células/pocillo), y se incubó en una incubadora con gas CO₂ al 5% a 37 °C durante 4 horas. Después de la incubación, la placa se centrifugó y se contó la radiactividad en 100 μ l del sobrenadante de cultivo con un contador gamma. La razón de liberación de cromo específica se determinó por medio de la fórmula siguiente:

$$\text{Razón de liberación de cromo específica (\%)} = (A - C) \times 100 / (B - C)$$

"A" representa el valor medio de radiactividad (cpm) en cada pocillo; "B" representa el valor medio de radiactividad (cpm) en un pocillo donde se añadieron 100 μ l de una solución acuosa al 2% de NP-40 (Nonidet P-40, Núm. de Código 252-23, Nakarai Tesque) y 50 μ l de medio de cultivo FBS/RPMI al 10% a la célula diana; y "C" representa el valor medio de radiactividad (cpm) en un pocillo en el que se añadieron 150 μ l de medio de cultivo FBS/RPMI al 10% a la célula diana. El ensayo se realizó por triplicado para calcular la media de la actividad ADCC (%) y el error típico.

Los resultados se muestran en la Fig. 10. Entre los seis tipos de anticuerpos quiméricos anti-GPC3, los anticuerpos ch.M3C11 y ch.M1E07 que reconocen el extremo C ejercieron la actividad ADCC, mientras que los anticuerpos ch.M19B11, ch.M18D04, ch.M5E09 y ch.M10D02 que reconocen el extremo N apenas ejercieron la actividad ADCC. Los resultados anteriores indican que las actividades ADCC de los anticuerpos quiméricos dependen de los sitios de reconocimiento de los anticuerpos. Adicionalmente, se esperaba que los anticuerpos que reconocen el extremo C de GPC3 fueran posiblemente útiles en aplicaciones clínicas puesto que los anticuerpos que reconocen los lados C-terminales de los sitios de escisión ejercían la actividad ADCC.

Ejemplo 6

65 **Análisis de la actividad citotóxica dependiente del complemento (actividad CDC)**

(1) Preparación de tampón veronal de albúmina humana (HAVB)

5 Se disolvieron 12,75 g de NaCl (calidad superior; Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), 0,5625 g de barbital sódico (calidad superior; Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), y 0,8625 g de barbital (calidad superior; Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) en agua Milli Q hasta 200 mL, y se esterilizaron en el autoclave (121 °C, 20 minutos). Se añadieron 100 mL de agua Milli Q templada esterilizada en el autoclave. A continuación, se confirmó que la mezcla resultante tenía un pH de 7,43 (pH 7,5 recomendado). Esto se definió como 5 × Tampón Veronal. Se disolvieron 0,2205 g de CaCl₂·2H₂O (calidad superior; Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) en 50 mL de agua Milli Q hasta 0,03 moles/L. La solución resultante se definió como solución de CaCl₂. Se disolvieron 1,0165 g de MgCl₂·6 H₂O (calidad superior; Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) en 50 mL de agua Milli Q hasta 0,1 moles/L. La solución resultante se definió como solución de MgCl₂. Se disolvieron 100 mL de 5 × Tampón Veronal, 4 mL de albúmina de suero humana (Buminato[®] al 25%, concentración de albúmina de suero humana 250 mg/mL, Baxter), 2,5 mL de la solución de CaCl₂, 2,5 mL de la solución de MgCl₂, 0,1 g de KCl (calidad superior; Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), y 0,5 g de glucosa (D (+)-glucosa, glucosa anhidra, calidad superior; Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) en agua Milli Q a 500 mL. Esto se definió como HAVB. Después de la filtración y la esterilización, la solución resultante se almacenó a una temperatura ajustada a 5°C.

(2) Preparación de la célula diana

20 Las células CHO que expresaban GPC3 sobre la membrana celular preparada en el Ejemplo 4 se cultivaron en medio de cultivo para ácidos nucleicos (+) alfa-MEM (GIBCO) con un suplemento de FBS al 10% y 0,5 mg/mL de Geneticina (GIBCO), se despegaron de la placa utilizando un tampón de disociación celular (Invitrogen Corp), y se dividieron a 1×10^4 células/pocillo en cada pocillo de una placa de fondo plano de 96 pocillos (Falcon), para su cultivo durante 3 días. Después del cultivo, se añadió 5,55 MBq de cromo-51, y se incubó en una incubadora con gas CO₂ al 5% a 37°C durante una hora. Las células resultantes se enjuagaron dos veces HAVB, a lo que se añadieron 50 µl de HAVB para preparar una célula diana.

(3) Ensayo de liberación de cromo (actividad CDC)

30 Cada anticuerpo quimérico se diluyó con HAVB para preparar una solución de anticuerpo de 40 µg/mL. La solución de solución se añadió en una porción de 50 µl a la célula diana, que a continuación se dejó sobre hielo durante 15 minutos. Con posterioridad, se añadió complemento para crías de conejo (Cedarlane) diluido con HAVB en porciones de 100 µl a cada pocillo hasta una concentración final de 30 % (concentración final de anticuerpo de 10 µg/mL), y se incubó en una incubadora con gas CO₂ al 5% a 37°C durante 90 minutos. Después de la centrifugación de la placa, se recuperó una porción de 100 µl del sobrenadante de cada pocillo, y se midió la radiactividad con un contador gamma. La razón de la liberación de cromo específica se determinó por medio de la siguiente fórmula:

Razón de liberación de cromo específica (%) = (A – C) x 100/(B – C)

"A" representa el valor medio de radiactividad (cpm) en cada pocillo; "B" representa el valor medio de radiactividad (cpm) en un pocillo donde se añadieron 100 µl de una solución acuosa al 2% de NP-40 (Nonidet P-40, Núm. de Código. 252-23, Nakarai Tesque) 50 µl de HAVB a la célula diana; y "C" representa el valor medio de radiactividad (cpm) en un pocillo en el que se añadieron 150 µl de HAVB a la célula diana. El ensayo se realizó por triplicado para calcular la media de la actividad CDC (%) y el error típico.

Los resultados se muestran en la Fig.11. Entre los seis tipos de anticuerpos quiméricos anti-GPC3, los anticuerpos ch.M3C11 y M1E07 que reconocen el extremo C ejercieron la actividad CDC, mientras que los anticuerpos ch. M19B11, ch. M18D04. ch. M5E09 y ch. M10D02 que reconocen el extremo N ejercieron bajas actividades CDC. Los resultados anteriores indican que las actividades CDC de los anticuerpos quiméricos dependen de los sitios de reconocimiento de los anticuerpos. Además, se esperaba que los anticuerpos que reconocen el extremo C de GPC3 fueran posiblemente útiles en aplicaciones clínicas puesto que los anticuerpos que reconocen los lados C terminales de los sitios de escisión ejercieron la actividad CDC.

Aplicabilidad Industrial

Como se ha mostrado en los Ejemplos, se sugirió que una porción de GPC3 expresada sumamente en células de hepatoma puede existir como una forma secretada en sangre. Se observó que GPC3 es expresada en líneas de células cancerosas distintas de las líneas celulares de hepatoma, tales como cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de páncreas y linfoma. Si los anticuerpos que reconoce el fragmento C-terminal con la actividad ADCC y/o la actividad CDC se utilizan para el tratamiento del hepatoma, los anticuerpos pueden alcanzar fácilmente la célula del hepatoma sin ser atrapados por la forma secretada de GPC3 presente en la sangre. De este modo, tales anticuerpos son útiles como agentes para perturbar el desarrollo de las células cancerosas y como agentes anticancerosos.

Los contenidos de todas las publicaciones enumeradas en esta memoria están incluidos en su totalidad en la memoria. Además, un experto en la técnica entenderá que son posibles diversas modificaciones y variaciones de la invención sin apartarse del alcance técnico y del intervalo de la invención descritos en las reivindicaciones adjuntas. Se pretende que la invención también abarque tales modificaciones y variaciones.

LISTA DE SECUENCIAS

- 35 <110> CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA
- <120> ANTIBODY AGAINST C-TERMINAL PEPTIDE OF GPC3
- <130> N.94176 GCW
- 40 <140> EP 03794236.4
- <141> 2003-09-04
- <150> PCT/JP03/11318
- 45 <151> 2003-09-04
- <150> PCT/JP02/08999
- <151> 2002-09-04
- 50 <160> 24
- <170> PatentEn Ver. 2.1
- <210> 1
- 55 <211> 31
- <212> ADN
- <213> Secuencia Artificial
- <220>
- 60 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN Sintético
- <400> 1
- gatatcatgg ccgggaccgt ggcaccgcg t 31
- 65 <210> 2
- <211> 31

ES 2 373 652 T3

<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>

5 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN Sintético

<400> 2

gctagctcag tgcaccagga agaagaagca c 31

10 <210> 3

<211> 2300

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15 <220>

<221> CDS

<222> (109)..(1851)

<400> 3

20

```
cagcacgtct cttgctcctc agggccactg ccaggcttgc cgagtcctgg gactgctctc 60
gctccggctg ccaactctccc gcgctctcct agctccctgc gaagcagg atg gcc ggg 117
                                     Met Ala Gly
                                     1
acc gtg cgc acc gcg tgc ttg gtg gtg gcg atg ctg ctc agc ttg gac 165
Thr Val Arg Thr Ala Cys Leu Val Val Ala Met Leu Leu Ser Leu Asp
      5          10          15
ttc ccg gga cag gcg cag ccc ccg ccg ccg ccg ccg gac gcc acc tgt 213
```

ES 2 373 652 T3

Phe	Pro	Gly	Gln	Ala	Gln	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Asp	Ala	Thr	Cys	
20					25					30					35	
cac	caa	gtc	cgc	tcc	ttc	ttc	cag	aga	ctg	cag	ccc	gga	ctc	aag	tgg	261
His	Gln	Val	Arg	Ser	Phe	Phe	Gln	Arg	Leu	Gln	Pro	Gly	Leu	Lys	Trp	
				40					45					50		
gtg	cca	gaa	act	ccc	gtg	cca	gga	tca	gat	ttg	caa	gta	tgt	ctc	cct	309
Val	Pro	Glu	Thr	Pro	Val	Pro	Gly	Ser	Asp	Leu	Gln	Val	Cys	Leu	Pro	
			55					60					65			
aag	ggc	cca	aca	tgc	tgc	tca	aga	aag	atg	gaa	gaa	aaa	tac	caa	cta	357
Lys	Gly	Pro	Thr	Cys	Cys	Ser	Arg	Lys	Met	Glu	Glu	Lys	Tyr	Gln	Leu	
		70					75					80				
aca	gca	cga	ttg	aac	atg	gaa	cag	ctg	ctt	cag	tct	gca	agt	atg	gag	405
Thr	Ala	Arg	Leu	Asn	Met	Glu	Gln	Leu	Leu	Gln	Ser	Ala	Ser	Met	Glu	
		85				90					95					
ctc	aag	ttc	tta	att	att	cag	aat	gct	gcg	gtt	ttc	caa	gag	gcc	ttt	453
Leu	Lys	Phe	Leu	Ile	Ile	Gln	Asn	Ala	Ala	Val	Phe	Gln	Glu	Ala	Phe	
100				105						110					115	
gaa	att	gtt	gtt	cgc	cat	gcc	aag	aac	tac	acc	aat	gcc	atg	ttc	aag	501
Glu	Ile	Val	Val	Arg	His	Ala	Lys	Asn	Tyr	Thr	Asn	Ala	Met	Phe	Lys	
				120					125					130		
aac	aac	tac	cca	agc	ctg	act	cca	caa	gct	ttt	gag	ttt	gtg	ggt	gaa	549
Asn	Asn	Tyr	Pro	Ser	Leu	Thr	Pro	Gln	Ala	Phe	Glu	Phe	Val	Gly	Glu	
			135				140						145			
ttt	ttc	aca	gat	gtg	tct	ctc	tac	atc	ttg	ggt	tct	gac	atc	aat	gta	597
Phe	Phe	Thr	Asp	Val	Ser	Leu	Tyr	Ile	Leu	Gly	Ser	Asp	Ile	Asn	Val	
		150					155					160				
gat	gac	atg	gtc	aat	gaa	ttg	ttt	gac	agc	ctg	ttt	cca	gtc	atc	tat	645
Asp	Asp	Met	Val	Asn	Glu	Leu	Phe	Asp	Ser	Leu	Phe	Pro	Val	Ile	Tyr	
		165				170				175						
acc	cag	cta	atg	aac	cca	ggc	ctg	cct	gat	tca	gcc	ttg	gac	atc	aat	693
Thr	Gln	Leu	Met	Asn	Pro	Gly	Leu	Pro	Asp	Ser	Ala	Leu	Asp	Ile	Asn	
180				185						190					195	
gag	tgc	ctc	cga	gga	gca	aga	cgt	gac	ctg	aaa	gta	ttt	ggg	aat	ttc	741
Glu	Cys	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Arg	Asp	Leu	Lys	Val	Phe	Gly	Asn	Phe	
				200					205					210		
ccc	aag	ctt	att	atg	acc	cag	gtt	tcc	aag	tca	ctg	caa	gtc	act	agg	789
Pro	Lys	Leu	Ile	Met	Thr	Gln	Val	Ser	Lys	Ser	Leu	Gln	Val	Thr	Arg	
			215				220						225			
atc	ttc	ctt	cag	gct	ctg	aat	ctt	gga	att	gaa	gtg	atc	aac	aca	act	837
Ile	Phe	Leu	Gln	Ala	Leu	Asn	Leu	Gly	Ile	Glu	Val	Ile	Asn	Thr	Thr	
		230					235					240				
gat	cac	ctg	aag	ttc	agt	aag	gac	tgt	ggc	cga	atg	ctc	acc	aga	atg	885
Asp	His	Leu	Lys	Phe	Ser	Lys	Asp	Cys	Gly	Arg	Met	Leu	Thr	Arg	Met	
						250					255					
tgg	tac	tgc	tct	tac	tgc	cag	gga	ctg	atg	atg	gtt	aaa	ccc	tgt	ggc	933
Trp	Tyr	Cys	Ser	Tyr	Cys	Gln	Gly	Leu	Met	Met	Val	Lys	Pro	Cys	Gly	
260					265					270					275	
ggt	tac	tgc	aat	gtg	gtc	atg	caa	ggc	tgt	atg	gca	ggt	gtg	gtg	gag	981
Gly	Tyr	Cys	Asn	Val	Val	Met	Gln	Gly	Cys	Met	Ala	Gly	Val	Val	Glu	
				280					285					290		
att	gac	aag	tac	tgg	aga	gaa	tac	att	ctg	tcc	ctt	gaa	gaa	ctt	gtg	1029
Ile	Asp	Lys	Tyr	Trp	Arg	Glu	Tyr	Ile	Leu	Ser	Leu	Glu	Glu	Leu	Val	
			295					300						305		
aat	ggc	atg	tac	aga	atc	tat	gac	atg	gag	aac	gta	ctg	ctt	ggt	ctc	1077
Asn	Gly	Met	Tyr	Arg	Ile	Tyr	Asp	Met	Glu	Asn	Val	Leu	Leu	Gly	Leu	
			310				315							320		
ttt	tca	aca	atc	cat	gat	tct	atc	cag	tat	gtc	cag	aag	aat	gca	gga	1125
Phe	Ser	Thr	Ile	His	Asp	Ser	Ile	Gln	Tyr	Val	Gln	Lys	Asn	Ala	Gly	
			325				330				335					
aag	ctg	acc	acc	act	att	ggc	aag	tta	tgt	gcc	cat	tct	caa	caa	cgc	1173
Lys	Leu	Thr	Thr	Thr	Ile	Gly	Lys	Leu	Cys	Ala	His	Ser	Gln	Gln	Arg	

ES 2 373 652 T3

```

340          345          350          355
caa tat aga tct gct tat cct gaa gat ctc ttt att gac aag aaa 1221
Gln Tyr Arg Ser Ala Tyr Tyr Pro Glu Asp Leu Phe Ile Asp Lys Lys
          360          365          370
gta tta aaa gtt gct cat gta gaa cat gaa acc tta tcc agc cga 1269
Val Leu Lys Val Ala His Val Glu His Glu Glu Thr Leu Ser Ser Arg
          375          380          385
aga agg gaa cta att cag aag ttg aag tct ttc atc agc ttc tat agt 1317
Arg Arg Glu Leu Ile Gln Lys Leu Lys Ser Phe Ile Ser Phe Tyr Ser
          390          395          400
gct ttg cct ggc tac atc tgc agc cat agc cct gtg gcg gaa aac gac 1365
Ala Leu Pro Gly Tyr Ile Cys Ser His Ser Pro Val Ala Glu Asn Asp
          405          410          415
acc ctt tgc tgg aat gga caa gaa ctc gtg gag aga tac agc caa aag 1413
Thr Leu Cys Trp Asn Gly Gln Glu Leu Val Glu Arg Tyr Ser Gln Lys
          420          425          430          435
gca gca agg aat gga atg aaa aac cag ttc aat ctc cat gag ctg aaa 1461
Ala Ala Arg Asn Gly Met Lys Asn Gln Phe Asn Leu His Glu Leu Lys
          440          445          450
atg aag ggc cct gag cca gtg gtc agt caa att att gac aaa ctg aag 1509
Met Lys Gly Pro Glu Pro Val Val Ser Gln Ile Ile Asp Lys Leu Lys
          455          460          465
cac att aac cag ctc ctg aga acc atg tct atg ccc aaa ggt aga gtt 1557
His Ile Asn Gln Leu Leu Arg Thr Met Ser Met Pro Lys Gly Arg Val
          470          475          480
ctg gat aaa aac ctg gat gag gaa ggg ttt gaa agt gga gac tgc ggt 1605
Leu Asp Lys Asn Leu Asp Glu Glu Gly Phe Glu Ser Gly Asp Cys Gly
          485          490          495
gat gat gaa gat gag tgc att gga ggc tct ggt gat gga atg ata aaa 1653
Asp Asp Glu Asp Glu Cys Ile Gly Gly Ser Gly Asp Gly Met Ile Lys
          500          505          510          515
gtg aag aat cag ctc cgc ttc ctt gca gaa ctg gcc tat gat ctg gat 1701
Val Lys Asn Gln Leu Arg Phe Leu Ala Glu Leu Ala Tyr Asp Leu Asp
          520          525          530
gtg gat gat gcg cct gga aac agt cag cag gca act ccg aag gac aac 1749
Val Asp Asp Ala Pro Gly Asn Ser Gln Gln Ala Thr Pro Lys Asp Asn
          535          540          545
gag ata agc acc ttt cac aac ctc ggg aac gtt cat tcc ccg ctg aag 1797
Glu Ile Ser Thr Phe His Asn Leu Gly Asn Val His Ser Pro Leu Lys
          550          555          560
ctt ctc acc agc atg gcc atc tcg gtg gtg tgc ttc ttc ctg gtg 1845
Leu Leu Thr Ser Met Ala Ile Ser Val Val Cys Phe Phe Phe Leu Val
          565          570          575
cac tga ctgcctgggt cccagcacat gtgctgccct acagcaccct gtggtcttcc 1901
His
580
tcgataaagg gaaccacttt cttatttttt tctatttttt tttttttggt atcctgtata 1961
cctcctccag ccatgaagta gaggactaac catgtgttat gttttcgaaa atcaaattggt 2021
atcttttggg ggaagatata ttttagtggt agcatataga ttgtcctttt gcaaagaaag 2081
aaaaaaaaacc atcaagtgtt gccaaattat tctcctatgt ttggctgcta gaacatggtt 2141
accatgtctt tctctctcac tccctccctt tctatcgttc tctctttgca tggatttctt 2201
tgaaaaaaaa taaattgctc aaataaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2261
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

```

<210> 4
 <211> 580
 <212> PRT
 5 <213> Homo sapiens
 <400> 4

Met Ala Gly Thr Val Arg Thr Ala Cys Leu Val Val Ala Met Leu Leu

ES 2 373 652 T3

1				5					10					15
Ser	Leu	Asp	Phe	Pro	Gly	Gln	Ala	Gln	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Asp
			20					25					30	
Ala	Thr	Cys	His	Gln	Val	Arg	Ser	Phe	Phe	Gln	Arg	Leu	Gln	Pro
		35					40					45		
Leu	Lys	Trp	Val	Pro	Glu	Thr	Pro	Val	Pro	Gly	Ser	Asp	Leu	Gln
	50					55					60			Val
Cys	Leu	Pro	Lys	Gly	Pro	Thr	Cys	Cys	Ser	Arg	Lys	Met	Glu	Glu
	65				70					75				80
Tyr	Gln	Leu	Thr	Ala	Arg	Leu	Asn	Met	Glu	Gln	Leu	Leu	Gln	Ser
				85					90					95
Ser	Met	Glu	Leu	Lys	Phe	Leu	Ile	Ile	Gln	Asn	Ala	Ala	Val	Phe
			100					105					110	Gln
Glu	Ala	Phe	Glu	Ile	Val	Val	Arg	His	Ala	Lys	Asn	Tyr	Thr	Asn
		115					120					125		Ala
Met	Phe	Lys	Asn	Asn	Tyr	Pro	Ser	Leu	Thr	Pro	Gln	Ala	Phe	Glu
	130				135						140			Phe
Val	Gly	Glu	Phe	Phe	Thr	Asp	Val	Ser	Leu	Tyr	Ile	Leu	Gly	Ser
	145				150					155				Asp
Ile	Asn	Val	Asp	Asp	Met	Val	Asn	Glu	Leu	Phe	Asp	Ser	Leu	Phe
			165					170						Pro
Val	Ile	Tyr	Thr	Gln	Leu	Met	Asn	Pro	Gly	Leu	Pro	Asp	Ser	Ala
		180					185					190		Leu
Asp	Ile	Asn	Glu	Cys	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Arg	Asp	Leu	Lys	Val
	195						200					205		Phe
Gly	Asn	Phe	Pro	Lys	Leu	Ile	Met	Thr	Gln	Val	Ser	Lys	Ser	Leu
	210				215						220			Gln
Val	Thr	Arg	Ile	Phe	Leu	Gln	Ala	Leu	Asn	Leu	Gly	Ile	Glu	Val
	225				230					235				Ile
Asn	Thr	Thr	Asp	His	Leu	Lys	Phe	Ser	Lys	Asp	Cys	Gly	Arg	Met
			245						250					Leu
Thr	Arg	Met	Trp	Tyr	Cys	Ser	Tyr	Cys	Gln	Gly	Leu	Met	Met	Val
		260						265					270	Lys
Pro	Cys	Gly	Gly	Tyr	Cys	Asn	Val	Val	Met	Gln	Gly	Cys	Met	Ala
		275					280					285		Gly
Val	Val	Glu	Ile	Asp	Lys	Tyr	Trp	Arg	Glu	Tyr	Ile	Leu	Ser	Leu
	290				295						300			Glu
Glu	Leu	Val	Asn	Gly	Met	Tyr	Arg	Ile	Tyr	Asp	Met	Glu	Asn	Val
	305				310					315				Leu
Leu	Gly	Leu	Phe	Ser	Thr	Ile	His	Asp	Ser	Ile	Gln	Tyr	Val	Gln
			325						330					Lys
Asn	Ala	Gly	Lys	Leu	Thr	Thr	Thr	Ile	Gly	Lys	Leu	Cys	Ala	His
			340					345					350	Ser
Gln	Gln	Arg	Gln	Tyr	Arg	Ser	Ala	Tyr	Tyr	Pro	Glu	Asp	Leu	Phe
		355					360					365		Ile
Asp	Lys	Lys	Val	Leu	Lys	Val	Ala	His	Val	Glu	His	Glu	Glu	Thr
	370				375						380			Leu
Ser	Ser	Arg	Arg	Arg	Glu	Leu	Ile	Gln	Lys	Leu	Lys	Ser	Phe	Ile
	385				390					395				Ser
Phe	Tyr	Ser	Ala	Leu	Pro	Gly	Tyr	Ile	Cys	Ser	His	Ser	Pro	Val
			405					410						Ala
Glu	Asn	Asp	Thr	Leu	Cys	Trp	Asn	Gly	Gln	Glu	Leu	Val	Glu	Arg
			420					425					430	Tyr
Ser	Gln	Lys	Ala	Ala	Arg	Asn	Gly	Met	Lys	Asn	Gln	Phe	Asn	Leu
		435					440					445		His
Glu	Leu	Lys	Met	Lys	Gly	Pro	Glu	Pro	Val	Val	Ser	Gln	Ile	Ile
	450				455						460			Asp
Lys	Leu	Lys	His	Ile	Asn	Gln	Leu	Leu	Arg	Thr	Met	Ser	Met	Pro
	465				470					475				Lys
Gly	Arg	Val	Leu	Asp	Lys	Asn	Leu	Asp	Glu	Glu	Gly	Phe	Glu	Ser
			485					490						Gly

ES 2 373 652 T3

Asp Cys Gly Asp Asp Glu Asp Glu Cys Ile Gly Gly Ser Gly Asp Gly
 500 505 510
 Met Ile Lys Val Lys Asn Gln Leu Arg Phe Leu Ala Glu Leu Ala Tyr
 515 520 525
 Asp Leu Asp Val Asp Asp Ala Pro Gly Asn Ser Gln Gln Ala Thr Pro
 530 535 540
 Lys Asp Asn Glu Ile Ser Thr Phe His Asn Leu Gly Asn Val His Ser
 545 550 555 560
 Pro Leu Lys Leu Leu Thr Ser Met Ala Ile Ser Val Val Cys Phe Phe
 565 570 575
 Phe Leu Val His
 580

<210> 5

<211> 31

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN Sintético

10 <400> 5

atagaattcc accatggccg ggaccgtgcg c 31

<210> 6

<211> 31

15 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN Sintético

20

<400> 6

ataggatccc ttcagcgggg aatgaacgtt c 31

<210> 7

25 <211> 21

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

30 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN Sintético

<400> 7

gggccagtgg atagacagat g 21

35 <210> 8

<211> 23

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

40 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN Sintético

<400> 8

gctcactgga tgggggaag atg 23

45

<210> 9

<211> 1392

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

50

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1389)

<220>

55 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M3C11 H)

ES 2 373 652 T3

<400> 9

```

atg aac ttc ggg ctc acc ttg att ttc ctt gtc ctt act tta aaa ggt 48
Met Asn Phe Gly Leu Thr Leu Ile Phe Leu Val Leu Thr Leu Lys Gly
1 5 10 15
gtc cag tgt gag gtg caa ctg gtg gag tct ggg gga ggc tta gtg aag 96
Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
20 25 30
cct gga gga tcc ctg aaa ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc act ttc 144
Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45
agt cgc tat gcc atg tct tgg gtt cgc cag att cca gag aag ata ctg 192
Ser Arg Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ile Pro Glu Lys Ile Leu
50 55 60
gag tgg gtc gca gcc att gat agt agt ggt ggt gac acc tac tat tta 240
Glu Trp Val Ala Ala Ile Asp Ser Ser Gly Gly Asp Thr Tyr Tyr Leu
65 70 75 80
gac act gtg aag gac cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aat aat 288
Asp Thr Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Asn Asn
85 90 95
acc ctg cac ctg caa atg cgc agt ctg agg tct gag gac aca gcc ttg 336
Thr Leu His Leu Gln Met Arg Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu
100 105 110
tat tac tgt gta aga cag ggg ggg gct tac tgg ggc caa ggg act ctg 384
Tyr Tyr Cys Val Arg Gln Gly Gly Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
115 120 125
gtc act gtc tct gca gct agc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg 432
Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
130 135 140
gca ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc 480
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
145 150 155 160
ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca 528
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
165 170 175
ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc 576
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
180 185 190
tca gga ctc tac tcc ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc 624
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
195 200 205
ttg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac 672
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
210 215 220
acc aag gtg gac aag aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac 720
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
225 230 235 240
aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc 768
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
245 250 255
ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc 816
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
260 265 270

```

ES 2 373 652 T3

cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag 864
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 275 280 285

gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag 912
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 290 295 300

aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc 960
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 305 310 315 320

gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag 1008
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 325 330 335

tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc 1056
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 340 345 350

tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc 1104
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 355 360 365

cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg 1152
 Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 370 375 380

gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat 1200
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 385 390 395 400

ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc 1248
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 405 410 415

gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg 1296
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 420 425 430

tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg 1344
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 435 440 445

cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa tga 1392
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455 460

<210> 10

<211> 463

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M3C11 H)

10 <400> 10

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

ES 2 373 652 T3

Tyr Tyr Cys Val Arg Gln Gly Gly Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 115 120 125
 Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 130 135 140
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 145 150 155 160
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 165 170 175
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 180 185 190
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 195 200 205
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 210 215 220
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 225 230 235 240
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 245 250 255
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 260 265 270
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 275 280 285
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 290 295 300
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 305 310 315 320
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 325 330 335
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 340 345 350
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 355 360 365
 Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 370 375 380
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 385 390 395 400
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 405 410 415
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 420 425 430
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 435 440 445
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455 460

<210> 11

<211> 1413

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1410)

10

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo químérico de ratón-humano (cadena M1E07 H)

<400> 11

atg gga tgg aac tgg atc ttt att tta atc ctg tca gta act aca ggt 48
 Met Gly Trp Asn Trp Ile Phe Ile Leu Ile Leu Ser Val Thr Thr Gly

15

ES 2 373 652 T3

1	5	10	15	
gtc cac tct gag gtc cag ctg cag cag tct gga cct gag ctg gtg aag				96
Val His Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys				
	20	25	30	
cct ggg gct tca gtg aag ata tcc tgc aag gct tct ggt tac tca ttc				144
Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe				
	35	40	45	
act ggc tac tac atg cac tgg gtg aag caa agt cct gaa aag agc ctt				192
Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Lys Gln Ser Pro Glu Lys Ser Leu				
	50	55	60	
gag tgg att gga gag att aat cct agc act ggt ggt act acc tac aac				240
Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn Pro Ser Thr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn				
	65	70	75	80
cag aag ttc aag gcc aag gcc aca ttg act gta gac aaa tcc tcc agc				288
Gln Lys Phe Lys Ala Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser				
	85	90	95	
aca gcc tac atg cag ctc aag agc ctg aca tct gag gac tct gca gtc				336
Thr Ala Tyr Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val				
	100	105	110	
tat tac tgt gca agg agg ggc gga tta act ggg acg agc ttc ttt gct				384
Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Gly Leu Thr Gly Thr Ser Phe Phe Ala				
	115	120	125	
tac tgg ggc caa ggg act ctg gtc act gtc tct gca gct agc acc aag				432
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys				
	130	135	140	
ggc cca tgc gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg				480
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly				
	145	150	155	160
ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg				528
Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro				
	165	170	175	
gtg acg gtg tgc tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc				576
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr				
	180	185	190	
ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc ctc agc agc gtg				624
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val				
	195	200	205	
gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc tac atc tgc aac				672
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn				
	210	215	220	
gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aaa gtt gag ccc				720
Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro				
	225	230	235	240
aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa				768
Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu				
	245	250	255	
ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac				816
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp				
	260	265	270	
acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac				864
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp				
	275	280	285	
gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc				912
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly				
	290	295	300	
gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac				960
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn				
	305	310	315	320
agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg				1008
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp				
	325	330	335	

ES 2 373 652 T3

ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca 1056
 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 340 345 350
 gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa 1104
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 355 360 365
 cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac 1152
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
 370 375 380
 cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc 1200
 Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 385 390 395 400
 gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc 1248
 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 405 410 415
 acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag 1296
 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 420 425 430
 ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc 1344
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 435 440 445
 tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc 1392
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 450 455 460
 tcc ctg tct ccg ggt aaa tga 1413
 Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 12

<211> 470

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena MIE07 H)

10 <400> 12

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

ES 2 373 652 T3

```

                180                185                190
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
      195                200                205
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
      210                215                220
Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
      225                230                235                240
Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
      245                250                255
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
      260                265                270
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
      275                280                285
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
      290                295                300
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
      305                310                315                320
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
      325                330                335
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
      340                345                350
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
      355                360                365
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
      370                375                380
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
      385                390                395                400
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
      405                410                415
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
      420                425                430
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
      435                440                445
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
      450                455                460
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
      465                470

```

<210> 13

<211> 1416

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1413)

10

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M19B11 H)

<400> 13

```

atg aac ttc ggg ctc acc ttg att ttc ctc gtc ctt act tta aaa ggt 48
Met Asn Phe Gly Leu Thr Leu Ile Phe Leu Val Leu Thr Leu Lys Gly
      1                5                10                15
gtc cag tgt gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga gac tta gtg aag 96
Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys
      20                25                30
cct gga ggg acc ctg aaa ctc tcc tgt gca gcc tct gga tcc act ttc 144
Pro Gly Gly Thr Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Phe
      35                40                45

```

15

ES 2 373 652 T3

agt aac tat gcc atg tct tgg gtt cgc cag act cca gag aag agg ctg 192
 Ser Asn Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu
 50 55 60
 gag tgg gtc gca gcc att gat agt aat gga ggt acc acc tac tat cca 240
 Glu Trp Val Ala Ala Ile Asp Ser Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro
 65 70 75 80
 gac act atg aag gac cga ttc acc att tcc aga gac aat gcc aag aac 288
 Asp Thr Met Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85 90 95
 acc ctg tac ctg caa atg aac agt ctg agg tct gaa gac aca gcc ttt 336
 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Phe
 100 105 110
 tat cac tgt aca aga cat aat gga ggg tat gaa aac tac ggc tgg ttt 384
 Tyr His Cys Thr Arg His Asn Gly Tyr Glu Asn Tyr Gly Trp Phe
 115 120 125
 gct tac tgg ggc caa ggg act ctg gtc act gtc tct gca gct agc acc 432
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr
 130 135 140
 aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct 480
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
 145 150 155 160
 ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa 528
 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 165 170 175
 ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac 576
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 180 185 190
 acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc ctc agc agc 624
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 195 200 205
 gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc tac atc tgc 672
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
 210 215 220
 aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aaa gtt gag 720
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
 225 230 235 240
 ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct 768
 Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 245 250 255
 gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag 816
 Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 260 265 270
 gac acc ctc atg atc tcc ccg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg 864
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 275 280 285
 gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac 912
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 290 295 300
 ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac 960
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 305 310 315 320
 aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac 1008
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 325 330 335
 tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc 1056
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 340 345 350
 cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga 1104
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 355 360 365
 gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc ccg gat gag ctg acc aag 1152

ES 2 373 652 T3

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
 370 375 380
 aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac 1200
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 385 390 395 400
 atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag 1248
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 405 410 415
 acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc 1296
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 420 425 430
 aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca 1344
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 435 440 445
 tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc 1392
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 450 455 460
 ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa tga 1416
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 14

<211> 471

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M19B11 H)

10 <400> 14

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

ES 2 373 652 T3

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

<210> 15

<211> 1413

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1410)

10

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M18D04 H)

<400> 15

atg gaa tct aac tgg ata ctt cct ttt att ctg tcg gta gct tca ggg 48
 Met Glu Ser Asn Trp Ile Leu Pro Phe Ile Leu Ser Val Ala Ser Gly
 1 5 10 15
 gtc tac tca gag gtt cag ctc cag cag tct ggg act gtg ctg gca agg 96
 Val Tyr Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Thr Val Leu Ala Arg
 20 25 30
 cct ggg gct tca gtg aag atg tcc tgc aag gct tct ggc tac acc ttt 144
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45
 act ggc tac tgg atg cgc tgg gta aaa cag agg cct gga cag ggt ctg 192
 Thr Gly Tyr Trp Met Arg Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60
 gaa tgg att ggc gct att tat cct gga aat agt gat aca aca tac aac 240
 Glu Trp Ile Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Thr Thr Tyr Asn
 65 70 75 80
 cag aag ttc aag ggc aag gcc aaa ctg act gca gtc aca tct gtc agc 288

15

ES 2 373 652 T3

Gln	Lys	Phe	Lys	Gly	Lys	Ala	Lys	Leu	Thr	Ala	Val	Thr	Ser	Val	Ser		
				85					90					95			
act	gcc	tac	atg	gaa	ctc	agc	agc	ctg	aca	aat	gag	gac	tct	gcg	gtc	336	
Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Asn	Glu	Asp	Ser	Ala	Val		
			100					105					110				
tat	tac	tgt	tca	aga	tcg	ggg	gac	cta	act	ggg	ggg	ttt	gct	tac	tg	384	
Tyr	Tyr	Cys	Ser	Arg	Ser	Gly	Asp	Leu	Thr	Gly	Gly	Phe	Ala	Tyr	Trp		
		115					120					125					
ggc	caa	ggg	act	ctg	gtc	act	gtc	tct	aca	gcc	aaa	gct	agc	acc	aag	432	
Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Thr	Ala	Lys	Ala	Ser	Thr	Lys		
	130					135					140						
ggc	cca	tcg	gtc	ttc	ccc	ctg	gca	ccc	tcc	tcc	aag	agc	acc	tct	ggg	480	
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly		
	145				150					155					160		
ggc	aca	gcg	gcc	ctg	ggc	tgc	ctg	gtc	aag	gac	tac	ttc	ccc	gaa	ccg	528	
Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro		
			165						170					175			
gtg	acg	gtg	tcg	tgg	aac	tca	ggc	gcc	ctg	acc	agc	ggc	gtg	cac	acc	576	
Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr		
			180					185					190				
ttc	ccg	gct	gtc	cta	cag	tcc	tca	gga	ctc	tac	tcc	ctc	agc	agc	gtg	624	
Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val		
		195				200					205						
gtg	acc	gtg	ccc	tcc	agc	agc	ttg	ggc	acc	cag	acc	tac	atc	tgc	aac	672	
Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn		
	210					215					220						
gtg	aat	cac	aag	ccc	agc	aac	acc	aag	gtg	gac	aag	aaa	ggt	gag	ccc	720	
Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro		
	225			230						235				240			
aaa	tct	tgt	gac	aaa	act	cac	aca	tgc	cca	ccg	tgc	cca	gca	cct	gaa	768	
Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu		
			245					250						255			
ctc	ctg	ggg	gga	ccg	tca	gtc	ttc	ctc	ttc	ccc	cca	aaa	ccc	aag	gac	816	
Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp		
			260					265						270			
acc	ctc	atg	atc	tcc	cgg	acc	cct	gag	gtc	aca	tgc	gtg	gtg	gtg	gac	864	
Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp		
		275				280								285			
gtg	agc	cac	gaa	gac	cct	gag	gtc	aag	ttc	aac	tgg	tac	gtg	gac	ggc	912	
Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly		
	290				295						300						
gtg	gag	gtg	cat	aat	gcc	aag	aca	aag	ccg	ccg	gag	gag	cag	tac	aac	960	
Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn		
	305			310						315				320			
agc	acg	tac	cgt	gtg	gtc	agc	gtc	ctc	acc	gtc	ctg	cac	cag	gac	tg	1008	
Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp		
			325						330					335			
ctg	aat	ggc	aag	gag	tac	aag	tgc	aag	gtc	tcc	aac	aaa	gcc	ctc	cca	1056	
Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro		
			340					345					350				
gcc	ccc	atc	gag	aaa	acc	atc	tcc	aaa	gcc	aaa	ggg	cag	ccc	cga	gaa	1104	
Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu		
		355				360						365					
cca	cag	gtg	tac	acc	ctg	ccc	cca	tcc	cg	gat	gag	ctg	acc	aag	aac	1152	
Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn		
	370					375					380						
cag	gtc	agc	ctg	acc	tgc	ctg	gtc	aaa	ggc	ttc	tat	ccc	agc	gac	atc	1200	
Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile		
			385		390					395				400			
gcc	gtg	gag	tgg	gag	agc	aat	ggg	cag	ccg	gag	aac	aac	tac	aag	acc	1248	
Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr		

ES 2 373 652 T3

```

          405          410          415
acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag 1296
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
          420          425          430
ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc 1344
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
          435          440          445
tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc 1392
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
          450          455          460
tcc ctg tct ccg ggt aaa tga 1413
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
          465          470

```

<210> 16

<211> 470

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo químérico de ratón-humano (cadena M18D04 H)

10 <400> 16

```

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

```

ES 2 373 652 T3

```

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

```

<210> 17
 <211> 717
 <212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(714)

10

<220> <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M3C11 L)

```

<400> 17
atg agt cct gcc cag ttc ctg ttt ctg tta gtg ctc tgg att cgg gaa 48
Met Ser Pro Ala Gln Phe Leu Phe Leu Leu Val Leu Trp Ile Arg Glu
1 5 10 15
acc aac ggt gat gtt gtg atg acc cag act cca ctc act ttg tcg gtt 96
Thr Asn Gly Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val
20 25 30
acc att gga caa cca gcc tcc atc tct tgc aag tca agt cag agc ctc 144
Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu
35 40 45
tta gat agt gat gga aag aca tat ttg aat tgg ttg tta cag agg cca 192
Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro
50 55 60
ggc cag tct cca aag cgc cta atc tat ctg gtg tct aaa ttg gac tct 240
Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser
65 70 75 80
gga gcc cct gac agg ttc act ggc agt gga tca ggg aca gat ttc aca 288
Gly Ala Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
85 90 95
ctg aaa atc agt aga gtg gag gct gag gat ttg gga att tat tat tgc 336
Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr Cys
100 105 110
tgg caa ggt aca cat ttt ccg ctc acg ttc ggt gct ggg acc aag ctg 384
Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu

```

15

ES 2 373 652 T3

```

          115                120                125
gag ctg aaa cgt acg gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca 432
Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
          130                135                140
tct gat gag cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg 480
Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
          145                150                155                160
aat aac ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac 528
Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
          165                170                175
gcc ctc caa tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc 576
Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
          180                185                190
aag gac agc acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca 624
Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
          195                200                205
gac tac gag aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc 672
Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
          210                215                220
ctg agc tcg ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tga 717
Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
          225                230                235

```

<210> 18

<211> 238

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo químérico de ratón-humano (cadena M3C11 L)

10 <400> 18

```

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

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

```

<210> 19

15 <211> 717

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

20 <221> CDS

<222> (1)..(714)

ES 2 373 652 T3

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M1E07 L)

5

<400> 19

```

atg agt cct gtc cag ttc ctg ttt ctg tta atg ctc tgg att cag gaa 48
Met Ser Pro Val Gln Phe Leu Phe Leu Leu Met Leu Trp Ile Gln Glu
1 5 10 15
acc aac ggt gat gtt gtg atg acc cag act cca ctg tct ttg tcg gtt 96
Thr Asn Gly Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val
20 25 30
acc att gga caa cca gcc tct atc tct tgc aag tca agt cag agc ctc 144
Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu
35 40 45
tta tat agt aat gga aag aca tat ttg aat tgg tta caa cag agg cct 192
Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro
50 55 60
ggc cag gct cca aag cac cta atg tat cag gtg tcc aaa ctg gac cct 240
Gly Gln Ala Pro Lys His Leu Met Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp Pro
65 70 75 80
ggc atc cct gac agg ttc agt ggc agt gga tca gaa aca gat ttt aca 288
Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe Thr
85 90 95
ctt aaa atc agc aga gtg gag gct gaa gat ttg gga gtt tat tac tgc 336
Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys
100 105 110
ttg caa agt aca tat tat ccg ctc acg ttc ggt gct ggg acc aag ctg 384
Leu Gln Ser Thr Tyr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
115 120 125
gag ctg aaa cgt acg gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca 432
Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
130 135 140
tct gat gag cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg 480
Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
145 150 155 160
aat aac ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac 528
Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
165 170 175
gcc ctc caa tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc 576
Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
180 185 190
aag gac agc acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca 624
Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
195 200 205
gac tac gag aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc 672
Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
210 215 220
ctg agc tcg ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tga 717
Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

```

225

230

235

<210> 20

<211> 238

10 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M1E07 L)

15

<400> 20

ES 2 373 652 T3

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

<210> 21

<211> 705

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(702)

10

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M19B11 L)

<400> 21

atg aga ccc tcc att cag ttc ctg ggg ctc ttg ttg ttc tgg ctt cat 48

Met Arg Pro Ser Ile Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Phe Trp Leu His

1 5 10 15

15 ggt gtt cag tgt gac atc cag atg aca cag tct cca tcc tca ctg tct 96

ES 2 373 652 T3

Gly Val Gln Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
 20 25 30
 gca tct ctg gga ggc aaa gtc acc atc act tgc aag gca agt cag gac 144
 Ala Ser Leu Gly Gly Lys Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp
 35 40 45
 att aac aag aat ata gtt tgg tac caa cac aag cct gga aaa ggt cct 192
 Ile Asn Lys Asn Ile Val Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Gly Pro
 50 55 60
 agg ctg ctc ata tgg tac aca tct aca tta cag cca ggc atc cca tca 240
 Arg Leu Leu Ile Trp Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro Gly Ile Pro Ser
 65 70 75 80
 agg ttc agt gga agt ggg tct ggg aga gat tat tcc ttc agc atc agc 288
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Arg Asp Tyr Ser Phe Ser Ile Ser
 85 90 95
 aac ctg gag cct gaa gat att gca act tat tac tgt cta cag tat gat 336
 Asn Leu Glu Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp
 100 105 110
 aat ctt cca cgg acg ttc ggt gga ggc acc aaa ctg gaa atc aaa cgt 384
 Asn Leu Pro Arg Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 115 120 125
 acg gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag cag 432
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Ser Asp Glu Gln
 130 135 140
 ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc tat 480
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 145 150 155 160
 ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa tcg 528
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 165 170 175
 ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc acc 576
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 180 185 190
 tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag aaa 624
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 195 200 205
 cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg ccc 672
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 210 215 220
 gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tga 705
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230

<210> 22

<211> 234

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M19B11 L)

10 <400> 22

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

ES 2 373 652 T3

```

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

```

<210> 23

<211> 720

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(717)

10

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M18D04 L)

<400> 23

```

atg agg ttc tct gct cag ctt ctg ggg ctg ctt gtg ctc tgg atc cct 48
Met Arg Phe Ser Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Val Leu Trp Ile Pro
1          5          10          15
gga tcc act gca gat att gtg atg acg cag gct gca ttc tcc aat cca 96
Gly Ser Thr Ala Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Phe Ser Asn Pro
      20         25         30
gtc act ctt gga aca tca act tcc atc tcc tgc agg tct agt aag agt 144
Val Thr Leu Gly Thr Ser Thr Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser
      35         40         45
ctc cta cat agt aat ggc atc act tat ttg tat tgg tat ctg cag aag 192
Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys
      50         55         60
cca ggc cag tct cct cag ctc ctg att tat cag atg tcc aac ctt gcc 240
Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Ala
      65         70         75         80
tca gga gtc cca gac agg ttc agt agc agt ggg tca gga act gat ttc 288
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Ser Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
      85         90         95
aca ctg aga atc agc aga gtg gag gct gag gat gtg ggt gtt tat tac 336
Thr Leu Arg Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr
      100        105        110
tgt gct caa aat cta gaa ctt ccg tat acg ttc gga tcg ggg acc aag 384
Cys Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys
      115        120        125
ctg gaa ata aaa cgt acg gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg 432

```

15

ES 2 373 652 T3

```

Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
 130          135          140
cca tct gat gag cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg 480
Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
145          150          155
ctg aat aac ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat 528
Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
          165          170          175
aac gcc ctc caa tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac 576
Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
          180          185          190
agc aag gac agc acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa 624
Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
          195          200          205
gca gac tac gag aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag 672
Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
          210          215          220
ggc ctg agc tcg ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tga 720
Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
          225          230          235

```

<210> 24

<211> 239

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220> <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M18D04 L)

<400> 24

```

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

```

10

LISTA DE SECUENCIAS

<110> CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA

15

<120> Un anticuerpo contra el péptido N-terminal o el péptido C terminal de GPC3 soluble en sangre

<130> PH-1875-PCT

20

<140>

<141>

<150> PCT/JP02/08999
<151> 2002-09-04

<160> 24

5 <170> PatentEn Ver. 2.1

<210> 1
<211> 31

10 <212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN Sintético

15 <400> 1
gatatcatgg ccgggaccgt gcgcaccgcg t 31

<210> 2
<211> 31
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

20
25 <220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN Sintético

<400> 2
gctagctcag tgcaccagga agaagaagca c 31

<210> 3
<211> 2300
<212> ADN
<213> Homo sapiens

35 <220>
<221> CDS
<222> (109).. (1851)

<400> 3
cagcacgtct ctigtctctc agggccactg ccaggcttgc cgagtcctgg gactgctctc 60

gctccggctg ccactctccc gcgctctcct agctccctgc gaagcagg atg gcc ggg 117

Met Ala Gly

40

ES 2 373 652 T3

acc gtg cgc acc gcg tgc ttg gtg gtg gcg atg ctg ctc agc ttg gac 165
 Thr Val Arg Thr Ala Cys Leu Val Val Ala Met Leu Leu Ser Leu Asp
 5 10 15

ttc ccg gga cag gcg cag ccc ccg ccg ccg ccg gac gcc acc tgt 213
 Phe Pro Gly Gln Ala Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Asp Ala Thr Cys
 20 25 30 35

cac caa gtc cgc tcc ttc ttc cag aga ctg cag ccc gga ctc aag tgg 261
 His Gln Val Arg Ser Phe Phe Gln Arg Leu Gln Pro Gly Leu Lys Trp
 40 45 50

gtg cca gaa act ccc gtg cca gga tca gat ttg caa gta tgt ctc cct 309
 Val Pro Glu Thr Pro Val Pro Gly Ser Asp Leu Gln Val Cys Leu Pro
 55 60 65

aag ggc cca aca tgc tgc tca aga aag atg gaa gaa aaa tac caa cta 357
 Lys Gly Pro Thr Cys Cys Ser Arg Lys Met Glu Glu Lys Tyr Gln Leu
 70 75 80

aca gca cga ttg aac atg gaa cag ctg ctt cag tct gca agt atg gag 405
 Thr Ala Arg Leu Asn Met Glu Gln Leu Leu Gln Ser Ala Ser Met Glu
 85 90 95

ctc aag ttc tta att att cag aat gct gcg gtt ttc caa gag gcc tti 453
 Leu Lys Phe Leu Ile Ile Gln Asn Ala Ala Val Phe Gln Glu Ala Phe
 100 105 110 115

gaa att gtt gtt cgc cat gcc aag aac tac acc aat gcc atg ttc aag 501

ES 2 373 652 T3

Glu Ile Val Val Arg His Ala Lys Asn Tyr Thr Asn Ala Met Phe Lys
 120 125 130

aac aac tac cca agc ctg act cca caa gct ttt gag ttt gtg ggt gaa 549
 Asn Asn Tyr Pro Ser Leu Thr Pro Gln Ala Phe Glu Phe Val Gly Glu
 135 140 145

ttt ttc aca gat gtg tct ctc tac atc ttg ggt tct gac atc aat gta 597
 Phe Phe Thr Asp Val Ser Leu Tyr Ile Leu Gly Ser Asp Ile Asn Val
 150 155 160

gat gac atg gtc aat gaa ttg ttt gac agc ctg ttt cca gtc atc tat 645
 Asp Asp Met Val Asn Glu Leu Phe Asp Ser Leu Phe Pro Val Ile Tyr
 165 170 175

acc cag cta atg aac cca ggc ctg cct gat tca gcc ttg gac atc aat 693
 Thr Gln Leu Met Asn Pro Gly Leu Pro Asp Ser Ala Leu Asp Ile Asn
 180 185 190 195

gag tgc ctc cga gga gca aga cgt gac ctg aaa gta ttt ggg aat ttc 741
 Glu Cys Leu Arg Gly Ala Arg Arg Asp Leu Lys Val Phe Gly Asn Phe
 200 205 210

ccc aag ctt att atg acc cag gtt tcc aag tca ctg caa gtc act agg 789
 Pro Lys Leu Ile Met Thr Gln Val Ser Lys Ser Leu Gln Val Thr Arg
 215 220 225

atc ttc ctt cag gct ctg aat ctt gga att gaa gtg atc aac aca act 837
 Ile Phe Leu Gln Ala Leu Asn Leu Gly Ile Glu Val Ile Asn Thr Thr

ES 2 373 652 T3

230	235	240	
gat cac ctg aag ttc agt aag gac tgt ggc cga atg ctc acc aga atg 885			
Asp His Leu Lys Phe Ser Lys Asp Cys Gly Arg Met Leu Thr Arg Met			
245	250	255	
tgg tac tgc tct tac tgc cag gga ctg atg atg gtt aaa ccc tgt ggc 933			
Trp Tyr Cys Ser Tyr Cys Gln Gly Leu Met Met Val Lys Pro Cys Gly			
260	265	270	275
ggt tac tgc aat gtg gtc atg caa ggc tgt atg gca ggt gtg gtg gag 981			
Gly Tyr Cys Asn Val Val Met Gln Gly Cys Met Ala Gly Val Val Glu			
280	285	290	
att gac aag tac tgg aga gaa tac att ctg tcc ctt gaa gaa ctt gtg 1029			
Ile Asp Lys Tyr Trp Arg Glu Tyr Ile Leu Ser Leu Glu Glu Leu Val			
295	300	305	
aat ggc atg tac aga atc tat gac atg gag aac gta ctg ctt ggt ctc 1077			
Asn Gly Met Tyr Arg Ile Tyr Asp Met Glu Asn Val Leu Leu Gly Leu			
310	315	320	
ttt tca aca atc cat gat tct atc cag tat gtc cag aag aat gca gga 1125			
Phe Ser Thr Ile His Asp Ser Ile Gln Tyr Val Gln Lys Asn Ala Gly			
325	330	335	
aag ctg acc acc act att ggc aag tta tgt gcc cat tct caa caa cgc 1173			
Lys Leu Thr Thr Thr Ile Gly Lys Leu Cys Ala His Ser Gln Gln Arg			
340	345	350	355

ES 2 373 652 T3

caa tat aga tct gct tat tat cct gaa gat ctc ttt att gac aag aaa	1221
Gln Tyr Arg Ser Ala Tyr Tyr Pro Glu Asp Leu Phe Ile Asp Lys Lys	
360 365 370	
gta tta aaa gtt gct cat gta gaa cat gaa gaa acc tta tcc agc cga	1269
Val Leu Lys Val Ala His Val Glu His Glu Glu Thr Leu Ser Ser Arg	
375 380 385	
aga agg gaa cta att cag aag ttg aag tct ttc atc agc ttc tat agt	1317
Arg Arg Glu Leu Ile Gln Lys Leu Lys Ser Phe Ile Ser Phe Tyr Ser	
390 395 400	
gct tlg cct ggc tac atc tgc agc cat agc cct gtg gcg gaa aac gac	1365
Ala Leu Pro Gly Tyr Ile Cys Ser His Ser Pro Val Ala Glu Asn Asp	
405 410 415	
acc ctt tgc tgg aat gga caa gaa ctc gtg gag aga tac agc caa aag	1413
Thr Leu Cys Trp Asn Gly Gln Glu Leu Val Glu Arg Tyr Ser Gln Lys	
420 425 430 435	
gca gca agg aat gga atg aaa aac cag ttc aat ctc cat gag ctg aaa	1461
Ala Ala Arg Asn Gly Met Lys Asn Gln Phe Asn Leu His Glu Leu Lys	
440 445 450	
atg aag ggc cct gag cca gtg gtc agt caa att att gac aaa ctg aag	1509
Met Lys Gly Pro Glu Pro Val Val Ser Gln Ile Ile Asp Lys Leu Lys	
455 460 465	

ES 2 373 652 T3

cac att aac cag ctc ctg aga acc atg tct atg ccc aaa ggt aga gtt 1557
His Ile Asn Gln Leu Leu Arg Thr Met Ser Met Pro Lys Gly Arg Val
470 475 480

ctg gat aaa aac ctg gat gag gaa ggg ttt gaa agt gga gac tgc ggt 1605
Leu Asp Lys Asn Leu Asp Glu Glu Gly Phe Glu Ser Gly Asp Cys Gly
485 490 495

gat gat gaa gat gag tgc att gga ggc tct ggt gat gga atg ata aaa 1653
Asp Asp Glu Asp Glu Cys Ile Gly Gly Ser Gly Asp Gly Met Ile Lys
500 505 510 515

gtg aag aat cag ctc cgc ttc ctt gca gaa ctg gcc tat gat ctg gat 1701
Val Lys Asn Gln Leu Arg Phe Leu Ala Glu Leu Ala Tyr Asp Leu Asp
520 525 530

gtg gat gat gcg cct gga aac agt cag cag gca act ccg aag gac aac 1749
Val Asp Asp Ala Pro Gly Asn Ser Gln Gln Ala Thr Pro Lys Asp Asn
535 540 545

gag ata agc acc ttt cac aac ctc ggg aac gtt cat tcc ccg ctg aag 1797
Glu Ile Ser Thr Phe His Asn Leu Gly Asn Val His Ser Pro Leu Lys
550 555 560

ctt ctc acc agc atg gcc atc tgc gtg gtg tgc ttc ttc ttc ctg gtg 1845
Leu Leu Thr Ser Met Ala Ile Ser Val Val Cys Phe Phe Phe Leu Val
565 570 575

cac tga ctgcctgggtg cccagcacat gtgctgcctt acagaccct gtggctcttc 1901

ES 2 373 652 T3

His

580

tcgataaagg gaaccacttt cttatTTTTT tctatTTTTT tttttttggt atcctgtata 1961

cctcctccag ccatgaagta gaggactaac catgigtatt gttttcgaaa atcaaatggt 2021

atcttttggg ggaagataca ttttagtggg agcatataga ttgtcctttt gcaaagaaag 2081

aaaaaaaaacc atcaagtigt gccaaattat tctcctatgt ttggctgcta gaacatggt 2141

accatgtctt tctctctcac tccctccctt tctatcgttc tctctttgca tggatttctt 2201

tgaaaaaaaa taaatgctc aaataaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2261

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2300

<210> 4

<211> 580

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 4

Met Ala Gly Thr Val Arg Thr Ala Cys Leu Val Val Ala Met Leu Leu

1 5 10 15

Ser Leu Asp Phe Pro Gly Gln Ala Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Asp

20 25 30

Ala Thr Cys His Gln Val Arg Ser Phe Phe Gln Arg Leu Gln Pro Gly

ES 2 373 652 T3

	35		40		45															
Leu	Lys	Trp	Val	Pro	Glu	Thr	Pro	Val	Pro	Gly	Ser	Asp	Leu	Gln	Val					
	50						55				60									
Cys	Leu	Pro	Lys	Gly	Pro	Thr	Cys	Cys	Ser	Arg	Lys	Met	Glu	Glu	Lys					
	65				70					75					80					
Tyr	Gln	Leu	Thr	Ala	Arg	Leu	Asn	Met	Glu	Gln	Leu	Leu	Gln	Ser	Ala					
				85						90					95					
Ser	Met	Glu	Leu	Lys	Phe	Leu	Ile	Ile	Gln	Asn	Ala	Ala	Val	Phe	Gln					
				100					105						110					
Glu	Ala	Phe	Glu	Ile	Val	Val	Arg	His	Ala	Lys	Asn	Tyr	Thr	Asn	Ala					
		115					120						125							
Met	Phe	Lys	Asn	Asn	Tyr	Pro	Ser	Leu	Thr	Pro	Gln	Ala	Phe	Glu	Phe					
	130						135						140							
Val	Gly	Glu	Phe	Phe	Thr	Asp	Val	Ser	Leu	Tyr	Ile	Leu	Gly	Ser	Asp					
	145					150					155				160					
Ile	Asn	Val	Asp	Asp	Met	Val	Asn	Glu	Leu	Phe	Asp	Ser	Leu	Phe	Pro					
				165						170					175					
Val	Ile	Tyr	Thr	Gln	Leu	Met	Asn	Pro	Gly	Leu	Pro	Asp	Ser	Ala	Leu					
				180						185					190					
Asp	Ile	Asn	Glu	Cys	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Arg	Asp	Leu	Lys	Val	Phe					
		195						200						205						
Gly	Asn	Phe	Pro	Lys	Leu	Ile	Met	Thr	Gln	Val	Ser	Lys	Ser	Leu	Gln					
		210					215							220						
Val	Thr	Arg	Ile	Phe	Leu	Gln	Ala	Leu	Asn	Leu	Gly	Ile	Glu	Val	Ile					
				225							235				240					
Asn	Thr	Thr	Asp	His	Leu	Lys	Phe	Ser	Lys	Asp	Cys	Gly	Arg	Met	Leu					
				245						250					255					
Thr	Arg	Met	Trp	Tyr	Cys	Ser	Tyr	Cys	Gln	Gly	Leu	Met	Met	Val	Lys					
				260						265					270					

ES 2 373 652 T3

Pro Cys Gly Gly Tyr Cys Asn Val Val Met Gln Gly Cys Met Ala Gly
 275 280 285
 Val Val Glu Ile Asp Lys Tyr Trp Arg Glu Tyr Ile Leu Ser Leu Glu
 290 295 300
 Glu Leu Val Asn Gly Met Tyr Arg Ile Tyr Asp Met Glu Asn Val Leu
 305 310 315 320
 Leu Gly Leu Phe Ser Thr Ile His Asp Ser Ile Gln Tyr Val Gln Lys
 325 330 335
 Asn Ala Gly Lys Leu Thr Thr Thr Ile Gly Lys Leu Cys Ala His Ser
 340 345 350
 Gln Gln Arg Gln Tyr Arg Ser Ala Tyr Tyr Pro Glu Asp Leu Phe Ile
 355 360 365
 Asp Lys Lys Val Leu Lys Val Ala His Val Glu His Glu Glu Thr Leu
 370 375 380
 Ser Ser Arg Arg Arg Glu Leu Ile Gln Lys Leu Lys Ser Phe Ile Ser
 385 390 395 400
 Phe Tyr Ser Ala Leu Pro Gly Tyr Ile Cys Ser His Ser Pro Val Ala
 405 410 415
 Glu Asn Asp Thr Leu Cys Trp Asn Gly Gln Glu Leu Val Glu Arg Tyr
 420 425 430
 Ser Gln Lys Ala Ala Arg Asn Gly Met Lys Asn Gln Phe Asn Leu His
 435 440 445
 Glu Leu Lys Met Lys Gly Pro Glu Pro Val Val Ser Gln Ile Ile Asp
 450 455 460
 Lys Leu Lys His Ile Asn Gln Leu Leu Arg Thr Met Ser Met Pro Lys
 465 470 475 480
 Gly Arg Val Leu Asp Lys Asn Leu Asp Glu Glu Gly Phe Glu Ser Gly
 485 490 495
 Asp Cys Gly Asp Asp Glu Asp Glu Cys Ile Gly Gly Ser Gly Asp Gly

ES 2 373 652 T3

	500		505		510										
Met	Ile	Lys	Val	Lys	Asn	Gln	Leu	Arg	Phe	Leu	Ala	Glu	Leu	Ala	Tyr
	515		520		525										
Asp	Leu	Asp	Val	Asp	Asp	Ala	Pro	Gly	Asn	Ser	Gln	Gln	Ala	Thr	Pro
	530		535		540										
Lys	Asp	Asn	Glu	Ile	Ser	Thr	Phe	His	Asn	Leu	Gly	Asn	Val	His	Ser
	545		550		555		560								
Pro	Leu	Lys	Leu	Leu	Thr	Ser	Met	Ala	Ile	Ser	Val	Val	Cys	Phe	Phe
		565		570		575									
Phe	Leu	Val	His												
		580													

<210> 5
 <211> 31
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN Sintético

10 <400> 5
 atagaattcc accatggccc ggaccgtgcg c 31

<210> 6
 <211> 31
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

15

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN Sintético

20 <400> 6
 ataggatccc ttcagcgggg aatgaacgtt c 31

<210> 7
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

25

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN Sintético

30 <400> 7
 gggccagtgg atagacagat g 21

<210> 8
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

35

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN Sintético

40 <400> 8
 gctcactgga tgggtgggaag atg 23

45

<210> 9
 <211> 1392

ES 2 373 652 T3

<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

5 <220>
<221> CDS

<222> (1).. (1389)

<220>

10 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M3C11 H)

<400> 9

atg aac ttc ggg ctc acc ttg att ttc ctt gtc ctt act tta aaa ggt 48

Met Asn Phe Gly Leu Thr Leu Ile Phe Leu Val Leu Thr Leu Lys Gly

1 5 10 15

gtc cag tgt gag gtg caa ctg gtg gag tct ggg gga ggc tta gtg aag 96

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys

20 25 30

cct gga gga tcc ctg aaa ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc act ttc 144

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

35 40 45

ES 2 373 652 T3

agt cgc tat gcc atg tct tgg gtt cgc cag att cca gag aag ata ctg 192
 Ser Arg Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ile Pro Glu Lys Ile Leu
 50 55 60

gag tgg gtc gca gcc att gat agt agt ggt ggt gac acc tac tat tta 240
 Glu Trp Val Ala Ala Ile Asp Ser Ser Gly Gly Asp Thr Tyr Tyr Leu
 65 70 75 80

gac act gtg aag gac cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aat aat 288
 Asp Thr Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Asn Asn
 85 90 95

acc ctg cac ctg caa atg cgc agt ctg agg tct gag gac aca gcc ttg 336
 Thr Leu His Leu Gln Met Arg Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu
 100 105 110

tat tac tgt gta aga cag ggg ggg gct tac tgg ggc caa ggg act ctg 384
 Tyr Tyr Cys Val Arg Gln Gly Gly Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 115 120 125

gtc act gtc tct gca gct agc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg 432
 Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 130 135 140

gca ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc 480
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 145 150 155 160

ES 2 373 652 T3

ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca	528
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser	
165 170 175	
ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc	576
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser	
180 185 190	
tca gga ctc tac tcc ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc	624
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser	
195 200 205	
ttg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac	672
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn	
210 215 220	
acc aag gtg gac aag aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac	720
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His	
225 230 235 240	
aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc	768
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val	
245 250 255	
ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc	816
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr	
260 265 270	
cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag	864

ES 2 373 652 T3

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 275 280 285

gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag 912
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 290 295 300

aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc 960
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 305 310 315 320

gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag 1008
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 325 330 335

tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc 1056
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 340 345 350

tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc 1104
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 355 360 365

cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg 1152
 Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 370 375 380

gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat 1200
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

ES 2 373 652 T3

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

ES 2 373 652 T3

	165		170		175
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser					
	180		185		190
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser					
	195		200		205
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn					
	210		215		220
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His					
	225		230		235
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val					
	245		250		255
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr					
	260		265		270
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu					
	275		280		285
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys					
	290		295		300
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser					
	305		310		315
					320

ES 2 373 652 T3

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
325 330 335

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
340 345 350

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
355 360 365

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
370 375 380

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
385 390 395 400

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
405 410 415

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
420 425 430

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
435 440 445

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 11

<211> 1413

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (1410)

10

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo químérico de ratón-humano (cadena M1E07 H)

<400> 11

ES 2 373 652 T3

atg gga tgg aac tgg atc ttt att tta atc ctg tca gta act aca ggt 48
 Met Gly Trp Asn Trp Ile Phe Ile Leu Ile Leu Ser Val Thr Thr Gly
 1 5 10 15

gtc cac tct gag gtc cag ctg cag cag tct gga cct gag ctg gtg aag 96
 Val His Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys
 20 25 30

cct ggg gct tca gtg aag ata tcc tgc aag gct tct ggt tac tca ttc 144
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
 35 40 45

act ggc tac tac atg cac tgg gtg aag caa agt cct gaa aag agc ctt 192
 Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Lys Gln Ser Pro Glu Lys Ser Leu
 50 55 60

ES 2 373 652 T3

gag tgg att gga gag att aat cct agc act ggt ggt act acc tac aac 240
 Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn Pro Ser Thr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn
 65 70 75 80

cag aag ttc aag gcc aag gcc aca ttg act gta gac aaa tcc tcc agc 288
 Gln Lys Phe Lys Ala Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser
 85 90 95

aca gcc tac atg cag ctc aag agc ctg aca tct gag gac tct gca gtc 336
 Thr Ala Tyr Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
 100 105 110

tat tac tgt gca agg agg ggc gga tta act ggg acg agc ttc ttt gct 384
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Gly Leu Thr Gly Thr Ser Phe Phe Ala
 115 120 125

tac tgg ggc caa ggg act ctg gtc act gtc tct gca gct agc acc aag 432
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys
 130 135 140

ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg 480
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 145 150 155 160

ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg 528
 Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 165 170 175

ES 2 373 652 T3

gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc 576
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 180 185 190

ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc ctc agc agc gtg 624
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 195 200 205

gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc tac atc tgc aac 672
 Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
 210 215 220

gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aaa gtt gag ccc 720
 Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
 225 230 235 240

aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa 768
 Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 245 250 255

ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac 816
 Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 260 265 270

acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac 864
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 275 280 285

gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc 912

ES 2 373 652 T3

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly	
290	300
gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac	960
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn	
305	320
agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg	1008
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp	
325	335
ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca	1056
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro	
340	350
gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa	1104
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu	
355	365
cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac	1152
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn	
370	380
cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc	1200
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile	
385	400
gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc	1248
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr	

ES 2 373 652 T3

405 410 415
 acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag 1296
 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 420 425 430

ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc 1344
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 435 440 445

tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc 1392
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 450 455 460

tcc ctg tct ccg ggt aaa tga 1413
 Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 12

<211> 470

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M1E07 H)

<400> 12

Met Gly Trp Asn Trp Ile Phe Ile Leu Ile Leu Ser Val Thr Thr Gly

10

1

5

10

15

ES 2 373 652 T3

Val His Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys
 20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
 35 40 45

Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Lys Gln Ser Pro Glu Lys Ser Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn Pro Ser Thr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn
 65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Ala Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser
 85 90 95

Thr Ala Tyr Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Gly Leu Thr Gly Thr Ser Phe Phe Ala
 115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys
 130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro

ES 2 373 652 T3

	165		170		175
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr					
	180		185		190
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val					
	195		200		205
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn					
	210		215		220
Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro					
225		230		235	240
Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu					
	245		250		255
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp					
	260		265		270
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp					
	275		280		285
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly					
	290		295		300
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn					
305		310		315	320

ES 2 373 652 T3

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 325 330 335

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 340 345 350

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 355 360 365

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
 370 375 380

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 385 390 395 400

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 405 410 415

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 420 425 430

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 435 440 445

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 13

<211> 1416

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (1413)

10

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M19B11 H)

<400> 13

ES 2 373 652 T3

atg aac ttc ggg ctc acc ttg att ttc ctc gtc ctt act tta aaa ggt 48

Met Asn Phe Gly Leu Thr Leu Ile Phe Leu Val Leu Thr Leu Lys Gly

1 5 10 15

gtc cag tgt gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga gac tta gtg aag 96

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys

20 25 30

cct gga ggg acc ctg aaa ctc tcc tgt gca gcc tct gga tcc act ttc 144

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

35 40 45

ES 2 373 652 T3

agt aac tat gcc atg tct tgg gtt cgc cag act cca gag aag agg ctg 192
 Ser Asn Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu
 50 55 60

gag tgg gtc gca gcc att gat agt aat gga ggt acc acc tac tat cca 240
 Glu Trp Val Ala Ala Ile Asp Ser Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro
 65 70 75 80

gac act atg aag gac cga ttc acc att tcc aga gac aat gcc aag aac 288
 Asp Thr Met Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85 90 95

acc ctg tac ctg caa atg aac agt ctg agg tct gaa gac aca gcc ttt 336
 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Phe
 100 105 110

tat cac tgt aca aga cat aat gga ggg tat gaa aac tac ggc tgg ttt 384
 Tyr His Cys Thr Arg His Asn Gly Gly Tyr Glu Asn Tyr Gly Trp Phe
 115 120 125

gct tac tgg ggc caa ggg act ctg gtc act gtc tct gca gct agc acc 432
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr
 130 135 140

aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct 480
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
 145 150 155 160

ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa 528

ES 2 373 652 T3

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu	
	165 170 175
ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac	576
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His	
	180 185 190
acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc ctc agc agc	624
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser	
	195 200 205
gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc tac atc tgc	672
Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys	
	210 215 220
aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aaa gtt gag	720
Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu	
	225 230 235 240
ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct	768
Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro	
	245 250 255
gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag	816
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys	
	260 265 270
gac acc ctc atg atc tcc egg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg	864
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val	

ES 2 373 652 T3

275	280	285	
gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac			912
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp			
290	295	300	
ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac			960
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr			
305	310	315	320
aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac			1008
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp			
325	330	335	
tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc			1056
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu			
340	345	350	
cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga			1104
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg			
355	360	365	
gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag			1152
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys			
370	375	380	
aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac			1200
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp			
385	390	395	400

ES 2 373 652 T3

atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag 1248
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 405 410 415

acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc 1296
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 420 425 430

aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca 1344
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 435 440 445

tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc 1392
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 450 455 460

ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa tga 1416
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 14

<211> 471

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M19B11 H)

<400> 14

ES 2 373 652 T3

Met Asn Phe Gly Leu Thr Leu Ile Phe Leu Val Leu Thr Leu Lys Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys
 20 25 30

Pro Gly Gly Thr Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Phe
 35 40 45

Ser Asn Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu
 50 55 60

Glu Trp Val Ala Ala Ile Asp Ser Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro
 65 70 75 80

Asp Thr Met Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Phe
 100 105 110

Tyr His Cys Thr Arg His Asn Gly Gly Tyr Glu Asn Tyr Gly Trp Phe
 115 120 125

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr
 130 135 140

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

ES 2 373 652 T3

145	150	155	160
Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu			
	165	170	175
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His			
	180	185	190
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser			
	195	200	205
Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys			
	210	215	220
Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu			
225	230	235	240
Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro			
	245	250	255
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys			
	260	265	270
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val			
	275	280	285
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp			
	290	295	300

ES 2 373 652 T3

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 305 310 315 320

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 325 330 335

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 340 345 350

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 355 360 365

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
 370 375 380

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 385 390 395 400

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 405 410 415

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 420 425 430

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 435 440 445

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 450 455 460

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

- <210> 15
- 5 <211> 1413
- <212> ADN
- <213> Secuencia Artificial

- <220>
- 10 <221> CDS
- <222> (1).. (1410)

ES 2 373 652 T3

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M18D04 H)

<400> 15

atg gaa tct aac tgg ata ctt cct ttt att ctg tcg gta gct tca ggg 48

Met Glu Ser Asn Trp Ile Leu Pro Phe Ile Leu Ser Val Ala Ser Gly

1 5 10 15

gtc tac tca gag gtt cag ctc cag cag tct ggg act glg ctg gca agg 96

Val Tyr Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Thr Val Leu Ala Arg

20 25 30

5 cct ggg gct tca gtg aag atg tcc tgc aag gct tct ggc tac acc ttt 144

ES 2 373 652 T3

Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45

act ggc tac tgg atg cgc tgg gta aaa cag agg cct gga cag ggt ctg 192
 Thr Gly Tyr Trp Met Arg Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60

gaa tgg att ggc gct att tat cct gga aat agt gat aca aca tac aac 240
 Glu Trp Ile Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Thr Thr Tyr Asn
 65 70 75 80

cag aag ttc aag ggc aag gcc aaa ctg act gca gtc aca tct gtc agc 288
 Gln Lys Phe Lys Gly Lys Ala Lys Leu Thr Ala Val Thr Ser Val Ser
 85 90 95

act gcc tac atg gaa ctc agc agc ctg aca aat gag gac tct gcg gtc 336
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Asn Glu Asp Ser Ala Val
 100 105 110

tat tac tgt tca aga tcg ggg gac cta act ggg ggg ttt gct tac tgg 384
 Tyr Tyr Cys Ser Arg Ser Gly Asp Leu Thr Gly Gly Phe Ala Tyr Trp
 115 120 125

ggc caa ggg act ctg gtc act gtc tct aca gcc aaa gct agc acc aag 432
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Thr Ala Lys Ala Ser Thr Lys
 130 135 140

ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg 480
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly

ES 2 373 652 T3

145	150	155	160	
ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg				528
Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro				
	165	170	175	
gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc				576
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr				
	180	185	190	
ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc ctc agc agc gtg				624
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val				
	195	200	205	
gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc tac atc tgc aac				672
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn				
	210	215	220	
gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aaa gtt gag ccc				720
Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro				
225	230	235	240	
aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa				768
Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu				
	245	250	255	
ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac				816
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp				
	260	265	270	

ES 2 373 652 T3

acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac 864
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 275 280 285

gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc 912
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 290 295 300

gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag cgg cgg gag gag cag tac aac 960
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 305 310 315 320

agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg 1008
 Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 325 330 335

ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca 1056
 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 340 345 350

gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa 1104
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 355 360 365

cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc egg gat gag ctg acc aag aac 1152
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
 370 375 380

ES 2 373 652 T3

cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc 1200
 Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 385 390 395 400

gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc 1248
 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 405 410 415

acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag 1296
 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 420 425 430

ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc 1344
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 435 440 445

tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc 1392
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 450 455 460

tcc ctg tct ccg ggt aaa tga 1413
 Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 16

<211> 470

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M18D04 H)

<400> 16

10

ES 2 373 652 T3

Met Glu Ser Asn Trp Ile Leu Pro Phe Ile Leu Ser Val Ala Ser Gly
 1 5 10 15

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45

Thr Gly Tyr Trp Met Arg Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Thr Thr Tyr Asn
 65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Lys Ala Lys Leu Thr Ala Val Thr Ser Val Ser
 85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Asn Glu Asp Ser Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ser Arg Ser Gly Asp Leu Thr Gly Gly Phe Ala Tyr Trp
 115 120 125

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Thr Ala Lys Ala Ser Thr Lys

ES 2 373 652 T3

130	135	140	
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly			
145	150	155	160
Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro			
	165	170	175
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr			
	180	185	190
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val			
	195	200	205
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn			
	210	215	220
Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro			
225	230	235	240
Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu			
	245	250	255
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp			
	260	265	270
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp			
	275	280	285

ES 2 373 652 T3

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 290 295 300

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 305 310 315 320

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 325 330 335

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 340 345 350

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 355 360 365

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
 370 375 380

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 385 390 395 400

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 405 410 415

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 420 425 430

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 435 440 445

ES 2 373 652 T3

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 17
<211> 717
<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>
<221> CDS
<222> (1).. (714)

10

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo químérico de ratón-humano (cadena M3C11 L)

<400> 17
atg agt cct gcc cag ttc ctg ttt ctg tta gtg ctc tgg att cgg gaa 48

Met Ser Pro Ala Gln Phe Leu Phe Leu Leu Val Leu Trp Ile Arg Glu
1 5 10 15

acc aac ggt gat gtt gtg atg acc cag act cca ctc act ttg tcg gtt 96

15

Thr Asn Gly Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val

ES 2 373 652 T3

	20		25		30	
acc att gga caa cca gcc tcc atc tct tgc aag tca agt cag agc ctc						144
Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu						
	35		40		45	
tta gat agt gat gga aag aca tat ttg aat tgg ttg tta cag agg cca						192
Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro						
	50		55		60	
ggc cag tct cca aag cgc cta atc tat ctg gtg tct aaa ttg gac tct						240
Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser						
	65		70		75	80
gga gcc cct gac agg ttc act gcc agt gga tca ggg aca gat ttc aca						288
Gly Ala Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr						
		85		90		95
ctg aaa atc agt aga gtg gag gct gag gat ttg gga att tat tat tgc						336
Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr Cys						
	100		105		110	
tgg caa ggt aca cat ttt ccg ctc acg ttc ggt gct ggg acc aag ctg						384
Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu						
	115		120		125	
gag ctg aaa cgt acg gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca						432
Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro						
	130		135		140	

ES 2 373 652 T3

tct gat gag cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg 480
 Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
 145 150 155 160

aat aac ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac 528
 Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
 165 170 175

gcc ctc caa tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc 576
 Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
 180 185 190

aag gac agc acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca 624
 Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
 195 200 205

gac tac gag aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc 672
 Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
 210 215 220

ctg agc tcg ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tga 717
 Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235

<210> 18

<211> 238

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo químérico de ratón-humano (cadena M3C11 L)

<400> 18

ES 2 373 652 T3

Met Ser Pro Ala Gln Phe Leu Phe Leu Leu Val Leu Trp Ile Arg Glu
 1 5 10 15

Thr Asn Gly Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val
 20 25 30

Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu
 35 40 45

Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro
 50 55 60

Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser
 65 70 75 80

Gly Ala Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 85 90 95

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr Cys
 100 105 110

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
 115 120 125

ES 2 373 652 T3

Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
130 135 140

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
145 150 155 160

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
165 170 175

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
180 185 190

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
195 200 205

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
210 215 220

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

<210> 19

<211> 717

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (714)

10

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M1E07 L)

<400> 19

ES 2 373 652 T3

atg agt cct gtc cag ttc ctg ttt ctg tta atg ctc tgg att cag gaa	48
Met Ser Pro Val Gln Phe Leu Phe Leu Leu Met Leu Trp Ile Gln Glu	
1 5 10 15	
acc aac ggt gat gtt gtg atg acc cag act cca ctg tct ttg tcg gtt	96
Thr Asn Gly Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val	
20 25 30	
acc att gga caa cca gcc tct atc tct tgc aag tca agt cag agc ctc	144
Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu	
35 40 45	
tta tat agt aat gga aag aca tat ttg aat tgg tta caa cag agg cct	192
Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro	
50 55 60	
ggc cag gct cca aag cac cta atg tat cag gtg tcc aaa ctg gac cct	240
Gly Gln Ala Pro Lys His Leu Met Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp Pro	
65 70 75 80	
ggc atc cct gac agg ttc agt ggc agt gga tca gaa aca gat ttt aca	288

ES 2 373 652 T3

Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe Thr
85 90 95

cit aaa atc agc aga gtg gag gct gaa gat ttg gga gtt tat tac tgc 336
Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys
100 105 110

ttg caa agt aca tat tat ccg ctc acg ttc ggt gct ggg acc aag ctg 384
Leu Gln Ser Thr Tyr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
115 120 125

gag ctg aaa cgt acg gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca 432
Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
130 135 140

tct gat gag cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg 480
Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
145 150 155 160

aat aac ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac 528
Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
165 170 175

gcc ctc caa tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc 576
Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
180 185 190

aag gac agc acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca 624
Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala

ES 2 373 652 T3

195 200 205

gac tac gag aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc 672

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly

210 215 220

ctg agc tcg ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tga 717

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225 230 235

<210> 20

<211> 238

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M1E07 L)

<400> 20

Met Ser Pro Val Gln Phe Leu Phe Leu Leu Met Leu Trp Ile Gln Glu

1 5 10 15

Thr Asn Gly Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val

20 25 30

Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu

35 40 45

10 Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro

ES 2 373 652 T3

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

5 <210> 21
705
<212> ADN

ES 2 373 652 T3

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> CDS

5 <222> (1).. (702)

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M19B11 L)

10 <400> 21

atg aga ccc tcc att cag ttc ctg ggg ctc ttg ttg ttc tgg ctt cat 48

Met Arg Pro Ser Ile Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Phe Trp Leu His

1 5 10 15

ggt gtt cag tgt gac atc cag atg aca cag tct cca tcc tca ctg tct 96

Gly Val Gln Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser

20 25 30

ES 2 373 652 T3

gca tct ctg gga ggc aaa gtc acc atc act tgc aag gca agt cag gac	144
Ala Ser Leu Gly Gly Lys Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp	
35 40 45	
att aac aag aat ata gtt tgg tac caa cac aag cct gga aaa ggt cct	192
Ile Asn Lys Asn Ile Val Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Gly Pro	
50 55 60	
agg ctg ctc ata tgg tac aca tct aca tta cag cca ggc atc cca tca	240
Arg Leu Leu Ile Trp Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro Gly Ile Pro Ser	
65 70 75 80	
agg ttc agt gga agt ggg tct ggg aga gat tat tcc ttc agc atc agc	288
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Arg Asp Tyr Ser Phe Ser Ile Ser	
85 90 95	
aac ctg gag cct gaa gat att gca act tat tac tgt cta cag tat gat	336
Asn Leu Glu Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp	
100 105 110	
aat ctt cca cgg acg ttc ggt gga ggc acc aaa ctg gaa atc aaa cgt	384
Asn Leu Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg	
115 120 125	
acg gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag cag	432
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln	
130 135 140	

ES 2 373 652 T3

ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc tat 480
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 145 150 155 160

ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa tcg 528
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 165 170 175

ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc acc 576
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 180 185 190

tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag aaa 624
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 195 200 205

cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg ccc 672
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 210 215 220

gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tga 705
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230

<210> 22

<211> 234

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M19B11 L)

<400> 22

ES 2 373 652 T3

Met Arg Pro Ser Ile Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Phe Trp Leu His
 1 5 10 15

Gly Val Gln Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
 20 25 30

Ala Ser Leu Gly Gly Lys Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp
 35 40 45

Ile Asn Lys Asn Ile Val Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Gly Pro
 50 55 60

Arg Leu Leu Ile Trp Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro Gly Ile Pro Ser
 65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Arg Asp Tyr Ser Phe Ser Ile Ser
 85 90 95

Asn Leu Glu Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp
 100 105 110

Asn Leu Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

ES 2 373 652 T3

130

135

140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr

145

150

155

160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

165

170

175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

180

185

190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys

195

200

205

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

210

215

220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225

230

<210> 23

<211> 720

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (717)

10

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M18D04 L)

<400> 23

ES 2 373 652 T3

atg agg ttc tct gct cag ctt ctg ggg ctg ctt gtg ctc tgg atc cct 48
 Met Arg Phe Ser Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Val Leu Trp Ile Pro
 1 5 10 15

gga tcc act gca gat att gtg atg acg cag gct gca ttc tcc aat cca 96
 Gly Ser Thr Ala Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Phe Ser Asn Pro
 20 25 30

gtc act ctt gga aca tca act tcc atc tcc tgc agg tct agt aag agt 144
 Val Thr Leu Gly Thr Ser Thr Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser
 35 40 45

ctc cta cat agt aat ggc atc act tat ttg tat tgg tat ctg cag aag 192
 Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys
 50 55 60

cca ggc cag tct cct cag ctc ctg att tat cag atg tcc aac ctt gcc 240
 Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Ala
 65 70 75 80

tca gga gtc cca gac agg ttc agt agc agt ggg tca gga act gat ttc 288
 Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Ser Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe

ES 2 373 652 T3

85	90	95	
aca ctg aga atc agc aga gtg gag gct gag gat gtg ggt gtt tat tac			336
Thr Leu Arg Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr			
100	105	110	
tggt gct caa aat cta gaa ctt ccg tat acg ttc gga tcg ggg acc aag			384
Cys Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys			
115	120	125	
ctg gaa ata aaa cgt acg gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg			432
Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro			
130	135	140	
cca tct gat gag cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg			480
Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu			
145	150	155	160
ctg aat aac ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat			528
Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp			
165	170	175	
aac gcc ctc caa tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac			576
Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp			
180	185	190	
agc aag gac agc acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa			624
Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys			
195	200	205	

ES 2 373 652 T3

gca gac tac gag aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag 672
Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
210 215 220

ggc ctg agc tgc ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tga 720
Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 24

<211> 239

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M18D04 L)

<400> 24

Met Arg Phe Ser Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Val Leu Trp Ile Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Ala Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Phe Ser Asn Pro
20 25 30

Val Thr Leu Gly Thr Ser Thr Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser
35 40 45

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

10

ES 2 373 652 T3

Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Ala
65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Ser Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
85 90 95

Thr Leu Arg Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr
100 105 110

Cys Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys
115 120 125

Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
130 135 140

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
145 150 155 160

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
165 170 175

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
180 185 190

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
195 200 205

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
210 215 220

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

5 LISTA DE SECUENCIAS

<110> CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA

<120> ANTICUERPO CONTRA EL PÉPTIDO N-TERMINAL O EL PÉPTIDO C-TERMINAL DE GPC3 SOLUBLE PRESENTE EN SANGRE

<130> N.94176 GCW

5 <140> EP 03794236.4
<141> 2003-09-04

<150> PCT/JP03/11318
<151> 2003-09-04

10 <150> PCT/JP02/08999
<151> 2002-09-04

<160> 24

15 <170> PatentEn Ver. 2.1

<210> 1
<211> 31
<212> ADN

20 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN Sintético

25 <400> 1
gatatcatgg ccgggaccgt gcgcaccgcg t 31

<210> 2
<211> 31
<212> ADN

30 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN Sintético

35 <400> 2
gctagctcag tgcaccagga agaagaagca c 31

<210> 3
<211> 2300
<212> ADN
<213> Homo sapiens

40 <220>
<221> CDS
<222> (109)..(1851)

45 <400> 3
cagcacgtct cttgctcctc agggccaactg ccaggcttgc cgagtcctgg gactgctctc 60
gctccggctg ccaactctccc gcgctctcct agctccctgc gaagcagg atg gcc ggg 117
Met Ala Gly
1
acc gtg cgc acc gcg tgc ttg gtg gtg gcg atg ctg ctc agc ttg gac 165
Thr Val Arg Thr Ala Cys Leu Val Val Ala Met Leu Leu Ser Leu Asp
5 10 15
ttc ccg gga cag gcg cag ccc ccg ccg ccg ccg gac gcc acc tgt 213

50

ES 2 373 652 T3

Phe	Pro	Gly	Gln	Ala	Gln	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Asp	Ala	Thr	Cys	
20					25					30					35	
cac	caa	gtc	cgc	tcc	ttc	ttc	cag	aga	ctg	cag	ccc	gga	ctc	aag	tgg	261
His	Gln	Val	Arg	Ser	Phe	Phe	Gln	Arg	Leu	Gln	Pro	Gly	Leu	Lys	Trp	
				40					45					50		
gtg	cca	gaa	act	ccc	gtg	cca	gga	tca	gat	ttg	caa	gta	tgt	ctc	cct	309
Val	Pro	Glu	Thr	Pro	Val	Pro	Gly	Ser	Asp	Leu	Gln	Val	Cys	Leu	Pro	
				55				60						65		
aag	ggc	cca	aca	tgc	tgc	tca	aga	aag	atg	gaa	gaa	aaa	tac	caa	cta	357
Lys	Gly	Pro	Thr	Cys	Cys	Ser	Arg	Lys	Met	Glu	Glu	Lys	Tyr	Gln	Leu	
		70					75					80				
aca	gca	cga	ttg	aac	atg	gaa	cag	ctg	ctt	cag	tct	gca	agt	atg	gag	405
Thr	Ala	Arg	Leu	Asn	Met	Glu	Gln	Leu	Leu	Gln	Ser	Ala	Ser	Met	Glu	
	85					90					95					
ctc	aag	ttc	tta	att	att	cag	aat	gct	gcg	gtt	ttc	caa	gag	gcc	ttt	453
Leu	Lys	Phe	Leu	Ile	Ile	Gln	Asn	Ala	Ala	Val	Phe	Gln	Glu	Ala	Phe	
	100				105					110					115	
gaa	att	gtt	gtt	cgc	cat	gcc	aag	aac	tac	acc	aat	gcc	atg	ttc	aag	501
Glu	Ile	Val	Val	Arg	His	Ala	Lys	Asn	Tyr	Thr	Asn	Ala	Met	Phe	Lys	
				120					125					130		
aac	aac	tac	cca	agc	ctg	act	cca	caa	gct	ttt	gag	ttt	gtg	ggt	gaa	549
Asn	Asn	Tyr	Pro	Ser	Leu	Thr	Pro	Gln	Ala	Phe	Glu	Phe	Val	Gly	Glu	
			135					140						145		
ttt	ttc	aca	gat	gtg	tct	ctc	tac	atc	ttg	ggt	tct	gac	atc	aat	gta	597
Phe	Phe	Thr	Asp	Val	Ser	Leu	Tyr	Ile	Leu	Gly	Ser	Asp	Ile	Asn	Val	
		150					155					160				
gat	gac	atg	gtc	aat	gaa	ttg	ttt	gac	agc	ctg	ttt	cca	gtc	atc	tat	645
Asp	Asp	Met	Val	Asn	Glu	Leu	Phe	Asp	Ser	Leu	Phe	Pro	Val	Ile	Tyr	
		165				170					175					
acc	cag	cta	atg	aac	cca	ggc	ctg	cct	gat	tca	gcc	ttg	gac	atc	aat	693
Thr	Gln	Leu	Met	Asn	Pro	Gly	Leu	Pro	Asp	Ser	Ala	Leu	Asp	Ile	Asn	
				185					190						195	
gag	tgc	ctc	cga	gga	gca	aga	cgt	gac	ctg	aaa	gta	ttt	ggg	aat	ttc	741
Glu	Cys	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Arg	Asp	Leu	Lys	Val	Phe	Gly	Asn	Phe	
				200					205					210		
ccc	aag	ctt	att	atg	acc	cag	gtt	tcc	aag	tca	ctg	caa	gtc	act	agg	789
Pro	Lys	Leu	Ile	Met	Thr	Gln	Val	Ser	Lys	Ser	Leu	Gln	Val	Thr	Arg	
			215					220						225		
atc	ttc	ctt	cag	gct	ctg	aat	ctt	gga	att	gaa	gtg	atc	aac	aca	act	837
Ile	Phe	Leu	Gln	Ala	Leu	Asn	Leu	Gly	Ile	Glu	Val	Ile	Asn	Thr	Thr	
			230				235					240				
gat	cac	ctg	aag	ttc	agt	aag	gac	tgt	ggc	cga	atg	ctc	acc	aga	atg	885
Asp	His	Leu	Lys	Phe	Ser	Lys	Asp	Cys	Gly	Arg	Met	Leu	Thr	Arg	Met	
		245				250					255					
tgg	tac	tgc	tct	tac	tgc	cag	gga	ctg	atg	atg	ggt	aaa	ccc	tgt	ggc	933
Trp	Tyr	Cys	Ser	Tyr	Cys	Gln	Gly	Leu	Met	Met	Val	Lys	Pro	Cys	Gly	
		260			265					270					275	
ggt	tac	tgc	aat	gtg	gtc	atg	caa	ggc	tgt	atg	gca	ggt	gtg	gtg	gag	981
Gly	Tyr	Cys	Asn	Val	Val	Met	Gln	Gly	Cys	Met	Ala	Gly	Val	Val	Glu	
				280					285					290		
att	gac	aag	tac	tgg	aga	gaa	tac	att	ctg	tcc	ctt	gaa	gaa	ctt	gtg	1029
Ile	Asp	Lys	Tyr	Trp	Arg	Glu	Tyr	Ile	Leu	Ser	Leu	Glu	Glu	Leu	Val	
			295				300							305		
aat	ggc	atg	tac	aga	atc	tat	gac	atg	gag	aac	gta	ctg	ctt	ggt	ctc	1077
Asn	Gly	Met	Tyr	Arg	Ile	Tyr	Asp	Met	Glu	Asn	Val	Leu	Leu	Gly	Leu	
		310					315							320		
ttt	tca	aca	atc	cat	gat	tct	atc	cag	tat	gtc	cag	aag	aat	gca	gga	1125
Phe	Ser	Thr	Ile	His	Asp	Ser	Ile	Gln	Tyr	Val	Gln	Lys	Asn	Ala	Gly	
		325				330					335					
aag	ctg	acc	acc	act	att	ggc	aag	tta	tgt	gcc	cat	tct	caa	caa	cgc	1173
Lys	Leu	Thr	Thr	Thr	Ile	Gly	Lys	Leu	Cys	Ala	His	Ser	Gln	Gln	Arg	

ES 2 373 652 T3

```

340          345          350          355
caa tat aga tct gct tat tat cct gaa gat ctc ttt att gac aag aaa 1221
Gln Tyr Arg Ser Ala Tyr Tyr Pro Glu Asp Leu Phe Ile Asp Lys Lys
          360          365          370
gta tta aaa gtt gct cat gta gaa cat gaa acc tta tcc agc cga 1269
Val Leu Lys Val Ala His Val Glu His Glu Glu Thr Leu Ser Ser Arg
          375          380          385
aga agg gaa cta att cag aag ttg aag tct ttc atc agc ttc tat agt 1317
Arg Arg Glu Leu Ile Gln Lys Leu Lys Ser Phe Ile Ser Phe Tyr Ser
          390          395          400
gct ttg cct ggc tac atc tgc agc cat agc cct gtg gcg gaa aac gac 1365
Ala Leu Pro Gly Tyr Ile Cys Ser His Ser Pro Val Ala Glu Asn Asp
          405          410          415
acc ctt tgc tgg aat gga caa gaa ctc gtg gag aga tac agc caa aag 1413
Thr Leu Cys Trp Asn Gly Gln Glu Leu Val Glu Arg Tyr Ser Gln Lys
          420          425          430          435
gca gca agg aat gga atg aaa aac cag ttc aat ctc cat gag ctg aaa 1461
Ala Ala Arg Asn Gly Met Lys Asn Gln Phe Asn Leu His Glu Leu Lys
          440          445          450
atg aag ggc cct gag cca gtg gtc agt caa att att gac aaa ctg aag 1509
Met Lys Gly Pro Glu Pro Val Val Ser Gln Ile Ile Asp Lys Leu Lys
          455          460          465
cac att aac cag ctc ctg aga acc atg tct atg ccc aaa ggt aga gtt 1557
His Ile Asn Gln Leu Leu Arg Thr Met Ser Met Pro Lys Gly Arg Val
          470          475          480
ctg gat aaa aac ctg gat gag gaa ggg ttt gaa agt gga gac tgc ggt 1605
Leu Asp Lys Asn Leu Asp Glu Gly Phe Glu Ser Gly Asp Cys Gly
          485          490          495
gat gat gaa gat gag tgc att gga ggc tct ggt gat gga atg ata aaa 1653
Asp Asp Glu Asp Glu Cys Ile Gly Gly Ser Gly Asp Gly Met Ile Lys
          500          505          510          515
gtg aag aat cag ctc cgc ttc ctt gca gaa ctg gcc tat gat ctg gat 1701
Val Lys Asn Gln Leu Arg Phe Leu Ala Glu Leu Ala Tyr Asp Leu Asp
          520          525          530
gtg gat gat gcg cct gga aac agt cag gca gca act ccg aag gac aac 1749
Val Asp Asp Ala Pro Gly Asn Ser Gln Gln Ala Thr Pro Lys Asp Asn
          535          540          545
gag ata agc acc ttt cac aac ctc ggg aac gtt cat tcc ccg ctg aag 1797
Glu Ile Ser Thr Phe His Asn Leu Gly Asn Val His Ser Pro Leu Lys
          550          555          560
ctt ctc acc agc atg gcc atc tcg gtg gtg tgc ttc ttc ttc ctg gtg 1845
Leu Leu Thr Ser Met Ala Ile Ser Val Val Cys Phe Phe Phe Leu Val
          565          570          575
cac tga ctgcctggtg ccagcacat gtgctgcctt acagcacctt gtggtcttcc 1901
His
580
tcgataaagg gaaccacttt cttatntttt tctatntttt tttttttggt atcctgtata 1961
cctcctccag ccatgaagta gaggactaac catgtgttat gttttcgaaa atcaaatggt 2021
atcttttggg ggaagataca ttttagtggt agcatataga ttgtcctttt gcaaagaaag 2081
aaaaaaaaacc atcaagttgt gccaaattat tctcctatgt ttggctgcta gaacatgggt 2141
accatgtctt tctctctcac tccctccctt tctatcgttc tctctttgca tggatttctt 2201
tgaaaaaaaa taattgctc aaataaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2261
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2300

```

- <210> 4
- <211> 580
- <212> PRT
- 5 <213> Homo sapiens
- <400> 4

Met Ala Gly Thr Val Arg Thr Ala Cys Leu Val Val Ala Met Leu Leu

ES 2 373 652 T3

1				5					10					15
Ser	Leu	Asp	Phe	Pro	Gly	Gln	Ala	Gln	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Asp
			20					25					30	
Ala	Thr	Cys	His	Gln	Val	Arg	Ser	Phe	Phe	Gln	Arg	Leu	Gln	Pro
		35					40					45		Gly
Leu	Lys	Trp	Val	Pro	Glu	Thr	Pro	Val	Pro	Gly	Ser	Asp	Leu	Gln
	50					55					60			Val
Cys	Leu	Pro	Lys	Gly	Pro	Thr	Cys	Cys	Ser	Arg	Lys	Met	Glu	Glu
	65			70					75					Lys
Tyr	Gln	Leu	Thr	Ala	Arg	Leu	Asn	Met	Glu	Gln	Leu	Leu	Gln	Ser
				85					90					Ala
Ser	Met	Glu	Leu	Lys	Phe	Leu	Ile	Ile	Gln	Asn	Ala	Ala	Val	Phe
		100						105					110	Gln
Glu	Ala	Phe	Glu	Ile	Val	Val	Arg	His	Ala	Lys	Asn	Tyr	Thr	Asn
		115					120					125		Ala
Met	Phe	Lys	Asn	Asn	Tyr	Pro	Ser	Leu	Thr	Pro	Gln	Ala	Phe	Glu
	130			135							140			Phe
Val	Gly	Glu	Phe	Phe	Thr	Asp	Val	Ser	Leu	Tyr	Ile	Leu	Gly	Ser
	145			150						155				Asp
Ile	Asn	Val	Asp	Asp	Met	Val	Asn	Glu	Leu	Phe	Asp	Ser	Leu	Phe
			165					170						Pro
Val	Ile	Tyr	Thr	Gln	Leu	Met	Asn	Pro	Gly	Leu	Pro	Asp	Ser	Ala
		180					185							Leu
Asp	Ile	Asn	Glu	Cys	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Arg	Asp	Leu	Lys	Val
	195						200					205		Phe
Gly	Asn	Phe	Pro	Lys	Leu	Ile	Met	Thr	Gln	Val	Ser	Lys	Ser	Leu
	210				215						220			Gln
Val	Thr	Arg	Ile	Phe	Leu	Gln	Ala	Leu	Asn	Leu	Gly	Ile	Glu	Val
	225				230					235				Ile
Asn	Thr	Thr	Asp	His	Leu	Lys	Phe	Ser	Lys	Asp	Cys	Gly	Arg	Met
			245						250					Leu
Thr	Arg	Met	Trp	Tyr	Cys	Ser	Tyr	Cys	Gln	Gly	Leu	Met	Met	Val
		260						265					270	Lys
Pro	Cys	Gly	Tyr	Cys	Asn	Val	Val	Met	Gln	Gly	Cys	Met	Ala	Gly
	275					280					285			
Val	Val	Glu	Ile	Asp	Lys	Tyr	Trp	Arg	Glu	Tyr	Ile	Leu	Ser	Leu
	290				295						300			Glu
Glu	Leu	Val	Asn	Gly	Met	Tyr	Arg	Ile	Tyr	Asp	Met	Glu	Asn	Val
	305				310					315				Leu
Leu	Gly	Leu	Phe	Ser	Thr	Ile	His	Asp	Ser	Ile	Gln	Tyr	Val	Gln
			325						330					Lys
Asn	Ala	Gly	Lys	Leu	Thr	Thr	Thr	Ile	Gly	Lys	Leu	Cys	Ala	His
			340					345					350	Ser
Gln	Gln	Arg	Gln	Tyr	Arg	Ser	Ala	Tyr	Tyr	Pro	Glu	Asp	Leu	Phe
		355					360					365		Ile
Asp	Lys	Lys	Val	Leu	Lys	Val	Ala	His	Val	Glu	His	Glu	Glu	Thr
	370				375						380			Leu
Ser	Ser	Arg	Arg	Arg	Glu	Leu	Ile	Gln	Lys	Leu	Lys	Ser	Phe	Ile
	385				390					395				Ser
Phe	Tyr	Ser	Ala	Leu	Pro	Gly	Tyr	Ile	Cys	Ser	His	Ser	Pro	Val
			405						410					Ala
Glu	Asn	Asp	Thr	Leu	Cys	Trp	Asn	Gly	Gln	Glu	Leu	Val	Glu	Arg
			420					425					430	Tyr
Ser	Gln	Lys	Ala	Ala	Arg	Asn	Gly	Met	Lys	Asn	Gln	Phe	Asn	Leu
	435						440					445		His
Glu	Leu	Lys	Met	Lys	Gly	Pro	Glu	Pro	Val	Val	Ser	Gln	Ile	Ile
	450				455						460			Asp
Lys	Leu	Lys	His	Ile	Asn	Gln	Leu	Leu	Arg	Thr	Met	Ser	Met	Pro
	465				470					475				Lys
Gly	Arg	Val	Leu	Asp	Lys	Asn	Leu	Asp	Glu	Glu	Gly	Phe	Glu	Ser
				485					490					Gly

ES 2 373 652 T3

```

Asp Cys Gly Asp Asp Glu Asp Glu Cys Ile Gly Gly Ser Gly Asp Gly
      500
Met Ile Lys Val Lys Asn Gln Leu Arg Phe Leu Ala Glu Leu Ala Tyr
      515
Asp Leu Asp Val Asp Asp Ala Pro Gly Asn Ser Gln Gln Ala Thr Pro
      530
Lys Asp Asn Glu Ile Ser Thr Phe His Asn Leu Gly Asn Val His Ser
      545
Pro Leu Lys Leu Leu Thr Ser Met Ala Ile Ser Val Val Cys Phe Phe
      565
Phe Leu Val His
      580

```

<210> 5

<211> 31

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN Sintético

10 <400> 5

atagaattcc accatggccg ggaccgtgcg c 31

<210> 6

<211> 31

15 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN Sintético

20

<400> 6

ataggatccc ttcagcgggg aatgaacgtt c 31

<210> 7

<211> 21

25 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

30 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN Sintético

<400> 7

gggccagtgg atagacagat g 21

35 <210> 8

<211> 23

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

40 <220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: ADN Sintético

<400> 8

gctcactgga tggtggaag atg 23

45

<210> 9

<211> 1392

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

50

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1389)

55 <220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M3C11 H)

ES 2 373 652 T3

```

<400> 9
atg aac ttc ggg ctc acc ttg att ttc ctt gtc ctt act tta aaa ggt 48
Met Asn Phe Gly Leu Thr Leu Ile Phe Leu Val Leu Thr Leu Lys Gly
1 5 10 15
gtc cag tgt gag gtg caa ctg gtg gag tct ggg gga ggc tta gtg aag 96
Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
20 25 30
cct gga gga tcc ctg aaa ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc act ttc 144
Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45
agt cgc tat gcc atg tct tgg gtt cgc cag att cca gag aag ata ctg 192
Ser Arg Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ile Pro Glu Lys Ile Leu
50 55 60
gag tgg gtc gca gcc att gat agt agt ggt ggt gac acc tac tat tta 240
Glu Trp Val Ala Ala Ile Asp Ser Ser Gly Gly Asp Thr Tyr Tyr Leu
65 70 75 80
gac act gtg aag gac cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aat aat 288
Asp Thr Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Asn Asn
85 90 95
acc ctg cac ctg caa atg cgc agt ctg agg tct gag gac aca gcc ttg 336
Thr Leu His Leu Gln Met Arg Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu
100 105 110
tat tac tgt gta aga cag ggg ggg gct tac tgg ggc caa ggg act ctg 384
Tyr Tyr Cys Val Arg Gln Gly Gly Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
115 120 125
gtc act gtc tct gca gct agc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg 432
Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
130 135 140
gca ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc 480
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
145 150 155 160
ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca 528
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
165 170 175
ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc 576
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
180 185 190
tca gga ctc tac tcc ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc 624
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
195 200 205
ttg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac 672
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
210 215 220
acc aag gtg gac aag aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac 720
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
225 230 235 240
aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc 768
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
245 250 255
ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc 816
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
260 265 270

```

ES 2 373 652 T3

cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag 864
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 275 280 285
 gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag 912
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 290 295 300
 aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc 960
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 305 310 315 320
 gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag 1008
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 325 330 335
 tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc 1056
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 340 345 350
 tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc 1104
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 355 360 365
 cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg 1152
 Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 370 375 380
 gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat 1200
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 385 390 395 400
 ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc 1248
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 405 410 415
 gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg 1296
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 420 425 430
 tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg 1344
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 435 440 445
 cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa tga 1392
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455 460

<210> 10

<211> 463

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M3C11 H)

10 <400> 10

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

ES 2 373 652 T3

Tyr Tyr Cys Val Arg Gln Gly Gly Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 115 120 125
 Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 130 135 140
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 145 150 155 160
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 165 170 175
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 180 185 190
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 195 200 205
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 210 215 220
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 225 230 235 240
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 245 250 255
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 260 265 270
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 275 280 285
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 290 295 300
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 305 310 315 320
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 325 330 335
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 340 345 350
 Ser Lys Ala Ser Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 355 360 365
 Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 370 375 380
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 385 390 395 400
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 405 410 415
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 420 425 430
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 435 440 445
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455 460

<210> 11

<211> 1413

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1410)

10

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M1E07 H)

<400> 11

atg gga tgg aac tgg atc ttt att tta atc ctg tca gta act aca ggt 48
 Met Gly Trp Asn Trp Ile Phe Ile Leu Ile Leu Ser Val Thr Thr Gly

15

ES 2 373 652 T3

1	5	10	15	
gtc cac tct gag gtc cag ctg cag cag tct gga cct gag ctg gtg aag				96
Val His Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys				
	20	25	30	
cct ggg gct tca gtg aag ata tcc tgc aag gct tct ggt tac tca ttc				144
Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe				
	35	40	45	
act ggc tac tac atg cac tgg gtg aag caa agt cct gaa aag agc ctt				192
Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Lys Gln Ser Pro Glu Lys Ser Leu				
	50	55	60	
gag tgg att gga gag att aat cct agc act ggt ggt act acc tac aac				240
Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn Pro Ser Thr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn				
	65	70	75	80
cag aag ttc aag gcc aag gcc aca ttg act gta gac aaa tcc tcc agc				288
Gln Lys Phe Lys Ala Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser				
	85	90	95	
aca gcc tac atg cag ctc aag agc ctg aca tct gag gac tct gca gtc				336
Thr Ala Tyr Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val				
	100	105	110	
tat tac tgt gca agg agg ggc gga tta act ggg acg agc ttc ttt gct				384
Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Leu Thr Gly Thr Ser Phe Phe Ala				
	115	120	125	
tac tgg ggc caa ggg act ctg gtc act gtc tct gca gct agc acc aag				432
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys				
	130	135	140	
ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg				480
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly				
	145	150	155	160
ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg				528
Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro				
	165	170	175	
gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc				576
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr				
	180	185	190	
ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc ctc agc agc gtg				624
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val				
	195	200	205	
gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc tac atc tgc aac				672
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn				
	210	215	220	
gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aaa gtt gag ccc				720
Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro				
	225	230	235	240
aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa				768
Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu				
	245	250	255	
ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac				816
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp				
	260	265	270	
acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gac gac				864
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp				
	275	280	285	
gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc				912
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly				
	290	295	300	
gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac				960
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn				
	305	310	315	320
agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc ctg cac cag gac tgg				1008
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp				
	325	330	335	

ES 2 373 652 T3

```

ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca 1056
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
      340                      345                      350
gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa 1104
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
      355                      360                      365
cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac 1152
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
      370                      375                      380
cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc 1200
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
      385                      390                      395                      400
gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc 1248
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
      405                      410                      415
acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag 1296
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
      420                      425                      430
ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc 1344
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
      435                      440                      445
tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc 1392
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
      450                      455                      460
tcc ctg tct ccg ggt aaa tga 1413
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
      465                      470

```

<210> 12

<211> 470

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M1E07 H)

10 <400> 12

```

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

```

ES 2 373 652 T3

```

                180                185                190
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
      195                200                205
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
      210                215                220
Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
225                230                235                240
Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
      245                250                255
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
      260                265                270
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
      275                280                285
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
290                295                300
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
305                310                315                320
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
      325                330                335
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
      340                345                350
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
      355                360                365
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
      370                375                380
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
385                390                395                400
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
      405                410                415
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
      420                425                430
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
      435                440                445
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
      450                455                460
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
      465                470

```

<210> 13

<211> 1416

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1413)

10

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M19B11 H)

<400> 13

```

atg aac ttc ggg ctc acc ttg att ttc ctc gtc ctt act tta aaa ggt 48
Met Asn Phe Gly Leu Thr Leu Ile Phe Leu Val Leu Thr Leu Lys Gly
  1                5                10                15
gtc cag tgt gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga gac tta gtg aag 96
Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys
      20                25                30
cct gga ggg acc ctg aaa ctc tcc tgt gca gcc tct gga tcc act ttc 144
Pro Gly Gly Thr Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Phe
      35                40                45

```

15

ES 2 373 652 T3

agt aac tat gcc atg tct tgg gtt cgc cag act cca gag aag agg ctg 192
 Ser Asn Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu
 50 55 60
 gag tgg gtc gca gcc att gat agt aat gga ggt acc acc tac tat cca 240
 Glu Trp Val Ala Ala Ile Asp Ser Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro
 65 70 75 80
 gac act atg aag gac cga ttc acc att tcc aga gac aat gcc aag aac 288
 Asp Thr Met Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85 90 95
 acc ctg tac ctg caa atg aac agt ctg agg tct gaa gac aca gcc ttt 336
 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Phe
 100 105 110
 tat cac tgt aca aga cat aat gga ggg tat gaa aac tac ggc tgg ttt 384
 Tyr His Cys Thr Arg His Asn Gly Gly Tyr Glu Asn Tyr Gly Trp Phe
 115 120 125
 gct tac tgg ggc caa ggg act ctg gtc act gtc tct gca gct agc acc 432
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr
 130 135 140
 aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct 480
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
 145 150 155 160
 ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa 528
 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 165 170 175
 ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac 576
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 180 185 190
 acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc ctc agc agc 624
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 195 200 205
 gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc tac atc tgc 672
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
 210 215 220
 aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aaa gtt gag 720
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
 225 230 235 240
 ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct 768
 Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 245 250 255
 gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag 816
 Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 260 265 270
 gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg 864
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 275 280 285
 gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac 912
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 290 295 300
 ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac 960
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 305 310 315 320
 aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac 1008
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 325 330 335
 tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc 1056
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 340 345 350
 cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga 1104
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 355 360 365
 gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag 1152

ES 2 373 652 T3

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
 370 375 380
 aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac 1200
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 385 390 395 400
 atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag 1248
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 405 410 415
 acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc 1296
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 420 425 430
 aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca 1344
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 435 440 445
 tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc 1392
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 450 455 460
 ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa tga 1416
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 14

<211> 471

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M19B11 H)

10 <400> 14

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

ES 2 373 652 T3

```

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

```

<210> 15

<211> 1413

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1410)

10

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M18D04 H)

<400> 15

```

atg gaa tct aac tgg ata ctt cct ttt att ctg tcg gta gct tca ggg 48
Met Glu Ser Asn Trp Ile Leu Pro Phe Ile Leu Ser Val Ala Ser Gly
1 5 10 15
gtc tac tca gag gtt cag ctc cag cag tct ggg act gtg ctg gca agg 96
Val Tyr Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Thr Val Leu Ala Arg
20 25 30
cct ggg gct tca gtg aag atg tcc tgc aag gct tct ggc tac acc ttt 144
Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45
act ggc tac tgg atg cgc tgg gta aaa cag agg cct gga cag ggt ctg 192
Thr Gly Tyr Trp Met Arg Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60
gaa tgg att ggc gct att tat cct gga aat agt gat aca aca tac aac 240
Glu Trp Ile Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Thr Thr Tyr Asn
65 70 75 80
cag aag ttc aag ggc aag gcc aaa ctg act gca gtc aca tct gtc agc 288

```

15

ES 2 373 652 T3

Gln	Lys	Phe	Lys	Gly	Lys	Ala	Lys	Leu	Thr	Ala	Val	Thr	Ser	Val	Ser	
				85					90					95		
act	gcc	tac	atg	gaa	ctc	agc	agc	ctg	aca	aat	gag	gac	tct	gcg	gtc	336
Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Asn	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	
			100					105					110			
tat	tac	tgt	tca	aga	tcg	ggg	gac	cta	act	ggg	ggg	ttt	gct	tac	tgg	384
Tyr	Tyr	Cys	Ser	Arg	Ser	Gly	Asp	Leu	Thr	Gly	Gly	Phe	Ala	Tyr	Trp	
		115					120					125				
ggc	caa	ggg	act	ctg	gtc	act	gtc	tct	aca	gcc	aaa	gct	agc	acc	aag	432
Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Thr	Ala	Lys	Ala	Ser	Thr	Lys	
	130						135				140					
ggc	cca	tcg	gtc	ttc	ccc	ctg	gca	ccc	tcc	tcc	aag	agc	acc	tct	ggg	480
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	
	145			150						155					160	
ggc	aca	gcg	gcc	ctg	ggc	tgc	ctg	gtc	aag	gac	tac	ttc	ccc	gaa	ccg	528
Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	
				165					170					175		
gtg	acg	gtg	tcg	tgg	aac	tca	ggc	gcc	ctg	acc	agc	ggc	gtg	cac	acc	576
Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	
			180				185						190			
ttc	ccg	gct	gtc	cta	cag	tcc	tca	gga	ctc	tac	tcc	ctc	agc	agc	gtg	624
Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	
		195				200						205				
gtg	acc	gtg	ccc	tcc	agc	agc	ttg	ggc	acc	cag	acc	tac	atc	tgc	aac	672
Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	
	210					215					220					
gtg	aat	cac	aag	ccc	agc	aac	acc	aag	gtg	gac	aag	aaa	gtt	gag	ccc	720
Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	
	225			230						235					240	
aaa	tct	tgt	gac	aaa	act	cac	aca	tgc	cca	ccg	tgc	cca	gca	cct	gaa	768
Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	
				245					250					255		
ctc	ctg	ggg	gga	ccg	tca	gtc	ttc	ctc	ttc	ccc	cca	aaa	ccc	aag	gac	816
Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	
		260					265						270			
acc	ctc	atg	atc	tcc	cgg	acc	cct	gag	gtc	aca	tgc	gtg	gtg	gtg	gac	864
Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	
		275				280						285				
gtg	agc	cac	gaa	gac	cct	gag	gtc	aag	ttc	aac	tgg	tac	gtg	gac	ggc	912
Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	
	290				295						300					
gtg	gag	gtg	cat	aat	gcc	aag	aca	aag	ccg	cgg	gag	gag	cag	tac	aac	960
Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	
	305				310					315					320	
agc	acg	tac	cgt	gtg	gtc	agc	gtc	ctc	acc	gtc	ctg	cac	cag	gac	tgg	1008
Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	
				325					330					335		
ctg	aat	ggc	aag	gag	tac	aag	tgc	aag	gtc	tcc	aac	aaa	gcc	ctc	cca	1056
Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	
		340						345					350			
gcc	ccc	atc	gag	aaa	acc	atc	tcc	aaa	gcc	aaa	ggg	cag	ccc	cga	gaa	1104
Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	
		355				360						365				
cca	cag	gtg	tac	acc	ctg	ccc	cca	tcc	cgg	gat	gag	ctg	acc	aag	aac	1152
Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	
	370					375						380				
cag	gtc	agc	ctg	acc	tgc	ctg	gtc	aaa	ggc	ttc	tat	ccc	agc	gac	atc	1200
Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	
	385				390					395					400	
gcc	gtg	gag	tgg	gag	agc	aat	ggg	cag	ccg	gag	aac	aac	tac	aag	acc	1248
Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	

ES 2 373 652 T3

```

                405                410                415
acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag 1296
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
                420                425                430
ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc 1344
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
                435                440                445
tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc 1392
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
                450                455                460
tcc ctg tct ccg ggt aaa tga 1413
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
                465                470

```

<210> 16

<211> 470

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M18D04 H)

10 <400> 16

```

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

```

ES 2 373 652 T3

```

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

```

<210> 17
 <211> 717
 <212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(714)

10

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M3C11 L)

```

<400> 17
atg agt cct gcc cag ttc ctg ttt ctg tta gtg ctc tgg att cgg gaa 48
Met Ser Pro Ala Gln Phe Leu Phe Leu Leu Val Leu Trp Ile Arg Glu
  1                      5                      10                      15
acc aac ggt gat gtt gtg atg acc cag act cca ctc act ttg tcg gtt 96
Thr Asn Gly Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val
      20                      25                      30
acc att gga caa cca gcc tcc atc tct tgc aag tca agt cag agc ctc 144
Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu
      35                      40                      45
tta gat agt gat gga aag aca tat ttg aat tgg ttg tta cag agg cca 192
Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro
      50                      55                      60
ggc cag tct cca aag cgc cta atc tat ctg gtg tct aaa ttg gac tct 240
Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser
      65                      70                      75                      80
gga gcc cct gac agg ttc act ggc agt gga tca ggg aca gat ttc aca 288
Gly Ala Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
      85                      90                      95
ctg aaa atc agt aga gtg gag gct gag gat ttg gga att tat tat tgc 336
Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr Cys
      100                      105                      110
tgg caa ggt aca cat ttt ccg ctc acg ttc ggt gct ggg acc aag ctg 384
Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu

```

15

ES 2 373 652 T3

```

          115                120                125
gag ctg aaa cgt acg gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca 432
Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
130                135                140
tct gat gag cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg 480
Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
145                150                155
aat aac ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac 528
Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
165                170                175
gcc ctc caa tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc 576
Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
180                185                190
aag gac agc acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca 624
Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
195                200                205
gac tac gag aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc 672
Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
210                215                220
ctg agc tcg ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tga 717
Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225                230                235

```

<210> 18

<211> 238

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo químérico de ratón-humano (cadena M3C11 L)

10 <400> 18

```

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

```

```

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

```

<210> 19

15 <211> 717

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

20 <221> CDS

ES 2 373 652 T3

<222> (1)..(714)

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M1E07 L)

5

<400> 19

```

atg agt cct gtc cag ttc ctg ttt ctg tta atg ctc tgg att cag gaa 48
Met Ser Pro Val Gln Phe Leu Phe Leu Leu Met Leu Trp Ile Gln Glu
  1                    5                10                15
acc aac ggt gat gtt gtg atg acc cag act cca ctg tct ttg tcg gtt 96
Thr Asn Gly Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val
          20                25                30
acc att gga caa cca gcc tct atc tct tgc aag tca agt cag agc ctc 144
Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu
          35                40                45
tta tat agt aat gga aag aca tat ttg aat tgg tta caa cag agg cct 192
Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro
          50                55                60
ggc cag gct cca aag cac cta atg tat cag gtg tcc aaa ctg gac cct 240
Gly Gln Ala Pro Lys His Leu Met Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp Pro
          65                70                75                80
ggc atc cct gac agg ttc agt ggc agt gga tca gaa aca gat ttt aca 288
Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe Thr
          85                90                95
ctt aaa atc agc aga gtg gag gct gaa gat ttg gga gtt tat tac tgc 336
Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys
          100                105
ttg caa agt aca tat tat ccg ctc acg ttc ggt gct ggg acc aag ctg 384
Leu Gln Ser Thr Tyr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
          115                120                125
gag ctg aaa cgt acg gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca 432
Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
          130                135                140
tct gat gag cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg 480
Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
          145                150                155                160
aat aac ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac 528
Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
          165                170                175
gcc ctc caa tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc 576
Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
          180                185                190
aag gac agc acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca 624
Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
          195                200                205
gac tac gag aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc 672
Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
          210                215                220
ctg agc tcg ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tga 717
Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

```

225

230

235

10

<210> 20

<211> 238

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

15

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M1E07 L)

<400> 20

ES 2 373 652 T3

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

<210> 21

<211> 705

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(702)

10

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo químérico de ratón-humano (cadena M19B11 L)

<400> 21

atg aga ccc tcc att cag ttc ctg ggg ctc ttg ttg ttc tgg ctt cat 48

Met Arg Pro Ser Ile Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Phe Trp Leu His

1 5 10 15

ggt gtt cag tgt gac atc cag atg aca cag tct cca tcc tca ctg tct 96

15

ES 2 373 652 T3

Gly Val Gln Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
 20 25 30
 gca tct ctg gga ggc aaa gtc acc atc act tgc aag gca agt cag gac 144
 Ala Ser Leu Gly Gly Lys Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp
 35 40 45
 att aac aag aat ata gtt tgg tac caa cac aag cct gga aaa ggt cct 192
 Ile Asn Lys Asn Ile Val Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Gly Pro
 50 55 60
 agg ctg ctc ata tgg tac aca tct aca tta cag cca ggc atc cca tca 240
 Arg Leu Leu Ile Trp Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro Gly Ile Pro Ser
 65 70 75 80
 agg ttc agt gga agt ggg tct ggg aga gat tat tcc ttc agc atc agc 288
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Arg Asp Tyr Ser Phe Ser Ile Ser
 85 90 95
 aac ctg gag cct gaa gat att gca act tat tac tgt cta cag tat gat 336
 Asn Leu Glu Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp
 100 105 110
 aat ctt cca cgg acg ttc ggt gga ggc acc aaa ctg gaa atc aaa cgt 384
 Asn Leu Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 115 120 125
 acg gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag cag 432
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 130 135 140
 ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc tat 480
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 145 150 155 160
 ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa tcg 528
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 165 170 175
 ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc acc 576
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 180 185 190
 tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag aaa 624
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 195 200 205
 cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg ccc 672
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 210 215 220
 gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tga 705
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230

<210> 22

<211> 234

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo químérico de ratón-humano (cadena M19B11 L)

10 <400> 22

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

ES 2 373 652 T3

```

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

```

<210> 23

<211> 720

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(717)

10

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M18D04 L)

<400> 23

```

atg agg ttc tct gct cag ctt ctg ggg ctg ctt gtg ctc tgg atc cct 48
Met Arg Phe Ser Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Val Leu Trp Ile Pro
1          5          10          15
gga tcc act gca gat att gtg atg acg cag gct gca ttc tcc aat cca 96
Gly Ser Thr Ala Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Phe Ser Asn Pro
      20          25          30
gtc act ctt gga aca tca act tcc atc tcc tgc agg tct agt aag agt 144
Val Thr Leu Gly Thr Ser Thr Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser
      35          40          45
ctc cta cat agt aat ggc atc act tat ttg tat tgg tat ctg cag aag 192
Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys
      50          55          60
cca ggc cag tct cct cag ctc ctg att tat cag atg tcc aac ctt gcc 240
Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Ala
      65          70          75          80
tca gga gtc cca gac agg ttc agt agc agt ggg tca gga act gat ttc 288
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
      85          90          95
aca ctg aga atc agc aga gtg gag gct gag gat gtg ggt gtt tat tac 336
Thr Leu Arg Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr
      100         105         110
tgt gct caa aat cta gaa ctt ccg tat acg ttc gga tcg ggg acc aag 384
Cys Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys
      115         120         125
ctg gaa ata aaa cgt acg gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg 432

```

15

<210> 24
 <211> 239
 <212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Anticuerpo quimérico de ratón-humano (cadena M18D04 L)

10 <400> 24

```

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

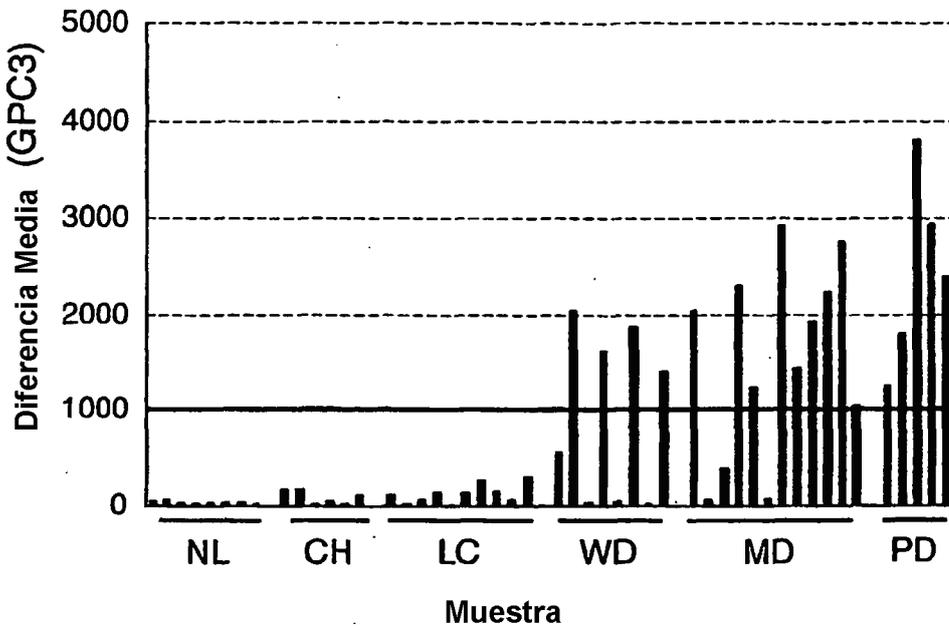
15

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un anticuerpo contra un péptido que consiste en los residuos de aminoácidos 375-580 de GPC 3, donde el anticuerpo tiene una actividad citotóxica.
2. El anticuerpo de la reivindicación 1, donde la actividad citotóxica es una actividad citotóxica para las células HepG2 o HuH-7.
- 10 3. El anticuerpo de las reivindicaciones 1 o 2, donde el anticuerpo es:
- un anticuerpo monoclonal; y/o
es un anticuerpo quimérico; y/o
es un anticuerpo humanizado.
- 15 4. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la actividad citotóxica es la actividad ADCC.
- 20 5. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la actividad citotóxica es la actividad CDC.
6. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el anticuerpo es un anticuerpo recombinante.
- 25 7. El anticuerpo de la reivindicación 6, donde el anticuerpo ha sido producido en una célula de mamífero.
8. El anticuerpo de la reivindicación 7, donde la célula de mamífero se selecciona entre una célula CHO, COS, de mieloma, BHK, vero y Hela.
- 30 9. El anticuerpo de la reivindicación 7 u 8, donde la célula de mamífero es transformada con un vector de expresión que comprende un gen que codifica el anticuerpo.
10. El anticuerpo de la reivindicación 9, donde la célula de mamífero comprende:
- 35 (a) un vector de expresión que comprende un gen que codifica la cadena pesada (H) del anticuerpo y un vector de expresión separado que comprende un gen que codifica la cadena ligera (L) del anticuerpo; o
(b) un vector de expresión sencillo que codifica tanto la cadena H como L.
- 40 11. El anticuerpo de la reivindicación 9 o 10, donde:
- (a) el gen que codifica la cadena H del anticuerpo comprende la secuencia del SEQ ID NO: 9; y/o
(b) el gen que codifica la cadena L del anticuerpo comprende la secuencia del SEQ ID NO: 17.
- 45 12. El anticuerpo de la reivindicación 9 o 10, donde:
- (a) el gen que codifica la cadena H del anticuerpo comprende la secuencia del SEQ ID NO: 11; y/o
(b) el gen que codifica la cadena L del anticuerpo comprende la secuencia del SEQ ID NO: 19.
- 50 13. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores que es un anticuerpo humanizado.
- 55 14. Un anticuerpo como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores para su uso en el tratamiento de cáncer, donde el cáncer expresa GPC 3.
15. Un anticuerpo como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 para su uso en la perturbación del desarrollo celular, donde las células cuyo desarrollo va a ser perturbado expresan GPC 3.
- 60 16. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 15, donde la célula es una célula cancerosa.
17. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 14 o 16, donde el cáncer es hepatoma, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer de próstata, leucemia o linfoma.
- 65 18. Una formulación farmacéutica que comprende el anticuerpo como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 y un portador y/o aditivo farmacéuticamente aceptable.

Fig. 1

A.



B.

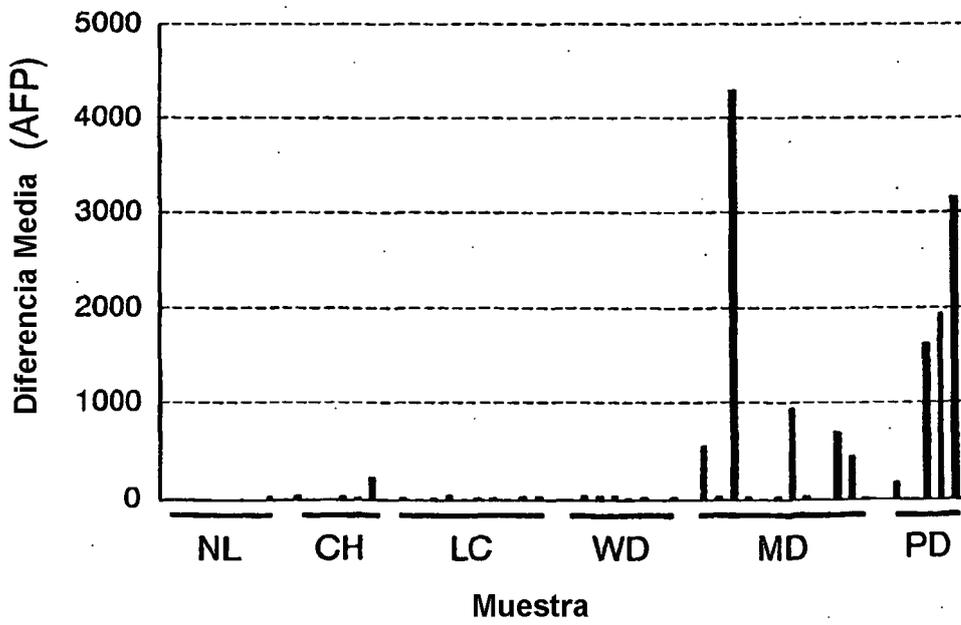


Fig. 2

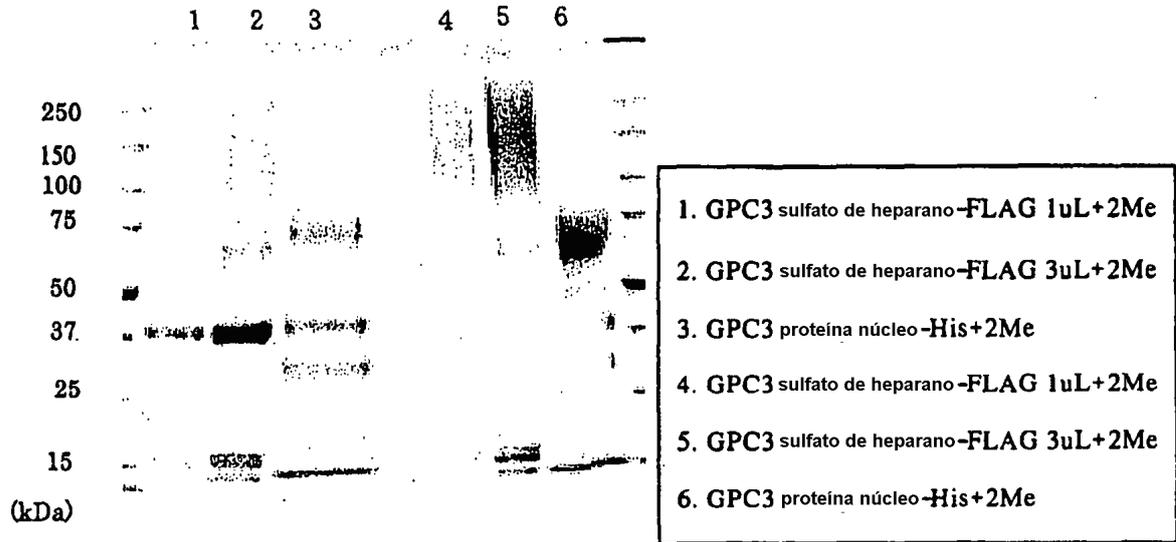


Fig. 3

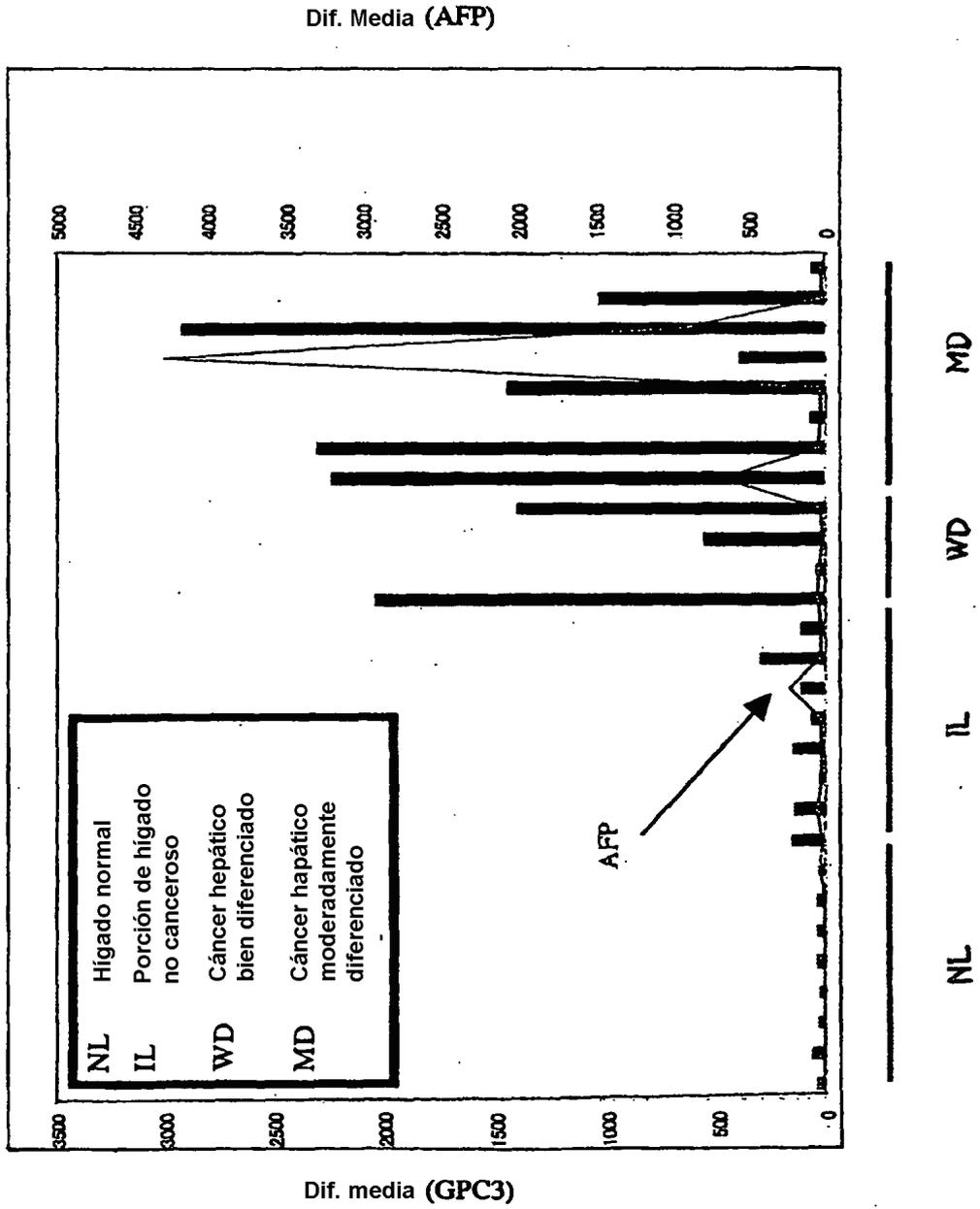


Fig. 4

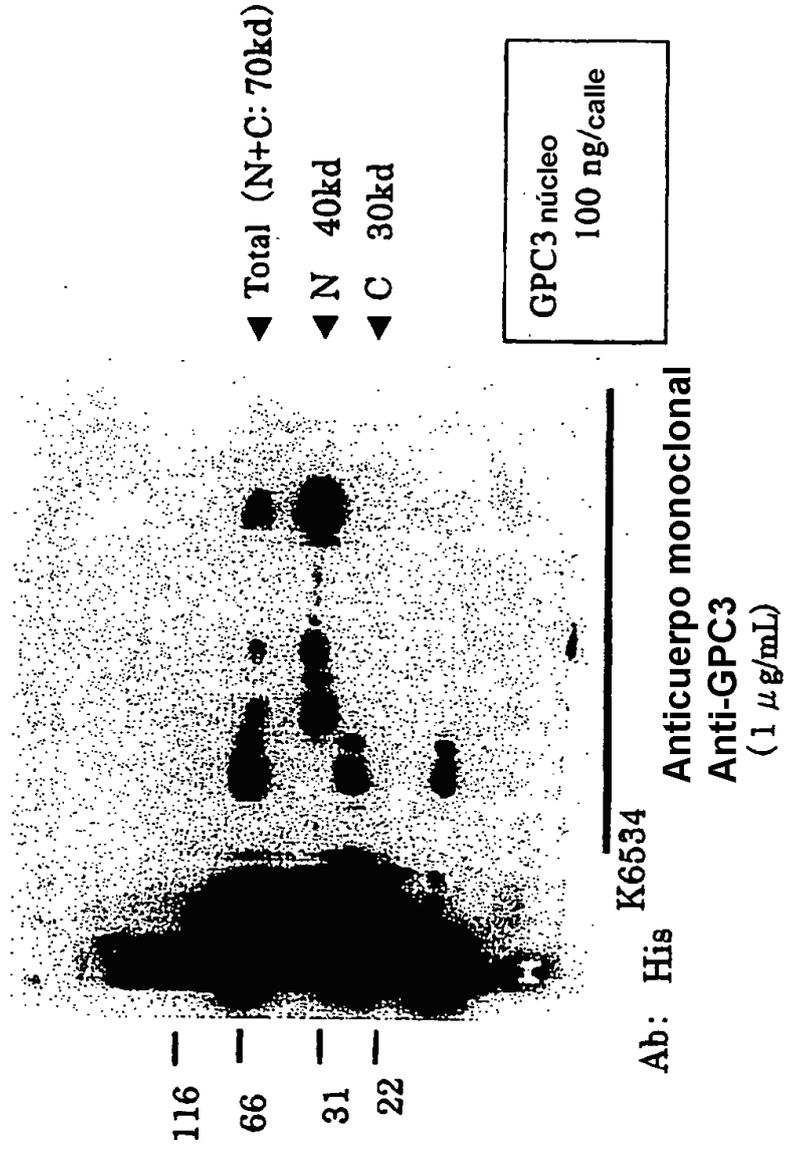


Fig. 5

Medición DO

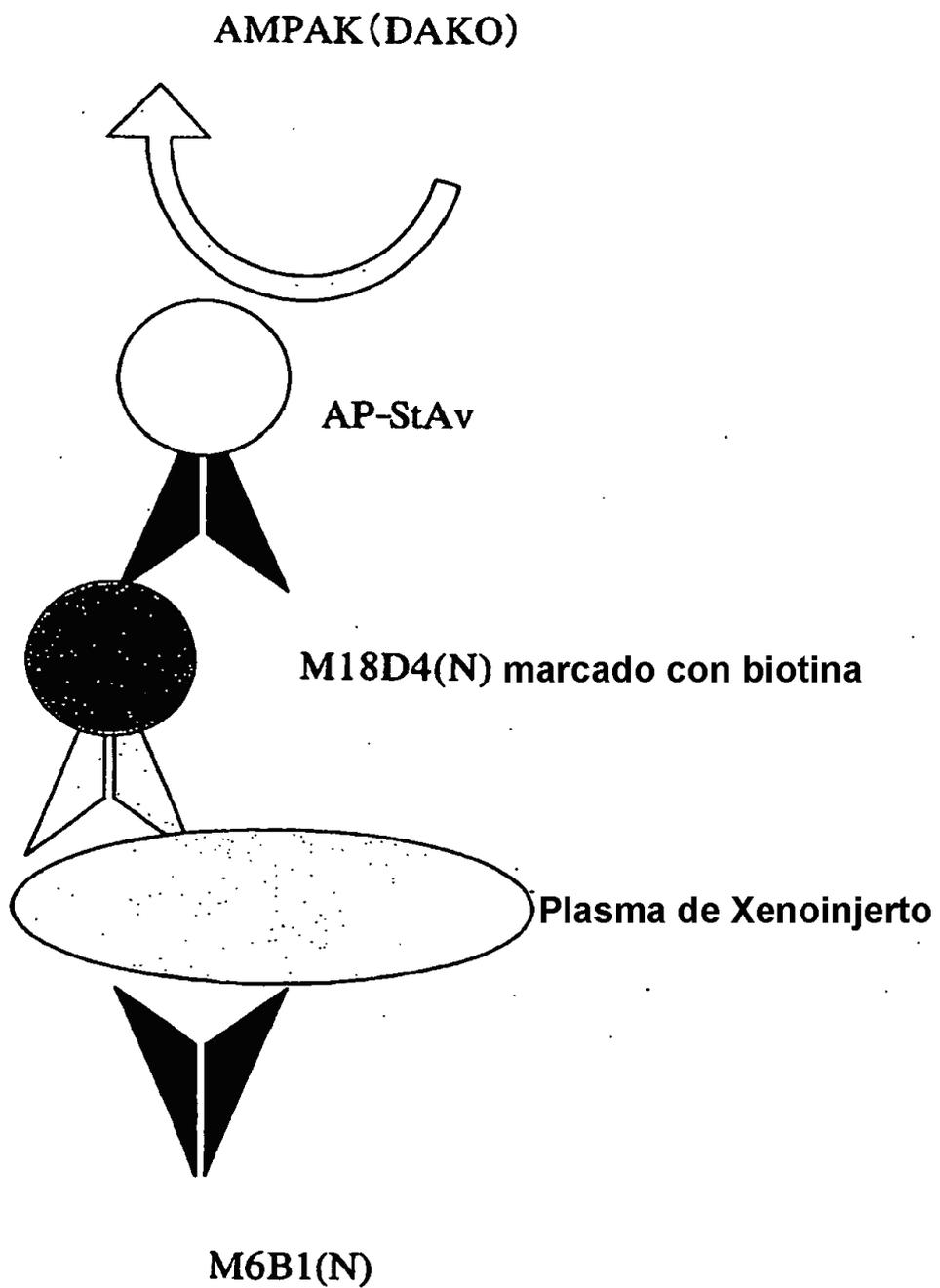


Fig. 6

ELISA Sándwich
M6B1-M18D4(Bio)

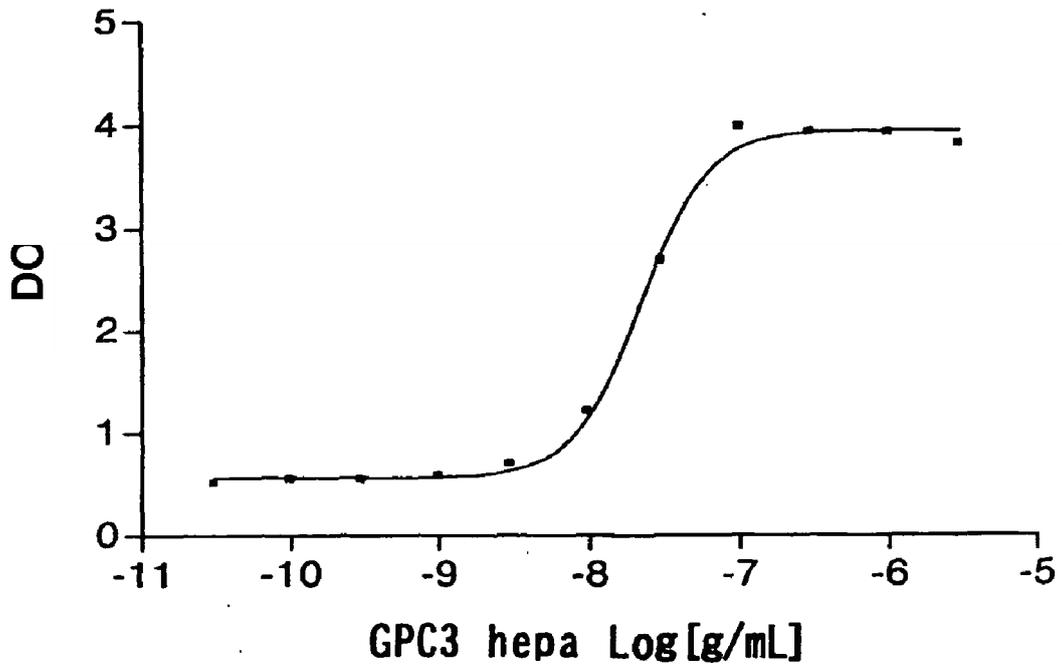
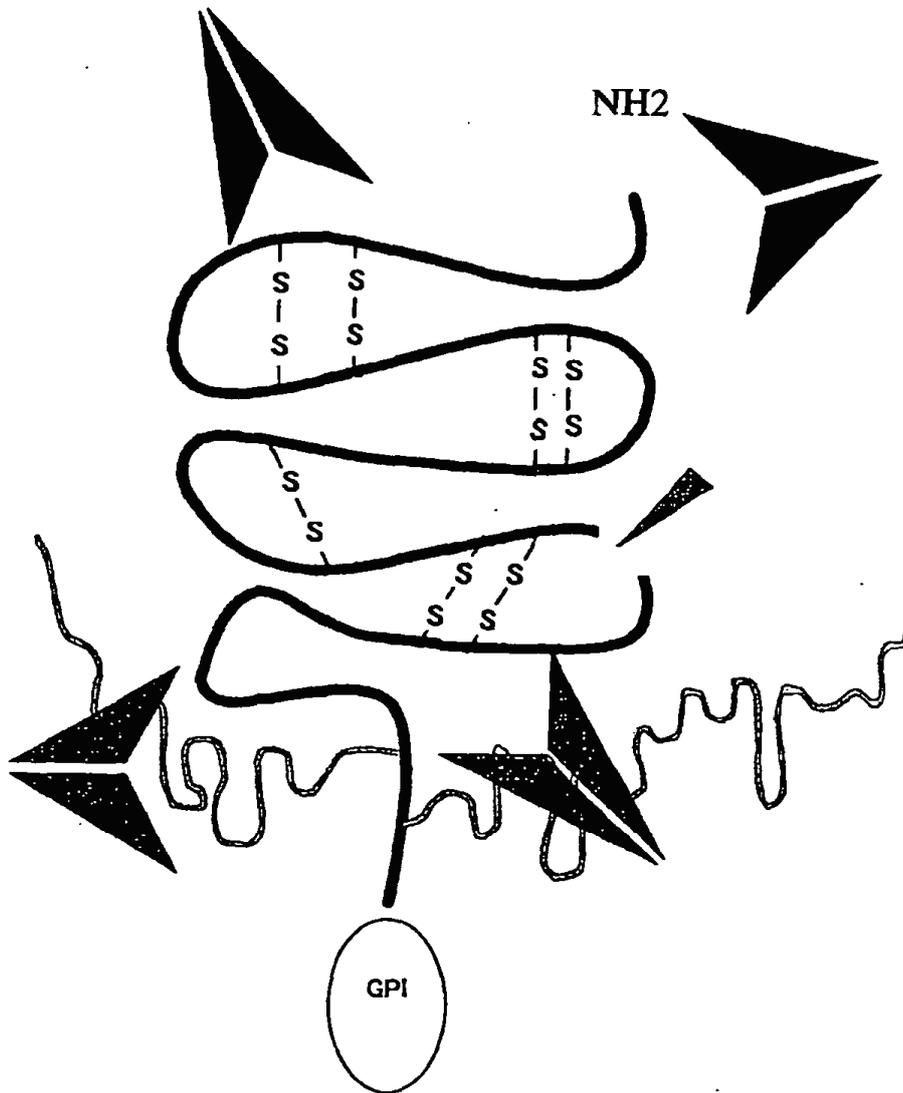


Fig. 7

Anticuerpo que reconoce el N-terminal



Anticuerpo que reconoce el C-terminal

Fig. 8

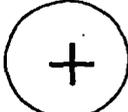
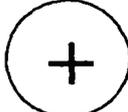
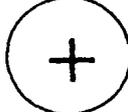
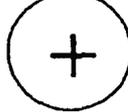
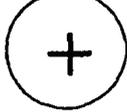
	Forma de GPC3 soluble		
	Extremo N solo	N+C	Extremo C solo
N-N ELISA			—
N-C ELISA	—		—
C-C ELISA	—		

Fig. 9

ELISA sándwich

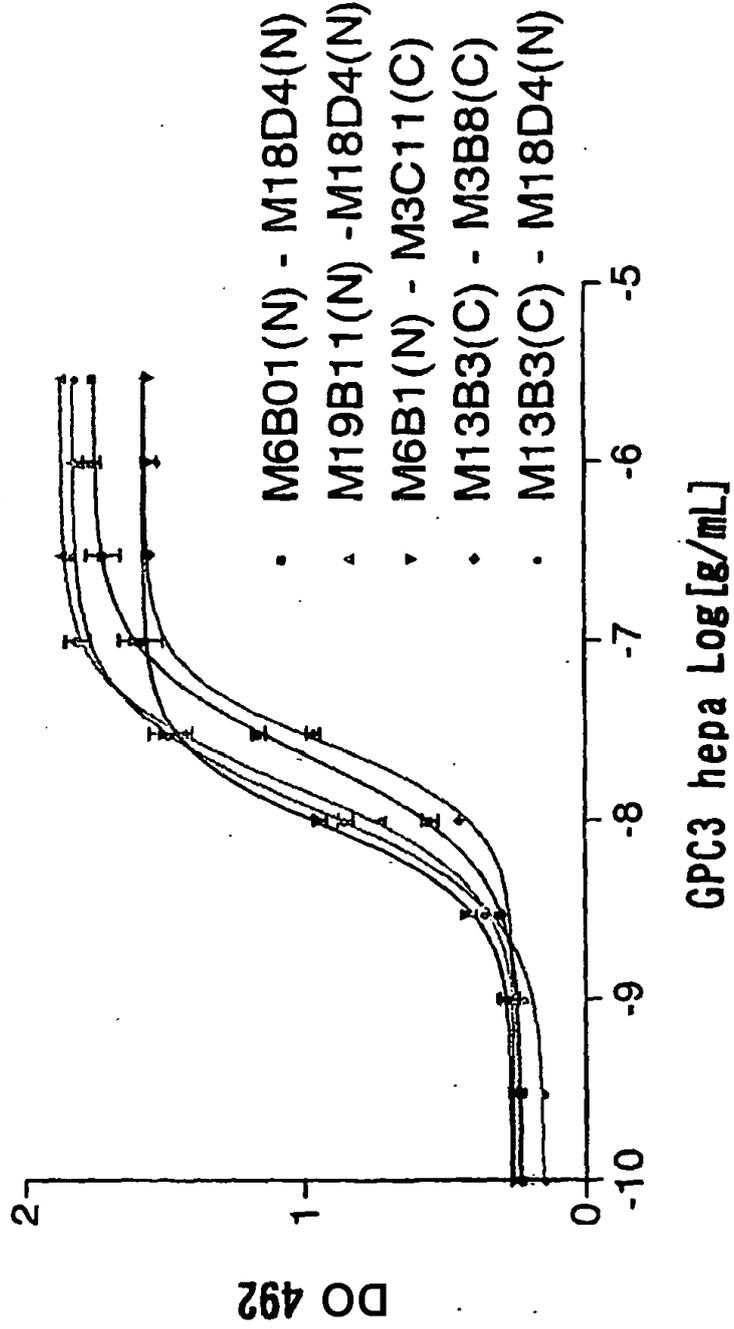


Fig. 10

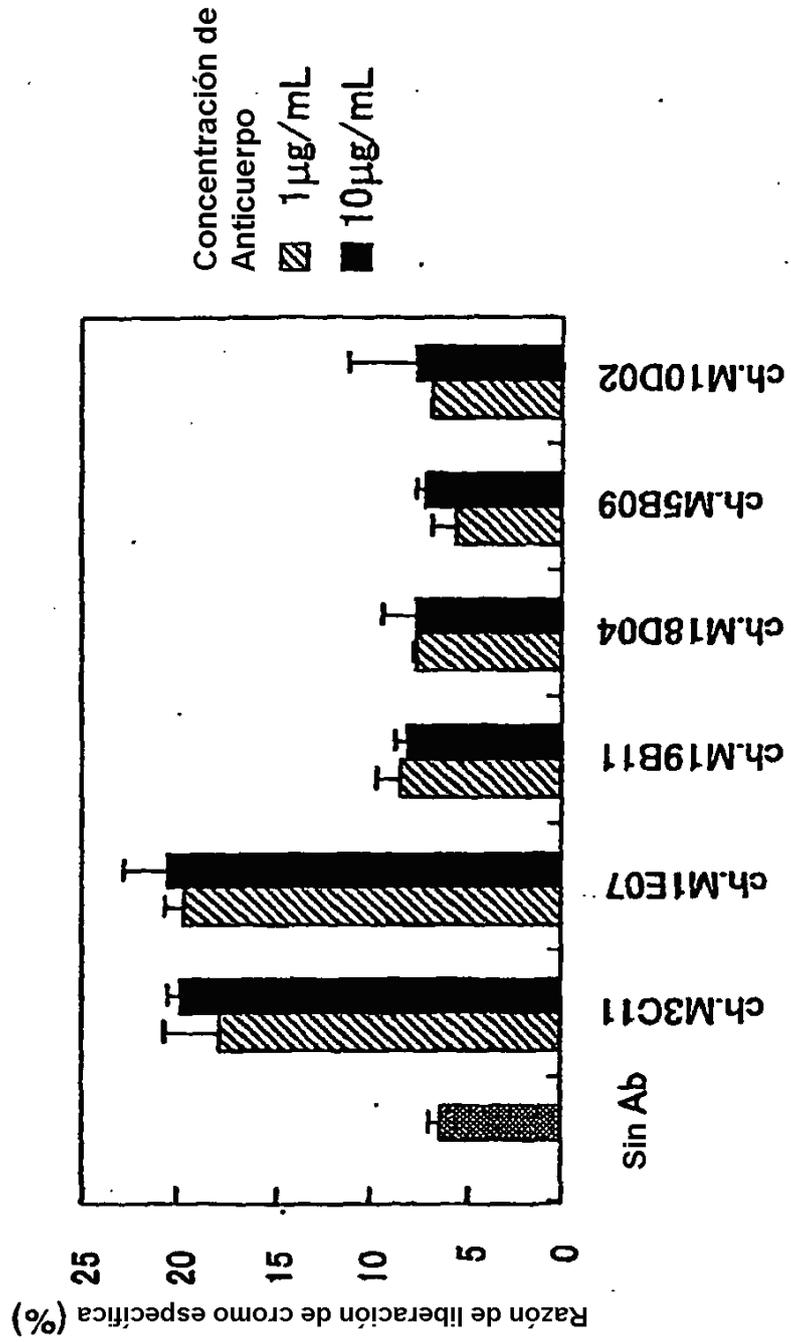


Fig. 11

