

OZET

c-MET ANTİKORLARI

c-Met'e bağlanan ve aktivitesini inhibe eden ve kanserlerin ve patogeneze c-Met'in aracılık ettiği başka hastalıkların veya rahatsızlıkların tedavisinde etkili olan monoklonal antikorlar, bunların antijen bağlayıcı fragmanları ve bunların kombinasyonları sunulmaktadır.

İSTEMLER

1. c-Met'in aracılık ettiği kanserlerin tedavisinde kullanım için bir c-Met monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, üç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (LCDR) ve üç ağır zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (HCDR) içerir, burada LCDR1 SVSSSVSSIY^{LH} amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 53) içerir, LCDR2 STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 54) içerir, LCDR3 QVYSGYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 56) içerir, HCDR1 GYTFTDY^{YMH} amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 65) içerir, HCDR2 RVNPNRRGTTY^{NQKFEG} amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 68) içerir ve HCDR3 ANWLDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 69) içerir.
2. İstem 1'e uygun kullanım için, bir monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, burada c-Met geni aşırı eksprese edilir, amplifiye edilir ve/veya mutasyondan geçirilir.
3. İstem 1 veya istem 2'ye uygun kullanım için, bir monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, burada c-Met geni amplifiye edilir.
4. İstem 1 ile 3'ün herhangi birine uygun kullanım için, bir monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, meme, karaciğer, baş ve boyun, melanom, beyin, kolorektal, kolon, gastrik, böbrek, yemek borusu, prostat, akciğer, küçük hücreli olmayan akciğer (NSCL) ve mide kanserlerinin tedavisinde kullanıma yöneliktir.
5. İstem 1 ile 4'ün herhangi birine uygun kullanım için, bir monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, beşeri c-Met'in α -zinciri içindeki bir epitopu bağlar ve hücre yüzeyi beşeri c-Met'in içselleştirilmesine yol açar.
6. İstem 1 ile 5'in herhangi birine uygun kullanım için, bir monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, hücre yüzeyi beşeri c-Met'in hepatosit büyüme faktöründen (HGF) bağımsız olarak içselleştirilmesine yol açar.
7. İstem 1 ile 6'nın herhangi birine uygun kullanım için, bir monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, burada monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı aşağıdakiler arasından seçilen bir amino asit dizisi içinde bağlanır:
 - a) ¹²¹VVD^{TY}YDDQL¹³⁰ (DİZİ İD NO:77),
 - b) ¹³¹ISCGSVNRGTCQRHVFP^{HNHTADIQS}₁₅₆ (DİZİ İD NO:78),

- c) ¹⁷⁹ALGAKVLSSVKDRFINF₁₉₅ (DİZİ İD NO:79) ve
d) ²¹⁶VRRLKETKDGFM₂₂₇ (DİZİ İD NO:80).

8. İstem 1 ila 7'nin herhangi birine uygun kullanım için, monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, burada antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı aşağıdakiler arasından seçilen bir amino asit dizisi içinde bağlanır:

- a. ¹²³DTYYDD₁₂₈ (DİZİ İD NO:81),
b. ¹⁴⁴HVFPHNHTADIQS₁₅₆ (DİZİ İD NO: 82),
c. ¹⁹²FINF₁₉₅ (DİZİ İD NO:83) ve
d. ²²⁰KETKDGFM₂₂₇ (DİZİ İD NO:84).

9. İstem 1 ila 8'in herhangi birine uygun kullanım için, bir monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, burada monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı kendileri de dâhil olmak üzere ¹²³DTYYDD₁₂₈(DİZİ İD NO:81), ¹⁴⁴HVFPHNHTADIQS₁₅₆ (DİZİ İD NO: 82), ¹⁹²FINF₁₉₅(DİZİ İD NO:83) ve ²²⁰KETKDGFM₂₂₇ (DİZİ İD NO:84) ile karakterize edilen konformasyonel epitop içindeki bir amino asit dizisini bağlar.

10. Yukarıdaki istemlerin herhangi birine uygun kullanım için bir monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, bir hafif zincir değişken bölgesi (LCVR) ve bir ağır zincir değişken bölgesi (HCVR) içerir, burada LCVR DİZİ İD NO:5'in amino asit dizisini içerir ve HCVR DİZİ İD NO:17'nin amino asit dizisini içerir.

11. İstem 1 ila 10'un herhangi birine uygun kullanım için bir monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, bir kappa sabit bölgesine sahip bir hafif zincir ve bir IgG4 ağır zincir sabit bölgesine sahip bir ağır zincir içerir.

12. İstem 1 ila 11'in herhangi birine uygun kullanım için bir monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, DİZİ İD NO:35'in polinükleotit dizisi tarafından kodlanan bir hafif zincir ve DİZİ İD NO:47'nin polinükleotit dizisi tarafından kodlanan bir ağır zincir içerir.

13. İstem 1 ila 12'nin herhangi birine uygun kullanım için bir monoklonal antikor olup, DİZİ İD NO:35'in polinükleotit dizisi tarafından kodlanan iki hafif zincir ve DİZİ İD NO:47'nin polinükleotit dizisi tarafından kodlanan iki ağır zincir içerir.

14. İstem 1 ila 13'ün herhangi birine uygun kullanım için bir monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, burada hafif zincirin amino asit dizisi DİZİ İD

NO:35'in polinükleotit dizisi tarafından kodlanan amino asit dizisine özdeştir ve ağır zincirin amino asit dizisi DİZİ İD NO:47 tarafından kodlanan amino asit dizisine özdeştir.

15. İstem 1 ila 14'ün herhangi birine uygun kullanım için bir monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, iki hafif zincir ve iki ağır zincir içerir, burada hafif zincirin amino asit dizisi DİZİ İD NO:35'in polinükleotit dizisi tarafından kodlanan amino asit dizisine özdeştir ve ağır zincirin amino asit dizisi DİZİ İD NO:47 tarafından kodlanan amino asit dizisine özdeştir.

16. İstem 1 ila 15'in herhangi birine uygun kullanım için bir monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, DİZİ İD NO:29'un amino asit dizisine sahip bir hafif zincir ve bir IgG4 ağır zincir sabit bölgesine sahip bir ağır zincir içerir.

17. İstem 1 ila 16'nın herhangi birine uygun kullanım için bir monoklonal antikor olup, DİZİ İD NO:29'un amino asit dizisine sahip iki hafif zincir ve bir IgG4 ağır zincir sabit bölgesine sahip iki ağır zincir içerir.

18. Yukarıdaki istemlerin herhangi birine uygun kullanım için monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanını ve farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcı, seyreltici veya eksipiyan içeren bir farmasötik bileşim.

19. Bir insanda karaciğer kanserinin tedavisinde kullanım için bir c-Met monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, üç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (LCDR) ve üç ağır zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (HCDR) içerir, burada LCDR1 SVSSSVSSIY LH amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 53) içerir, LCDR2 STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 54) içerir, LCDR3 QVYSGYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 56) içerir, HCDR1 GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 65) içerir, HCDR2 RVNPNRRGTTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 68) içerir ve HCDR3 ANWLDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 69) içerir.

TARİFNAME

c-MET ANTİKORLARI

Açıklama

Bu buluş c-Met'i bağlayan antikorlara ve bunların patojeneze bu reseptörün aracılık ettiği hastalıkların ve rahatsızlıkların tedavisinde kullanımına ilişkindir.

Tirozin kinaz süper familyasının bir üyesi olan c-Met, Hepatosit Büyüme Faktörü (HGF) reseptörüdür. HGF'nin c-Met'e bağlanması, reseptör dimerizasyonuna veya multimerizasyonuna, hücre içi bölgede birden fazla tirozin kalıntısının fosforilasyonuna, katalitik aktivasyona ve akış aşağı sinyallere yol açar. c-Met reseptör aşırı ekspresyonu, amplifikasyonu ve mutasyonu da dâhil olmak üzere liganddan bağımsız mekanizmalar vasıtasıyla da aktive olur. c-Met aktivasyonu hücre proliferasyonu, migrasyonu, morfogenezi, hayatta kalımı (apoptozdan korunma da dâhil) ve proteaz sentezini artırır, bunlar kanser hastalarında invazif hücre fenotipiyle ve kötü klinik sonuçlar ve ilaç direnciyle ilişkilidir. c-Met sinyal yolu insanlardaki kanserlerde en sık bozulan yollardan biridir ve katı tümörlerin hemen hemen bütün tiplerinde görülür.

Uluslararası Başvuru Yayını WO 09/007427'de murin ve CDR-greftli, beşeri özellikler verilmiş c-Met antikorları açıklanmaktadır. Orada açıklanan murin antikoru 224G11 c-Met Sema alanını bağlamadı. Ayrıca h224G11 Mab olarak adlandırılan bu murin antikorunun beşeri özellikler verilmiş IgG1 türevinin diğer işlevsel özellikleri Özet no. 835 (in vitro veriler) ve 2792'de (in vivo veriler) ve bunlara eşlik eden, Nisan 2009'da American Association for Cancer Research (Denver, CO) toplantısında sunulan posterlerinde bildirilmektedir. Bu özetlerde ve posterlerde iki değerlikli h224G11 Mab'nin içsel agonistik özelliklerden yoksun olduğu, tam bir c-Met antagonisti olarak hareket ettiği ve c-Met dimerizasyonunu güçlü bir şekilde azalttığı açıklanmaktadır. Murin 224G11'in in vivo c-Met'i azalttığı ve c-Met fosforilasyonunu bloke ettiği bildirilmektedir. Başka reseptörler söz konusu olduğunda, dimerizasyon reseptörün içselleştirilmesi ve bozunması için bir ön koşuldur. Bu özetler ve posterlerde c-Met'in içselleştirilmesine ilişkin hiçbir veri açıklanmamaktadır. Ayrıca, beşeri özellikler verilmiş antikorun c-Met içinde bağlandığı epitop belirlenmemiştir.

Uluslararası Başvuru Yayını WO 05/016382'de de c-Met antikorları açıklanmakta, ama antikorların bağlandığı epitop(lar) belirtilmemektedir. Bir epitop haritalama örneği

sunulmaktadır, ancak bildirilen sonuçlar sadece altı c-Met antikorunun bir ortak epitopa bağlandığına, yedinci bir c-Met antikorunun ise farklı bir epitopa bağlandığına işaret etmektedir. Bu c-Met antikorlarının bağlandığı özel epitoplar verilmemektedir.

- Beşeri c-Met'in α zincirine bağlanması, HGF'nin varlığında ve/veya yokluğunda, reseptörün hücre yüzeyinden içselleştirilmesini kolaylaştıran, beşeri c-Met'e bağlanan antagonist antikorlara ihtiyaç vardır. Ayrıca beşeri c-Met'in α zincirine bağlanması, işlev mutasyonları kazancının olduğu c-Met varyantları içeren hücrelerde hücre yüzeyinden reseptörün içselleştirilmesini kolaylaştıran beşeri c-Met'e yönelik antagonist antikorlara ihtiyaç vardır. Öte yandan c-Met bozunmasına ve fosforillenmiş c-Met'in azalmasına yol açan beşeri c-Met'e yönelik antagonist antikorlara ihtiyaç vardır. Bu antagonist aktiviteler tümör hücre yüzeyleri üzerinde HGF için var olan bağlanma yerlerinin sayısını azaltabilir ve c-Met aşırı ekspresyonu, amplifikasyonu veya mutasyonunun neden olduğu yol aktivasyonunu sona erdirebilir. Aynı zamanda, bu antagonist antikorların HGF'nin c-Met'e bağlanmasını ve HGF uyarımlı c-Met aktivasyonunu inhibe etmesi ve bizzat agonist aktiviteye yol açmaması veya az yol açması gerekir.

- Bu buluşun antikor bileşikleri bu ihtiyaçları karşılamaktadır. Bunlar beşeri c-Met Sema alanının α zincirindeki epitoplara bağlanarak, HGF'nin c-Met'e bağlanmasını ve reseptör aktivasyonunu, az agonist aktiviteye yol açarak veya hiç yol açmadan inhibe etmektedir. Ayrıca bu buluşun antikorları HGF'nin varlığında veya yokluğunda ve ayrıca işlev mutasyonları kazancı içeren c-Met varyantlarının bulunduğu hücrelerde reseptörün içselleştirilmesine yol açmaktadır. Bunlar c-Met'in bozunmasına yol açmakta ve fosforillenmiş beşeri c-Met'in azalmasına yol açmakta ve bu reseptörü eksprese eden tümör hücrelerinin HGF'ye bağımlı ve HGF'den bağımsız proliferasyonunu inhibe etmektedir. Bu özelliklerin ışığında, bu antikor bileşikleri çeşitli farklı mekanizmalar vasıtasıyla c-Met'in aracılık ettiği kanserlerin tedavi edilmesinde terapötik olarak yararlı olacaktır.

- Ayrıca, buradaki antikor bileşikleri bir dizi başka istenen özelliğe sahiptir. Bunlar c-Met için yüksek afinite (K_D) gösterir, HGF dolayımı c-Met fosforilasyonunu ve akış aşağı sinyalleri, hücre proliferasyonu ve hücre göçünü bloke eder; ve tümör hücresi proliferasyonu, motilitesi, yayılması (invasion), tübülogenez, anjiyogenez veya antiapoptotik etkilerin uyarılması gibi HGF'ye benzer biyolojik agonist aktivitelere az yol açar veya hiç yol açmazken sadece zayıf c-Met fosforilasyonuna yol açar. Bunlar hem

liganda (HGF) bağımlı hem de liganddan bağımsız c-Met yolu aktivasyonunu inhibe ederler. Ayrıca, bu buluşun antikör bileşikleri tercihi olarak yakından ilişkili reseptörler RON ve PlexinA2'nin ECD'leriyle karşılaştırıldığında beşeri c-Met hücre dışı alanını (ECD) bağlar ve c-Met ECD'nin "dökülmesine" neden olmaz.

5 Buluşun konusu istemlerle tanımlanmaktadır

Bu buluşun ilk yönüne göre, c-Met'in aracılık ettiği kanserlerin tedavisinde kullanım için, üç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (LCDR) ve üç ağır zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (HCDR) içeren bir c-Met monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı sunulmakta olup, burada LCDR1 SVSSSVSSIYLYH amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 53) içerir, LCDR2 STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 54) içerir, LCDR3 QVYSGYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 56) içerir, HCDR1 GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 65) içerir, HCDR2 RVNPNRRGTTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 68) içerir ve HCDR3 ANWLDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 69) içerir.

15 Tercihen, c-Met geni aşırı eksprese edilir, amplifiye edilir ve/veya mutasyondan geçirilir. Daha tercihen c-Met geni amplifiye edilir.

Bu buluşun monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı tercihen meme, karaciğer, baş ve boyun, melanom, beyin, kolorektal, kolon, gastrik, böbrek, yemek borusu, prostat, akciğer, küçük hücreli olmayan akciğer (NSCL) ve mide kanserlerinin tedavisinde kullanım içindir.

Bu buluşa uygun kullanım için monoklonal antikör veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı tercihen, beşeri c-Met'in α -zinciri içindeki bir epitopu bağlar ve hücre yüzeyi beşeri c-Met'in içselleştirilmesine yol açar. Daha tercihen hücre yüzeyi beşeri c-Met'in hepatosit büyüme faktöründen (HGF) bağımsız olarak içselleştirilmesine yol açar.

25 Tercihen bu buluşa uygun kullanım için monoklonal antikör veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı, aşağıdakiler arasından seçilen bir amino asit dizisi içinde bağlanır:

- a) ¹²¹VVDTTYDDQL₁₃₀ (DİZİ İD NO:77),
- b) ¹³¹ISCGSVNRGTCQRHVFPNHTADIQS₁₅₆ (DİZİ İD NO:78),
- c) ¹⁷⁹ALGAKVLSSVKDRFINF₁₉₅ (DİZİ İD NO:79) ve
- d) ²¹⁶VRRLKETKDGFM₂₂₇ (DİZİ İD NO:80).

Daha tercihen aşağıdakiler arasından seçilen bir amino asit dizisi içinde bağlanır:

- a. ¹²³DTYYDD₁₂₈ (DİZİ İD NO:81),
- b. ¹⁴⁴HVFPNHTADIQS₁₅₆ (DİZİ İD NO: 82),
- c. ¹⁹²FINF₁₉₅ (DİZİ İD NO:83) ve
- d. ²²⁰KETKDGFM₂₂₇ (DİZİ İD NO:84).

5 Daha da tercihen, kendileri de dâhil olmak üzere ¹²³DTYYDD₁₂₈ (DİZİ İD NO:81), ¹⁴⁴HVFPNHTADIQS₁₅₆ (DİZİ İD NO: 82), ¹⁹²FINF₁₉₅ (DİZİ İD NO:83) ve ²²⁰KETKDGFM₂₂₇ (DİZİ İD NO:84) ile karakterize edilen konformasyonel epitop içindeki bir amino asit dizisini bağlar.

Tercihen, bu buluşa uygun kullanım için monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı
10 fragmanı bir hafif zincir değişken bölgesi (LCVR) ve bir ağır zincir değişken bölgesi (HCVR) içerir, burada LCVR DİZİ İD NO: 5'in amino asit dizisini içerir ve HCVR DİZİ İD NO: 17'nin amino asit dizisini içerir.

Bu buluşa uygun kullanım için monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı,
tercihen bir kappa sabit bölgesine sahip bir hafif zincir ve bir IgG4 ağır zincir sabit
15 bölgesine sahip bir ağır zincir içerir.

Tercihen bu buluşa uygun kullanım için monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı DİZİ İD NO: 35'in polinükleotit dizisi tarafından kodlanan bir hafif zincir ve DİZİ İD NO: 47'nin polinükleotit dizisi tarafından kodlanan bir ağır zincir içerir.

Daha tercihen DİZİ İD NO: 35'in polinükleotit dizisi tarafından kodlanan iki hafif zincir
20 ve DİZİ İD NO: 47'nin polinükleotit dizisi tarafından kodlanan iki ağır zincir içerir.

Daha da tercihen, DİZİ İD NO: 35'in polinükleotit dizisi tarafından kodlanan amino asit dizisiyle özdeş olan hafif zincirin bir amino asit dizisini ve DİZİ İD NO: 47 tarafından kodlanan amino asit dizisine özdeş olan ağır zincirin bir amino asit dizisini içerir.

Bu buluşa uygun kullanım için monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı,
25 tercihen iki hafif zincir ve iki ağır zincir içerir, burada hafif zincirin amino asidi DİZİ İD NO: 35'in polinükleotit dizisiyle kodlanan amino asit dizisiyle özdeştir ve ağır zincirin amino asit dizisi DİZİ İD NO: 47'yle kodlanan amino asit dizisiyle özdeştir.

Tercihen, DİZİ İD NO: 29'un amino asit dizisine sahip bir hafif zincir ve bir IgG4 ağır zincir sabit bölgesine sahip bir ağır zincir içerir.

30 Daha tercihen, DİZİ İD NO: 29'un amino asit dizisine sahip iki hafif zincir ve bir IgG4 ağır zincir sabit bölgesine sahip iki ağır zincir içerir.

Bu buluşun ikinci bir yönüne göre, bu buluşa uygun kullanım için monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanını ve farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcı, seyreltici veya ekspiyan içeren bir farmasötik bileşim sunulmaktadır.

- Bu buluşun üçüncü bir yönüne göre, bir insanda karaciğer kanserinin tedavisinde kullanım için üç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (LCDR) ve üç ağır zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (HCDR) içeren bir c-Met monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı sunulmakta olup, burada LCDR1 SVSSSVSSIYLYH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:53) içerir, LCDR2 STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 54) içerir, LCDR3 QVYSGYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 56) içerir, HCDR1 GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 65) içerir, HCDR2 RVNPNRRGTTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 68) içerir ve HCDR3 ANWLDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO: 69) içerir.

Dolayısıyla bu buluş aşağıdakileri sunmaktadır:

- a) beşeri c-Met'in α zinciri içindeki bir epitopu bağlayan ve
- b) hücre yüzeyi beşeri c-Met'in içselleştirilmesine yol açan bir monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı.

- Yukarıdaki antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı hücre yüzeyi beşeri c-Met'in hepatosit büyüme faktöründen bağımsız olarak içselleştirilmesine yol açar. Tercih edilen bir düzenlemede, monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir DİZİ İD NO: 28'in amino asit dizisini içerir ve ağır zincir DİZİ İD NO: 40'ın amino asit dizisini içerir. Tercih edilen başka bir düzenlemede, monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir DİZİ İD NO: 29'un amino asit dizisini içerir ve ağır zincir DİZİ İD NO: 41'in amino asit dizisini içerir.

- Yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, bir işlev mutasyonu kazancı içeren bir beşeri c-Met varyantını haiz hücrelerde beşeri c-Met'in içselleştirilmesine yol açar. İşlev mutasyonu kazancı c-Met kinaz alanı mutasyonu M1149T veya membran yanı alanı mutasyonu R988C olabilir.
- Yukarıdaki antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı hücrelerde hücre yüzeyi beşeri c-

Met'in en az %40 oranında içselleştirilmesine yol açar. Yukarıdaki antikörlerin veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada antikör veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı hücrelerde hücre yüzeyi beşeri c-Met'in en az %45 oranında içselleştirilmesine yol açar. Yukarıdaki antikörlerin veya bunların antijen bağlayıcı

- 5 fragmanlarının herhangi biri olup, burada antikör veya antijen bağlayıcı fragmanı hücrelerde hücre yüzeyi beşeri c-Met'in en az %50 oranında içselleştirilmesine yol açar. Yukarıdaki antikörlerin veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada antikör veya antijen bağlayıcı fragmanı hücrelerde hücre yüzeyi beşeri c-Met'in en az %55 oranında içselleştirilmesine yol açar. Yukarıdaki antikörlerin veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada antikör veya antijen bağlayıcı fragmanı hücrelerde hücre yüzeyi beşeri c-Met'in en az %60 oranında içselleştirilmesine yol açar. Yukarıdaki antikörlerin veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada antikör veya antijen bağlayıcı fragmanı hücrelerde hücre yüzeyi beşeri c-Met'in en az %65 oranında içselleştirilmesine yol açar. Yukarıdaki antikörlerin veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada antikör veya antijen bağlayıcı fragmanı hücrelerde hücre yüzeyi beşeri c-Met'in en az %70 oranında içselleştirilmesine yol açar.

- Hepatosit büyüme faktöründen bağımsız tümör hücrelerinde total c-Met'in azalmasına yol açan yukarıdaki monoklonal antikörlerin veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri. Tercih edilen bir düzenlemede, hepatosit büyüme faktöründen bağımsız tümör hücrelerinde total c-Met'in azalmasına yol açan monoklonal antikör veya bunun antikör bağlayıcı fragmanı bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir DİZİ İD NO: 28'in amino asit dizisini içerir ve ağır zincir DİZİ İD NO: 40'in amino asit dizisini içerir. Tercih edilen başka bir düzenlemede, hepatosit büyüme faktöründen bağımsız tümör hücrelerinde total c-Met'in azalmasına yol açan monoklonal antikör veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir DİZİ İD NO: 29'un amino asit dizisini içerir ve ağır zincir DİZİ İD NO: 41'in amino asit dizisini içerir.

- Hepatosit büyüme faktöründen bağımsız tümör hücrelerinde fosforillenmiş c-Met'in azalmasına yol açan yukarıdaki monoklonal antikörlerin veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri.

- 30 DİZİ İD NO:28'de gösterilen amino asit dizisine sahip bir hafif zincir ve DİZİ İD NO:40'ta gösterilen amino asit dizisine sahip bir ağır zincir içeren bir antikörle esas itibarıyla aynı epitopta beşeri c-Met'in α zincirini bağlayan veya DİZİ İD NO:29'da

gösterilen amino asit dizisine sahip bir hafif zincir ve DİZİ İD NO:41'de gösterilen amino asit dizisine sahip bir ağır zincir içeren bir antikörle esas itibarıyla aynı epitopte beşeri c-Met'in α zincirini bağlayan, yukarıdaki monoklonal antikörlerin veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri.

- 5 DİZİ İD NO:26'da gösterilen amino asit dizisine sahip bir hafif zincir ve DİZİ İD NO:38'de gösterilen amino asit dizisine sahip bir ağır zincir içerenler hariç olmak üzere, yukarıdaki monoklonal antikörlerin veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada epitop kendileri de dâhil olmak üzere ¹⁴⁴HVFPNHTADIQS₁₅₆ (DİZİ İD NO: 82) içindeki bir veya daha fazla amino asit kalıntısını içerir.

- 10 Yukarıdaki antikörler veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada epitop ayrıca kendileri de dâhil olmak üzere ¹²³DTYYDD₁₂₈ (DİZİ İD NO:81) içindeki bir veya daha fazla amino asit kalıntısını içerir.

Yukarıdaki antikörler veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada epitop ayrıca kendileri de dâhil olmak üzere ¹⁹²FINF₁₉₅ (DİZİ İD NO:83) içindeki

- 15 bir veya daha fazla amino asit kalıntısını içerir.

Yukarıdaki antikörler veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada epitop ayrıca kendileri de dâhil olmak üzere ²²⁰KETKDGFM₂₂₇ (DİZİ İD NO:84) içindeki bir veya daha fazla amino asit kalıntısını içerir.

Yukarıdaki antikörler veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup,

- 20 burada antikör aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen bir amino asit dizisi içinde bağlanır:

- a) ¹²¹VVDYYDDQL₁₃₀ (DİZİ İD NO:77),
- b) ¹³¹ISCGSVNRGTCQRHVFPNHTADIQS₁₅₆ (DİZİ İD NO:78),
- c) ¹⁷⁹ALGAKVLSSVKDRFINF₁₉₅ (DİZİ İD NO:79) ve
- d) ²¹⁶VRRLKETKDGFM₂₂₇ (DİZİ İD NO:80) (kendileri de dâhil).

- 25 Yukarıdaki antikörler veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada antikör aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen bir amino asit dizisi içinde bağlanır:

- a) ¹²³DTYYDD₁₂₈ (DİZİ İD NO:81),
- b) ¹⁴⁴HVFPNHTADIQS₁₅₆ (DİZİ İD NO:82),
- c) ¹⁹²FINF₁₉₅ (DİZİ İD NO:83) ve

- 30 d) ²²⁰KETKDGFM₂₂₇ (DİZİ İD NO:84) (kendileri de dâhil).

Kendileri de dâhil olmak üzere₁₂₁VVDTTYDDQL₁₃₀ (DİZİ İD NO:77),
₁₃₁ISCGSVNRGTCQRHVFPNHTADIQS₁₅₆ (DİZİ İD NO:78),
₁₇₉ALGAKVLSSVKDRFINF₁₉₅ (DİZİ İD NO:79) ve ₂₁₆VRRLKETKDGFM₂₂₇ (DİZİ İD
 NO:80) ile karakterize edilen epitop içindeki bir amino asit dizisine bağlanan yukarıdaki
 5 monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri.

Kendileri de dâhil olmak üzere₁₂₃DTYYDD₁₂₈ (DİZİ İD NO:81),
₁₄₄HVFPNHTADIQS₁₅₆ (DİZİ İD NO: 82), ₁₉₂FINF₁₉₅ (DİZİ İD NO:83)
 ve ₂₂₀KETKDGFM₂₂₇ (DİZİ İD NO:84) ile karakterize edilen epitop içindeki bir amino asi
 dizisine bağlanan yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı
 10 fragmanlarının herhangi biri.

Kendileri de dâhil olmak üzere₉₅CFPCQDCSSKA₁₀₅'in (DİZİ İD NO: 86) bir amino asit
 dizisi içinde bağlanan yukarıdaki antikorların veya bunların antijen bağlayıcı
 fragmanlarının herhangi biri.

DİZİ İD NO:29'da gösterilen amino asit dizisine sahip bir hafif zincir ve DİZİ İD

15 NO:41'de gösterilen amino asit dizisine sahip bir ağır zincir içerenler hariç olmak üzere
 yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının
 herhangi biri olup, burada epitop kendileri de dâhil olmak üzere
₉₅CFPCQDCSSKA₁₀₅ (DİZİ İD NO: 86) içindeki bir veya daha fazla amino asit kalıntısını
 içerir.

20 Üç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (LCDR) ve üç ağır zincir tamamlayıcılık
 belirleme bölgesi (HCDR) içeren, beşeri c-Met'i bağlayan, yukarıdaki monoklonal
 antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup,
 burada sözü edilen üç LCDR ve sözü edilen üç HCDR aşağıdakilerden oluşan gruptan
 seçilir:

25 a) SVSSSISSTNLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:49) içeren LCDR1;
 GTSX₁LX₂S amino asit dizisini (DİZİ İD NO:87) içeren LCDR2, burada X₁ Y veya R'dir
 ve X₂ A veya R'dir;
 QQWSSYPYS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:51) içeren LCDR3;
 GYTFTSRYIH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:59) içeren HCDR1;
 30 WIYPVTGDTYYX₇EX₈FKG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:90) içeren HCDR2, burada
 X₇ N, I veya R'dir ve X₈ K veya P'dir; ve

GYGAFX₉Y amino asit dizisini (DİZİ İD NO:91) içeren HCDR3, burada X₉ Y veya F'dir; ve

b) SVSSSVX₃SIYLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:88) içeren LCDR1, burada X₃ S veya R'dir;

5 STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:54) içeren LCDR2;

X₄X₅YX₆GYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO:89) içeren LCDR3, burada X₄ I veya Q'dur, X₅ Q veya V'dir ve X₆ S veya R'dir;

GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:65) içeren HCDR1;

RVNPX₁₀RX₁₁X₁₂TTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:92) içeren HCDR2,

10 burada X₁₀ N veya Y'dir, X₁₁ G veya R'dir ve X₁₂ G veya S'dir; ve

X₁₃NX₁₄LDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:93) içeren HCDR3, burada X₁₃ T veya A'dır ve X₁₄ W veya I'dir;

burada sözü edilen monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı beşeri c-Met'in α zinciri içindeki bir epitopu bağlar ve hücre yüzeyi beşeri c-Met'in

15 içselleştirilmesine yol açar.

Üç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (LCDR) ve üç ağır zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (HCDR) içeren, beşeri c-Met'i bağlayan, yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada antikor üç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (LCDR) ve üç ağır zincir

20 tamamlayıcılık belirleme bölgesi (HCDR) içerir, burada

LCDR1 SVSSSISSTNLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:49) içerir;

LCDR2 GTSX₁LX₂S amino asit dizisini (DİZİ İD NO:87) içerir, burada X₁ Y veya R'dir ve X₂ A veya O'dur;

LCDR3 QQWSSYPYS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:51) içerir;

25 HCDR1 GYTFTSRYYH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:59) içerir;

HCDR2 WIYPVTGDTYYX₇EX₈FKG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:90) içerir, burada X₇ N, I veya R'dir ve X₈ K veya P'dir; ve

HCDR3 GYGAFX₉Y amino asit dizisini (DİZİ İD NO:91) içerir, burada X₉ Y veya F'dir.

Üç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (LCDR) ve üç ağır zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (HCDR) içeren, beşeri c-Met'i bağlayan, yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada

30

LCDR1 SVSSSVX₃SIYLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:88) içerir; burada X₃ S veya R'dir;

LCDR2 STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:54) içerir;

LCDR3 X₄X₅YX₆GYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO:89) içerir, burada X₄ I veya

5 Q'dur, X₅ Q veya V'dir ve X₆ S veya R'dir;

HCDR1 GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:65) içerir;

HCDR2 RVNPX₁₀RX₁₁X₁₂TTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:92) içerir,

burada X₁₀ N veya Y'dir, X₁₁ G veya R'dir ve X₁₂ G veya S'dir; ve

HCDR3 X₁₃NX₁₄LDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:93) içerir, burada X₁₃ T veya A'dır

10 ve X₁₄ W veya I'dir.

Üç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (LCDR) ve üç ağır zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (HCDR) içeren, beşeri c-Met'i bağlayan, yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada sözü edilen üç LCDR ve sözü edilen üç HCDR aşağıdakilerden oluşan gruptan

15 seçilir:

a) SVSSSISSTNLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:49) içeren LCDR1;

GTSYLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:50) içeren LCDR2;

QQWSSYPYS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:51) içeren LCDR3;

GYTFTSRYIH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:59) içeren HCDR1;

20 WIYPVTGDTYYNEKFKG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:60) içeren HCDR2; ve

GYGAFYY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:61) içeren HCDR3;

b) SVSSSISSTNLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:49) içeren LCDR1;

GTSYLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:50) içeren LCDR2;

QQWSSYPYS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:51) içeren LCDR3;

25 GYTFTSRYIH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:59) içeren HCDR1;

WIYPVTGDTYYIEKFKG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:62) içeren HCDR2; ve

GYGAFFY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:63) içeren HCDR3;

c) SVSSSISSTNLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:49) içeren LCDR1;

GTSRLRS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:52) içeren LCDR2;

30 QQWSSYPYS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:51) içeren LCDR3;

GYTFTSRYIH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:59) içeren HCDR1;

WIYPVTGDTYYREPFKG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:64) içeren HCDR2 ve
GYGAFYY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:61) içeren HCDR3;

d) SVSSSVSSIYHL amino asit dizisini (DİZİ İD NO:53) içeren LCDR1;

STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:54) içeren LCDR2;

5 IQYSGYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO:55) içeren LCDR3;

GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:65) içeren HCDR1;

RVNPNRRGGTTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:66) içeren HCDR2 ve

TNWLDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:67) içeren HCDR3;

e) SVSSSVSSIYHL amino asit dizisini (DİZİ İD NO:53) içeren LCDR1;

10 STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:54) içeren LCDR2;

QVYSGYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO:56) içeren LCDR3;

GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:65) içeren HCDR1;

RVNPNRRGGTTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:68) içeren HCDR2; ve

ANWLDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:69) içeren HCDR3; ve

15 f) SVSSSVRSIYHL amino asit dizisini (DİZİ İD NO:57) içeren LCDR1;

STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:54) içeren LCDR2;

QVYRGYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO:58) içeren LCDR3;

GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:65) içeren HCDR1;

HCDR2 RVNPYRGSTTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:70) içeren HCDR2;

20 ve

HCDR3 ANILDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:71) içeren HCDR3; ve

burada sözü edilen monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı sözü edilen

beşeri c-Met'in α zinciri içindeki bir epitopu bağlar ve hücre yüzeyi beşeri c-Met'in

içselleştirilmesine yol açar.

25 Uç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (LCDR) ve üç ağır zincir tamamlayıcılık
belirleme bölgesi (HCDR) içeren yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen
bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup,

burada sözü edilen üç LCDR ve sözü edilen üç HCDR aşağıdakilerden oluşan gruptan
seçilir:

30 a) SVSSSISSTNLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:49) içeren LCDR1;

GTSYLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:50) içeren LCDR2;

QQWSSYPYS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:51) içeren LCDR3;

GYTFTSRYIH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:59) içeren HCDR1;
 WIYPVTGDTYYNEKFKG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:60) içeren HCDR2; ve
 GYGAFYY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:61) içeren HCDR3;

b) SVSSSISSTNLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:49) içeren LCDR1;

- 5 GTSYLAS amino asit dizini (DİZİ İD NO:50) içeren LCDR2;
 QQWSSYPYS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:51) içeren LCDR3;
 GYTFTSRYIH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:59) içeren HCDR1;
 WIYPVTGDTYYIEKFKG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:62) içeren HCDR2; ve
 GYGAFYY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:63) içeren HCDR3;

- 10 c) SVSSSISSTNLH amino asit dizi (DİZİ İD NO:49) içeren LCDR1;
 GTSRLRS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:52) içeren LCDR2;
 QQWSSYPYS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:51) içeren LCDR3;
 GYTFTSRYIH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:59) içeren HCDR1;
 WIYPVTGDTYYREPFGK amino asit dizisini (DİZİ İD NO:64) içeren HCDR2; ve
 15 GYGAFYY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:61) içeren HCDR3.

Üç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (LCDR) ve üç ağır zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (HCDR) içeren yukarıdaki monoklonal antikörlerin veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada sözü edilen üç LCDR ve sözü edilen üç HCDR aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilir:

- 20 a) SVSSSVSSIYHL amino asit dizisini (DİZİ İD NO:53) içeren LCDR1;
 STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:54) içeren LCDR2;
 IQYSGYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO:55) içeren LCDR3;
 GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:65) içeren HCDR1;
 RVNPNRGGTTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:66) içeren HCDR2; ve
 25 TNWLDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:67) içeren HCDR3;

b) SVSSSVSSIYHL amino asit dizisini (DİZİ İD NO:53) içeren LCDR1;

STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:54) içeren LCDR2;
 QVYSGYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO:56) içeren LCDR3;

GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:65) içeren HCDR1;

- 30 RVNPNRRGGTTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:68) içeren HCDR2; ve
 ANWLDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:69) içeren HCDR3; ve

c) SVSSSVRSIYLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:57) içeren LCDR1;

STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:54) içeren LCDR2;

QVYRGYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO:58) içeren LCDR3;

GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:65) içeren HCDR1;

- 5 RVNPNRGSTTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:70) içeren HCDR2; ve
ANILDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:71) içeren HCDR3.

Üç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (LCDR) ve üç ağır zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (HCDR) içeren yukarıdaki monoklonal antikörlerin veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada:

- 10 LCDR1 SVSSSVSSIYLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:53) içerir;
LCDR2 STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:54) içerir;
LCDR3 IQYSGYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO:55) içerir;
HCDR1 GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:65) içerir;
HCDR2 RVNPNRGGTTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:66) içerir; ve
15 HCDR3 TNWLDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:67) içerir.

Üç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (LCDR) ve üç ağır zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (HCDR) içeren yukarıdaki monoklonal antikörlerin veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada:

- LCDR1 SVSSSVSSIYLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:53) içerir;
20 LCDR2 STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:54) içerir;
LCDR3 QVYSGYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO:56) içerir;
HCDR1 GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:65) içerir;
HCDR2 RVNPNRRGGTTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:68); ve
HCDR3 ANWLDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:69) içerir.

- 25 Yukarıdaki monoklonal antikörlerin veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, bir hafif zincir değişken bölgesi (LCVR) ve bir ağır zincir değişken bölgesi (HCVR) içerir, burada sözü edilen LCVR ve sözü edilen HCVR sırasıyla aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen amino asit dizilerini içerir:

a) DİZİ İD NO:94 ve DİZİ İD NO:96; ve

- 30 b) DİZİ İD NO:95 ve DİZİ İD NO:97,

burada sözü edilen monoklonal antikör veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı sözü edilen beşeri c-Met'in α zinciri içinde bir epitopu bağlar ve hücre yüzeyi beşeri c-Met'in içselleştirilmesine yol açar.

- 5 Bir hafif zincir değişken bölgesi (LCVR) ve bir ağır zincir değişken bölgesi (HCVR) içeren, yukarıda sözü edilen monoklonal antikörlerin veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada sözü edilen LCVR DİZİ İD NO:94'ü içerir ve sözü edilen HCVR DİZİ İD NO:96'yı içerir.

- 10 Bir hafif zincir değişken bölgesi (LCVR) ve bir ağır zincir değişken bölgesi (HCVR) içeren yukarıda sözü edilen monoklonal antikörlerin veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada sözü edilen LCVR DİZİ İD NO:95'i içerir ve sözü edilen HCVR DİZİ İD NO:97'yi içerir.

Yukarıdaki monoklonal antikörlerin veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada sözü edilen LCVR ve sözü edilen HCVR aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen amino asit dizilerini içerir:

- 15 a) LCVR DİZİ İD NO: 1'dir ve HCVR DİZİ İD NO:13'tür;
b) LCVR DİZİ İD NO:2'dir ve HCVR DİZİ İD NO:14'tür;
c) LCVR DİZİ İD NO:3'tür ve HCVR DİZİ İD NO: 15'tir;
d) LCVR DİZİ İD NO:4'tür ve HCVR DİZİ İD NO:16'dır;
e) LCVR DİZİ İD NO:5'tir ve HCVR DİZİ İD NO:17'dir; ve
20 f) LCVR DİZİ İD NO:6'dır ve HCVR DİZİ İD NO:18'dir.

Yukarıdaki monoklonal antikörlerin veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada sözü edilen LCVR ve sözü edilen HCVR aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen amino asit dizilerini içerir:

- 25 a) LCVR DİZİ İD NO:1'dir ve HCVR DİZİ İD NO:13'tür;
b) LCVR DİZİ İD NO:2'dir ve HCVR DİZİ İD NO:14'tür; ve
c) LCVR DİZİ İD NO:3'tür ve HCVR DİZİ İD NO:15'tir.

Yukarıdaki monoklonal antikörlerin veya antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada sözü edilen LCVR ve sözü edilen HCVR sırasıyla aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen amino asit dizilerini içerir:

- a) LCVR DİZİ İD NO:4'tür ve HCVR DİZİ İD NO:16'dır;
- b) LCVR DİZİ İD NO:5'tir ve HCVR DİZİ İD NO:17'dir; ve
- c) LCVR DİZİ İD NO:6'dır ve HCVR DİZİ İD NO:18'dir.

Yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının

- 5 herhangi biri olup, burada sözü edilen LCVR DİZİ İD NO: 4'ün amino asit dizisini içerir ve sözü edilen HCVR DİZİ İD NO: 16'nın amino asit dizisini içerir:

Yukarıdaki monoklonal antikorların veya antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri olup, burada sözü edilen LCVR DİZİ İD NO: 5'in amino asit dizisini içerir ve sözü edilen HCVR DİZİ İD NO: 17'nin amino asit dizisini içerir:

- 10 Yukarıdaki monoklonal antikorların herhangi biri olup, burada sözü edilen antikor bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir ve ağır zincir aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen amino asit dizilerini içerir:

- a) hafif zincir DİZİ İD NO:25'tir ve ağır zincir DİZİ İD NO:37'dir;
- b) hafif zincir DİZİ İD NO:26'dır ve ağır zincir DİZİ İD NO:38'dir;
- 15 c) hafif zincir DİZİ İD NO:27'dir ve ağır zincir DİZİ İD NO:39'dur;
- d) hafif zincir DİZİ İD NO:28'dir ve ağır zincir DİZİ İD NO:40'tır;
- e) hafif zincir DİZİ İD NO:29'dur ve ağır zincir DİZİ İD NO:41'dir; ve
- f) hafif zincir DİZİ İD NO:30'dur ve ağır zincir DİZİ İD NO:42'dir.

Yukarıdaki monoklonal antikorların herhangi biri olup, burada sözü edilen antikor bir hafif

- 20 zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir ve ağır zincir aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen amino asit dizilerini içerir:

- a) hafif zincir DİZİ İD NO:25'tir ve ağır zincir DİZİ İD NO:37'dir;
- b) hafif zincir DİZİ İD NO:26'dır ve ağır zincir DİZİ İD NO:38'dir; ve
- c) hafif zincir DİZİ İD NO:27'dir ve ağır zincir DİZİ İD NO:39'dur.

- 25 Yukarıdaki monoklonal antikorların herhangi biri olup, burada sözü edilen antikor bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir ve ağır zincir aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen amino asit dizilerini içerir:

- a) hafif zincir DİZİ İD NO:28'dir ve ağır zincir DİZİ İD NO:40'tır;
- b) hafif zincir DİZİ İD NO:29'dur ve ağır zincir DİZİ İD NO:41'dir; ve
- 30 c) hafif zincir DİZİ İD NO:30'dur ve ağır zincir DİZİ İD NO:42'dir.

Yukarıdaki monoklonal antikorların herhangi biri olup, burada sözü edilen hafif zincir DİZİ İD NO: 28'in amino asit dizisini içerir ve sözü edilen ağır zincir DİZİ İD NO: 40'ın amino asit dizisini içerir.

- 5 Yukarıdaki monoklonal antikorların herhangi biri olup, burada sözü edilen hafif zincir DİZİ İD NO: 29'un amino asit dizisini içerir ve sözü edilen ağır zincir DİZİ İD NO: 41'in amino asit dizisini içerir.

Yukarıdaki monoklonal antikorların herhangi biri olup, burada sözü edilen antikor iki hafif zincir ve iki ağır zincir içerir, burada her hafif zincir DİZİ İD NO: 28'in amino asit dizisini içerir ve her ağır zincir DİZİ İD NO: 40'ın amino asit dizisini içerir.

- 10 Yukarıdaki monoklonal antikorların herhangi biri olup, burada sözü edilen antikor iki hafif zincir ve iki ağır zincir içerir, burada her hafif zincir DİZİ İD NO: 29'un amino asit dizisini içerir ve her ağır zincir DİZİ İD NO: 41'in amino asit dizisini içerir.

- c-Met'e bağlanmak için yukarıdaki c-Met monoklonal antikorlarının veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biriyle rekabet eden bir monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı. Bu rekabetçi monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı, yukarıdaki c-Met monoklonal antikorlarının veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biriyle aynı c-Met epitopuna bağlanabilir. Tercih edilen bir düzenlemede, monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı bir hafif zincir ve bir ağır zincir içeren, hafif zincirin DİZİ İD NO: 28'in amino asit dizisini içerdiği ve ağır zincirin DİZİ İD NO: 40'ın amino asit zincirini içerdiği bir antikorla rekabet eder. Tercih edilen başka bir düzenlemede, monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı bir hafif zincir ve bir ağır zincir içeren, hafif zincirin DİZİ İD NO: 29'un amino asit dizisini içerdiği ve ağır zincirin DİZİ İD NO: 41'in amino asit zincirini içerdiği bir antikorla rekabet eder.

- 25 Sözü edilen beşeri c-Met'i yapısal olarak aşırı eksprese eden hepatosit büyüme faktöründen bağımsız tümör hücrelerinde total beşeri c-Met'in ve fosforillenmiş beşeri c-Met'in azalmasına yol açan yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri. Tercih edilen bir düzenlemede, sözü edilen beşeri c-Met'i yapısal olarak aşırı eksprese eden hepatosit büyüme faktöründen bağımsız tümör hücrelerinde total beşeri c-Met'in ve fosforillenmiş beşeri c-Met'in azalmasına yol açan monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir DİZİ İD NO: 28'in amino asit dizisini içerir ve ağır zincir DİZİ

İD NO: 40'ın amino asit zincirini içerir. Tercih edilen başka bir düzenlemede sözü edilen beşeri c-Met'i yapısal olarak aşırı eksprese eden hepatosit büyüme faktöründen bağımsız tümör hücrelerinde total beşeri c-Met'in ve fosforillenmiş beşeri c-Met'in azalmasına yol açan monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir DİZİ İD NO: 29'un amino asit dizisini içerir ve ağır zincir DİZİ İD NO: 41'in amino asit zincirini içerir.

Sözü edilen beşeri c-Met'i yapısal olarak aşırı eksprese eden hepatosit büyüme faktöründen bağımsız tümör hücrelerinde total beşeri c-Met'in ve fosforillenmiş beşeri c-Met'in azalmasına yol açan yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri. Tercih edilen bir düzenlemede, sözü edilen beşeri c-Met'i yapısal olarak aşırı eksprese eden hepatosit büyüme faktöründen bağımsız tümör hücrelerinde total beşeri c-Met'in ve fosforillenmiş beşeri c-Met'in azalmasına yol açan monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir DİZİ İD NO: 28'in amino asit dizisini içerir ve ağır zincir DİZİ İD NO: 40'ın amino asit zincirini içerir. Tercih edilen başka bir düzenlemede sözü edilen beşeri c-Met'i yapısal olarak aşırı eksprese eden hepatosit büyüme faktöründen bağımsız tümör hücrelerinde total beşeri c-Met'in ve fosforillenmiş beşeri c-Met'in azalmasına yol açan monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir DİZİ İD NO: 29'un amino asit dizisini içerir ve ağır zincir DİZİ İD NO: 41'in amino asit zincirini içerir.

Hepatosit büyüme faktörüne duyarlı olan hepatosit büyüme faktöründen bağımsız tümör hücrelerinde total beşeri c-Met'in ve fosforillenmiş beşeri c-Met'in azalmasına yol açan, yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri.

Beşeri RON hücre dışı alanına veya beşeri PlexinA2 hücre dışı alanına kıyasla tercihli olarak beşeri c-Met hücre dışı alanını bağlayan, yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri.

Beşeri c-Met hücre dışı alanının dökülmesine yol açmayan yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri. Tercih edilen bir düzenlemede, beşeri c-Met hücre dışı alanının dökülmesine yol açmayan monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir DİZİ İD NO: 28'in amino asit dizisini içerir ve ağır zincir DİZİ İD NO:

40'ın amino asit zincirini içerir. Tercih edilen başka bir düzenlemede beşeri c-Met hücre dışı alanının dökülmesine yol açmayan monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir DİZİ İD NO: 29'un amino asit dizisini içerir ve ağır zincir DİZİ İD NO: 41'in amino asit zincirini içerir.

- 5 Beşeri c-Met eksprese eden tümör hücrelerini staurosporinin yol açtığı apoptozdan korumayan, yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri. Tercih edilen bir düzenlemede, beşeri c-Met eksprese eden tümör hücrelerini staurosporinin yol açtığı apoptozdan korumayan monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir DİZİ İD NO: 28'in amino asit dizisini içerir ve ağır zincir DİZİ İD NO: 40'ın amino asit zincirini içerir. Tercih edilen başka bir düzenlemede beşeri c-Met eksprese eden tümör hücrelerini staurosporinin yol açtığı apoptozdan korumayan monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir DİZİ İD NO: 29'un amino asit dizisini içerir ve ağır zincir DİZİ İD NO: 41'in amino asit zincirini içerir.

Beşeri c-Met eksprese eden tümör hücrelerinin hepatosit büyüme faktörüne bağımlı ve hepatosit büyüme faktöründen bağımsız proliferasyonunu inhibe eden, yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri.

- 20 Beşeri hepatosit büyüme faktörünün beşeri c-Met'e bağlanmasını inhibe eden yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri.

- 25 HGF'ye benzer biyolojik agonist aktivitelere yol açmayan yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri. HGF'ye benzer biyolojik agonist aktiviter arasında tümör hücresi proliferasyonu, tümör hücresi motilitesi, tümör hücresi yayılması, tübülogenez, anjiyogenez ve antiapoptotik etkiler yer alır. Tercih edilen bir düzenlemede, HGF'ye benzer biyolojik agonist aktivitelere yol açmayan monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir DİZİ İD NO: 29'un amino asit dizisini içerir ve ağır zincir DİZİ İD NO: 41'in amino asit zincirini içerir.

- 30 Yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi birini ve farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcı, seyreltici veya ekspiyan içeren farmasötik bir bileşim.

Tedavide kullanım için yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri. Tercih edilen bir düzenlemede, tedavide kullanım için monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir DİZİ İD NO: 28'in amino asit dizisini içerir ve ağır zincir DİZİ İD NO: 40'in amino asit zincirini içerir. Tercih edilen başka bir düzenlemede tedavide kullanım için monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir DİZİ İD NO: 29'un amino asit dizisini içerir ve ağır zincir DİZİ İD NO: 41'in amino asit zincirini içerir

Bir insanda kanser tedavisinde kullanım için yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri. Tercih edilen bir düzenlemede, bir insanda kanser tedavisinde kullanım için monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir DİZİ İD NO: 28'in amino asit dizisini içerir ve ağır zincir DİZİ İD NO: 40'in amino asit zincirini içerir. Tercih edilen başka bir düzenlemede bir insanda kanser tedavisinde kullanım için monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir DİZİ İD NO: 29'un amino asit dizisini içerir ve ağır zincir DİZİ İD NO: 41'in amino asit zincirini içerir.

Başka bir terapötik maddeyle kombinasyon halinde bir insanda kanser tedavisinde kullanım için yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi biri. Tercih edilen bir düzenlemede, başka bir terapötik maddeyle kombinasyon halinde bir insanda kanser tedavisinde kullanım için monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir DİZİ İD NO: 28'in amino asit dizisini içerir ve ağır zincir DİZİ İD NO: 40'in amino asit zincirini içerir. Tercih edilen başka bir düzenlemede başka bir terapötik maddeyle kombinasyon halinde bir insanda kanser tedavisinde kullanım için monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir DİZİ İD NO: 29'un amino asit dizisini içerir ve ağır zincir DİZİ İD NO: 41'in amino asit zincirini içerir.

Yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi birini ve farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcı, seyreltici veya ekspanzyon içeren bir farmasötik bileşim.

Yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi birinin bir insanda bir kanserin tedavisine yönelik bir ilacın imalatı için kullanımı.

Kanseri tedavi etmenin bir usulü olup, ihtiyaç duyan hasta bir insana yukarıdaki monoklonal antikorların veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının herhangi birinin etkili bir miktarının uygulanmasını içerir.

Tanımlar

Doğal olarak var olduğu haliyle tam uzunlukta bir antikor, birbirine disülfür bağlarıyla bağlı 2 ağır (H) zincir ve 2 hafif (L) zincir içeren bir immünoglobülin molekülüdür. Her zincirin amino terminal bölümü, içlerinde bulunan tamamlayıcılık belirleme bölgeleri (CDR'ler) vasıtasıyla antijen tanımadan öncelikli olarak sorumlu olan yaklaşık 100-110 veya daha fazla amino asitli bir değişken bölge içerir. Her zincirin karboksi terminal bölümü öncelikli olarak efektör işlevinden sorumlu bir sabit bölgeyi tanımlar.

CDR'lerin aralarında, çerçeve bölgeleri ("FR") denilen, daha korunmuş bölgeler vardır. Her hafif zincir değişken bölgesi (LCVR) ve ağır zincir değişken bölgesi (HCVR), amino-terminus karboksi terminusa FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4 sırasıyla yerleşmiş 3 CDR ve 4 FR'den oluşur. Hafif zincirin 3 CDR'si "LCDR1, LCDR2 ve LCDR3" olarak adlandırılır ve ağır zincirin 3 CDR'si "HCDR1, HCDR2 ve HCDR3" olarak adlandırılır. CDR'ler antijenle spesifik etkileşimler oluşturan kalıntıların çoğunu içerir. CDR amino asit kalıntılarının LCVR ve HCVR bölgeleri içinde numaralandırılması ve konumlandırılması iyi bilinen Kabat numaralandırma uzlaşımına uygundur.

Hafif zincirler kappa veya lambda olarak sınıflandırılır ve bu alanda bilindiği gibi belirli bir sabit bölgeyle karakterize edilir. Ağır zincirler gama, mu, alfa, delta veya epsilon olarak sınıflandırılır ve sırasıyla IgG, IgM, IgA, IgD veya IgE gibi bir antikoru izotopunu tanımlarlar. IgG antikorları ayrıca IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 gibi alt sınıflara ayrılabilir. Her ağır zincir tipi bu alanda iyi bilinen bir diziye sahip belirli bir sabit bölgeyle özellik kazanır.

Burada "monoklonal antikor" (Mab) terimi buradaki antikor bileşiklerine ilişkin olarak, üretildiği usulü değil, herhangi bir ökaryotik, prokaryotik veya faj klon dâhil olmak üzere tek bir kopya veya klondan elde edilen bir antikoru belirtmek için kullanılmaktadır. Bu buluşun Mab'ları tercihen homojen veya esas itibarıyla homojen bir popülasyonda bulunur. Tam Mab'lar 2 ağır zincir ve 2 hafif zincir içerir. Bu monoklonal antikorların "antijen bağlayıcı fragmanları" arasında örneğin Fab fragmanı, Fab' fragmanları, F(ab')₂

fragmanları, tek zincirli Fv fragmanları ve bir hafif zincir ve bir ağır zincir içeren tek kollu antikorlar yer alır. Bu buluşun monoklonal antikorları ve bunların antijen bağlayıcı fragmanları örneğin rekombinant teknolojiler, faj gösterim teknolojileri, sentetik teknolojiler, örneğin CDR aşılama veya bu teknolojilerin kombinasyonlarıyla veya bu alanda bilinen başka teknolojilerle üretilebilir.

“Antikor bileşikleri” burada açıklanan Mab’ları ve Fab’ları belirtir. Bu buluşa uygun benzer işlevsel özellikler gösteren ek antikor bileşikler geleneksel usullerle üretilebilir. Örneğin farelere beşeri c-Met veya bunun fragmanlarıyla bağışıklık kazandırılabilir, elde edilen antikorlar geri kazanılabilir ve saflaştırılabilir ve bunların burada açıklanan antikor bileşiklerine benzer veya bunlarla aynı bağlanma özelliklerine ve işlevsel özelliklere sahip olup olmadıkları aşağıda Örnek 2-19’da açıklanan usullerle değerlendirilebilir. Antijen bağlayıcı fragmanlar geleneksel usullerle de hazırlanabilir. Antikorları ve bunların antijen bağlayıcı fragmanlarını üretmek ve saflaştırmak için usuller bu alanda iyi bilinmektedir ve Harlow ve Lane (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, bölüm 5-8 ve 15, ISBN 0-87969-314-2’de bulunabilir.

“Tasarlanmış beşeri antikorlar” ibaresi, burada açıklanan antikor bileşiklerine ek olarak, burada açıklananlara benzer buluşa uygun bağlanma özelliklerine ve işlevsel özelliklere sahip ve beşeri olmayan bir antikordan elde edilmiş CDR’leri çevreleyen esas itibarıyla beşeri veya tamamen beşeri çerçeve bölgelerine sahip olan monoklonal antikorları ve bunların antijen bağlayıcı fragmanlarını belirtmektedir. “Çerçeve bölgesi” veya “çerçeve dizisi” 1 ila 4. çerçeve bölgelerinin herhangi birini belirtir. Bu buluşun çerçevesi içine giren, tasarlanmış beşeri antikorlar ve antijen bağlayıcı fragmanlar arasında, 1 ila 4. çerçeve bölgelerinin herhangi birinin veya daha fazlasının esas itibarıyla veya tamamen beşeri olduğu, yani tek tek esas itibarıyla veya tamamen beşeri çerçeve bölgeleri 1 ila 4’ün muhtemel kombinasyonlarının herhangi birinin bulunduğu moleküller yer alır. Örneğin bunlar arasında çerçeve bölgesi 1 ve çerçeve bölgesi 2, çerçeve bölgesi 1 ve çerçeve bölgesi 3, çerçeve bölgesi 1, 2 ve 3’ün esas itibarıyla veya tamamen beşeri olduğu moleküller yer alır. Esas itibarıyla beşeri çerçeveler, bilinen bir beşeri germ hattı çerçeve dizisine en az yaklaşık %80 dizi özdeşliğine sahip olanlardır. Tercihen esas itibarıyla beşeri çerçeveler bilinen bir beşeri germ hattı çerçeve dizisine en az yaklaşık %85, yaklaşık %90, yaklaşık %95 veya yaklaşık %99 dizi özdeşliğine sahiptir.

Tamamen beşeri çerçeveler bilinen bir beşeri germ hattı çerçeve dizisine özdeş olanlardır. Beşeri çerçeve germ hattı dizileri ImMunoGeneTics'den (IMGT) <http://imgt.cines.fr> web sitesi vasıtasıyla veya The Immunoglobulin FactsBook, Marie-Paule Lefranc ve Gerard Lefranc, Academic Press, 2001, ISBN 012441351'den elde edilebilir. Örneğin germ hattı hafif zincir çerçeveleri A11, A17, A18, A19, A20, A27, A30, LI, L11, L12, L2, L5, L15, L6, L8, O12, O2 ve O8'den oluşan gruptan seçilebilir ve germ hattı ağır zincir çerçeve bölgeleri VH2-5, VH2-26, VH2-70, VH3-20, VH3-72, VHI-46, VH3-9, VH3-66, VH3-74, VH4-31, VHI-18, VHI-69, VI-13-7, VH3-11, VH3-15, VH3-21, VH3-23, VH3-30, VH3-48, VH4-39, VH4-59 ve VH5-51'den oluşan gruptan seçilebilir.

- 10 Burada açıklananlara ek olarak, buluşa göre benzer işlevsel özellikler gösteren, tasarlanmış beşeri antikorlar çeşitli farklı usuller kullanılarak üretilir. Bir yaklaşımda, ana antikor bileşiği CDR'leri, ana antikor bileşiği çerçevesiyle yüksek bir dizi özdeşliğine sahip bir beşeri çerçeve içine aşılanır. Yeni çerçevenin dizi özdeşliği ana antikor bileşiğindeki karşılık gelen çerçevenin dizisine en az yaklaşık %80, en az yaklaşık %85, en az yaklaşık %90, en az yaklaşık %95 veya en az yaklaşık %99 özdeş olacaktır. 100'den az amino asit kalıntısına sahip çerçevelerde, bir, iki veya üç amino asit kalıntısı değişebilir. Bu aşılama, ana antikora kıyasla bağlanma afinitesinde bir azalmayla sonuçlanabilir. Böyle bir durumda, çerçeve Queen ve diğerleri (1991) tarafından Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:2869'da açıklanan spesifik kriterler temelinde bazı pozisyonlarda ana çerçeveye geri mutasyona tabi tutulabilir. Fare antikorlarına beşeri özellikler verilmesinde yararlı olan usullerin açıklandığı diğer referanslar arasında ABD Patentleri No. 4,816,397; 5,225,539 ve 5,693,761; Levitt (1983) J. Mol. Biol. 168:595-620'de açıklandığı gibi ABMOD ve ENCAD bilgisayar programları; ve Winter ve çalışma arkadaşlarının usulü (Jones ve diğerleri (1986) Nature 321:522-525; Riechmann ve diğerleri (1988) Nature 332:323-327; ve Verhoeyen ve diğerleri (1988) Science 239:1534-1536) yer alır.

Geri mutasyon için düşünülecek kalıntılar aşağıdaki gibi belirlenebilir.

Bir amino asit aşağıdaki kategoriye girdiğinde, kullanılmakta olan beşeri germ hattı dizisinin çerçeve amino asidi ("alıcı çerçeve") ana antikor bileşiğinin bir çerçevesinden bir çerçeve amino asidiyle ("verici çerçeve") değiştirilir.

- 30 (a) alıcı çerçevenin beşeri çerçeve bölgesindeki amino asit, o pozisyonunda beşeri çerçeveler için olağan dışıdır, verici immünoglobülindeki karşılık gelen amino asit ise o pozisyonunda beşeri çerçeveler için tipiktir;

(b) amino asidin pozisyonu CDR'lerin birinin hemen yanındır; veya

(c) bir çerçeve amino asidinin herhangi bir yan zincir atomunun üç boyutlu bir immünoglobülin modelinde bir CDR amino asidinin herhangi bir atomuna uzaklığı yaklaşık 5-6 angstrom (merkezden merkeze) içindedir.

- 5 Alıcı çerçevenin beşeri çerçeve bölgesindeki amino asitlerin her biri ve verici çerçevedeki karşılık gelen bir amino asit, o pozisyonda beşeri çerçeveler için genel olarak olağan dışı olduğunda, bu amino asit o pozisyonda beşeri çerçeveler için tipik olan bir amino asitle değiştirilebilir. Bu geri mutasyon kriteri ana antikor bileşiğinin aktivitesinin geri kazanılmasını mümkün kılar.
- 10 Burada açıklanan antikor bileşiklerine benzer işlevsel özellikler gösteren tasarlanmış beşeri antikorlar üretmek için başka bir yaklaşım, çerçeve değiştirilmeden aşılınmış CDR'ler içindeki amino asitlerin rastgele mutasyona tabi tutulmasını ve oluşan moleküllerin ana antikor bileşiklerinininkiler kadar veya onlardan daha iyi bağlanma afinitesi ve başka işlevsel özellikler açısından taranmasını içerir. Her CDR içindeki her amino asit pozisyonuna tek
- 15 mutasyonların dâhil edilmesi, ardından bu mutasyonların bağlanma afinitesi ve başka işlevsel özellikler üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi de mümkündür. Gelişmiş özelliklere yol açan tek mutasyonlar birbirleriyle kombinasyon halinde etkilerini değerlendirmek için kombine edilebilir.

Ayrıca yukarıdaki yaklaşımların her ikisinin bir kombinasyonu da mümkündür. CDR aşılmasından sonra, CDR'lere amino asit değişiklikleri dâhil etmenin yanı sıra spesifik çerçeve bölgeleri geri mutasyona tabi tutulabilir. Bu metodoloji Wu ve diğerleri (1999) J. Mol. Biol. 294:151-162'de açıklanmaktadır.

- Bu alanda uzman olanlar, bu buluşun öğretilerini uygulayarak, burada açıklanan CDR ve çerçeve dizileri içindeki amino asitleri süstitüe etmek için yaygın teknikleri, örneğin yer
- 25 yönelimli mutagenezi kullanabilir ve böylece buradaki dizilerden elde edilen başka değişken bölge amino asit dizileri üretebilir. Doğal olarak oluşan bütün amino asitler spesifik bir süstitüsyon yerine dâhil edilebilir. Burada açıklanan usuller daha sonra, belirtilen in vivo işlevlere sahip dizileri belirlemek için bu ek değişken bölge amino asit dizilerini taramak için kullanılabilir. Bu şekilde, bu buluşa uygun tasarlanmış beşeri
 - 30 antikorları ve bunların antijen bağlayıcı bölümlerini hazırlamak için uygun başka diziler belirlenebilir. Tercihen çerçeveler içindeki amino asit süstitüsyonu, burada açıklanan 4 hafif zincir ve/veya ağır zincir çerçeve bölgesinin herhangi biri veya daha fazlası içindeki

bir, iki veya üç pozisyonla sınırlıdır. Tercihen CDR'ler içindeki amino asit süstitüsüyonu 3 hafif zincir ve/veya ağır zincir CDR'sinin herhangi biri veya daha fazlası içindeki bir, iki veya üç pozisyonuyla sınırlıdır. Yukarıda açıklanan bu çerçeve bölgeleri ve CDR'ler içindeki çeşitli değışikliklerin kombinasyonları da mümkündür.

- 5 Yukarıda tartışılan amino asit modifikasyonlarıyla oluşturulan antikor bileşiklerinin işlevsel özelliklerinin burada açıklanan spesifik moleküllerin gösterdiği özelliklere uyup uymadığı Aşağıda Örnek 2-19'da açıklanan usullerle teyit edilebilir.

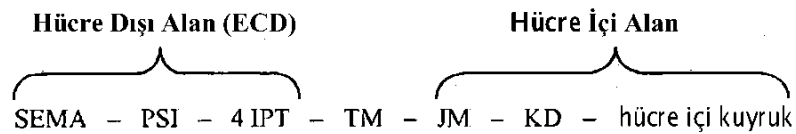
- “Epitop” terimi bir antikorun veya antikor fragmanının bağlandığı bir peptit veya protein üzerinde bulunan amino asitlerin spesifik bir düzenlenişini belirtir. Epitoplar sıklıkla amino asitler veya şeker yan zincirleri gibi moleküllerin kimyasal olarak aktif bir yüzey grubundan oluşurlar ve spesifik üç boyutlu yapısal özelliklerin yanı sıra spesifik yük özelliklerine sahiptirler. Epitoplar doğrusal olabilirler, yani tek bir amino asitler dizisine bağlanma içerirler veya konformasyonel olabilirler, yani antijenin bitişik olmak zorunda olmayan çeşitli bölgelerindeki iki veya daha fazla amino asit dizisinin bağlanmasını içerebilirler. Burada açıklanan epitoplar Örnek 3'te açıklanan amino asit dizilerinden oluşabilirler, esas olarak bunlardan oluşabilirler veya bunları içerebilirler.

- Burada açıklanan moleküllerle “rekabet” eden monoklonal antikorlar veya bunların antijen bağlayıcı fragmanları, buradaki moleküllerin bağlandığı yer(ler)e özdeş olan veya bu yer(ler)le çakışan yer(ler)de beşeri c-Met'i bağlayanlardır. Rekabetçi monoklonal antikorlar veya bunların antijen bağlayıcı fragmanları örneğin bir antikor rekabet tahliliyle belirlenebilir. Örneğin saflaştırılmış veya kısmen saflaştırılmış bir beşeri c-Met numunesi bir katı desteğe bağlanabilir. Daha sonra, bu buluşun bir antikor bileşiği veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı ve buluşun bu antikor bileşiğiyle rekabet edebildiğinden kuşkuilanılan bir monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı ilave edilir. İki molekülden biri işaretlenir. İşaretlenmiş bileşik ve işaretlenmemiş bileşik c-Met üzerinde ayrı ve farklı yerlere bağlanırsa, işaretlenmiş bileşik rekabetçi olduğundan kuşkuilanılan bileşik olsun veya olmasın aynı seviyede bağlanacaktır. Ancak, etkileşim yerleri aynıysa veya örtüşüyorsa, işaretlenmemiş bileşik rekabet edecektir ve antijene bağlı işaretlenmiş bileşik miktarı azalacaktır. İşaretlenmemiş bileşik fazlaysa, çok az işaretlenmiş bileşik bağlanacaktır (bağlanırsa). Bu buluşun amaçları için, rekabetçi antikorlar veya bunların antijen bağlayıcı fragmanları buradaki antikor bileşiklerinin c-Met'e bağlanmasını yaklaşık %50, yaklaşık %60, yaklaşık %70, yaklaşık %80, yaklaşık %85, yaklaşık %90, yaklaşık

%95 veya yaklaşık %99 azaltanlardır. Bu rekabetçi tahlilleri yapmak için prosedürlerin ayrıntıları bu alanda iyi bilinmekte ve örneğin Harlow ve Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, sayfa 567-569, ISBN 0-87969-314-2’de bulunmaktadır. Bu tahliller saflaştırılmış antikörler kullanılarak kantitatif olarak uygulanabilir. Bir antikör kendisine karşı titre edilerek, yani hem işaret hem de rakip olarak aynı antikör kullanılarak standart bir eğri oluşturulur. Bir işaretlenmemiş rekabetçi monoklonal antikörün veya bunun antijen bağlayıcı fragmanının işaretlenmiş molekülün plakaya bağlanmasını inhibe etme kapasitesi titre edilir. Sonuçlar çizilir ve istenen bağlanma inhibisyonu derecesine ulaşmak için gerekli olan konsantrasyonlar karşılaştırılır. Bu rekabet tahlillerinde bu buluşun antikör bileşikleriyle rekabet eden monoklonal antikörlerin veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının buradaki antikör bileşikleriyle aynı veya benzer işlevsel özelliklere sahip olup olmadığı, burada Örnek 2-19’da açıklanan usullerle belirlenebilir.

Esas itibarıyla burada açıklanan monoklonal antikörler veya antikör bağlayıcı fragmanlarla aynı c-Met epitopuna/epitoplarına bağlanan monoklonal antikörler veya bunların antijen bağlayıcı fragmanları, buradaki moleküllerin bağlandığı yer(ler)le örtüşen yer(ler)de beşeri c-Met’i bağlayanlardır. Esas itibarıyla burada açıklanan c-Met monoklonal antikörleri veya antikör bağlayıcı fragmanlarıyla aynı c-Met epitopuna/epitoplarına bağlanan monoklonal antikörlerin veya bunların antijen bağlayıcı fragmanların belirlenmesini kolaylaştıran usuller bu alanda iyi bilinmekte ve örneğin Uluslararası Başvuru Yayını WO 00/64946’da açıklanmaktadır. Esas itibarıyla aynı c-Met epitopuna/epitoplarına bağlanan monoklonal antikörlerin veya bunların antijen bağlayıcı fragmanlarının buradaki antikör bileşikleriyle aynı veya benzer işlevsel özelliklere sahip olup olmadığı burada Örnek 2-19’da açıklanan usullerle belirlenebilir.

“c-Met” veya “beşeri c-Met” herhangi bir beşeri c-Met’in yanı sıra, bunun aktif, mutasyondan geçmiş formlarını da belirtmektedir. c-Met yapısı şematik olarak aşağıdaki gibi betimlenir:



SEMA: Sema alanı

PSI: Pleksin, Semaforinler ve İntegrinler alanı

IPT: 4 İmmünoglobülinler, Pleksinler ve Transkripsiyon faktörü alanları

TM: Transmembran bölge

JM: Membran yanı alanı

KD: Kinaz alanı

- 5 Beşeri c-Met ECD'de (DİZİ İD NO:75), 1-24. amino asitler sinyal dizisini oluşturur. Olgun protein amino asit 25 (E)'de başlar. Sema alanı c-Met'in N-terminusundaki yaklaşık 500 amino asit kalıntısından oluşur ve α zincirini (25-307. amino asit kalıntıları) ve β zincirinin bir kısmını (308-519. amino asit kalıntıları) içerir.

- “İnhibe etmek” terimi, c-Met'in biyolojik etkilerini esas itibarıyla antagonize etme, engelleme, önleme, kısıtlama, yavaşlatma, sekteye uğratma, elimine etme, durdurma, azaltma veya tersine çevirme kabiliyeti anlamındadır.

- “Tedavi etme” (veya “tedavi etmek” veya “tedavi”) terimi, bir semptom, bozukluk, rahatsızlık veya hastalığın ilerlemesini yavaşlatma, kesintiye uğratma, bloke etme, kontrol altına alma, durdurma, azaltma veya tersine çevirme anlamındadır, ama zorunlu olarak hastalıkla ilişkili bütün semptomların, rahatsızlıkların veya bozuklukların tamamen elimine edilmesini belirtmez.

- Akut olaylar ve kronik rahatsızlıklar tedavi edilebilir. Akut bir olayda, bir antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı bir semptom, bozukluk, rahatsızlık veya hastalık başladığında uygulanır ve akut olay sona erdiğinde kesilir. Buna karşılık, kronik bir semptom, bozukluk, rahatsızlık veya hastalık daha uzun bir süre boyunca tedavi edilir.

- “Etkili miktar” terimi bu buluşun bir antikor bileşiğinin, bir hastaya tek doz veya birden fazla doz halinde uygulandığında istenen tedaviyi veya önlemeyi sağlayan miktarını veya dozunu belirtmektedir. Buradaki antikor bileşiklerinin terapötik olarak etkili miktarları tek doz için yaklaşık 0.1 mg/kg ila yaklaşık 20 mg/kg aralığındaki bir miktarı içerebilir.
- Herhangi bir bireysel hasta için terapötik olarak etkili bir miktar, sağlık hizmetleri uzmanı tarafından, antikor bileşiklerinin tümör dokularında veya tümör dışı dokularda hücre yüzeyi c-Met gibi bir biyomarkörün etkisi, tümör gerilemesi ve benzeri izlenerek belirlenebilir. Bu usullerle elde edilen verilerin analizi, ister tek başına ister başka bir terapötik maddeyle kombinasyon halinde kullanılsın, antikor bileşiklerinin optimal miktarlarının uygulanması için ve tedavi süresinin de belirlenebilmesi için tedavi sırasında tedavi rejiminin değiştirilmesine izin verir. Böylece, tek başına veya kombinasyon halinde kullanılan antikor bileşiklerinin, uygun tümör azaltıcı etkinlik gösteren en düşük

miktarlarının uygulanması ve bu bileşiklerin uygulanmasının sadece hastayı başarıyla tedavi etmek için gerekli olduğu sürece sürdürülmesi için doz/tedavi rejimi tedavi sırasında değiştirilebilir.

Bu buluşun antikor bileşikleri tıpta, çeşitli yollarla uygulanan ilaçlar olarak kullanılabilir.

- 5 En çok tercih edilen durumda, bu bileşimler parenteral uygulama içindir. Bu farmasötik bileşimler bu alanda iyi bilinen usullerle hazırlanabilir. Örneğin bakınız: The Science and Practice of Pharmacy, 19. basım (1995), A. Gennaro ve diğerleri, Mack Publishing Co. ve burada açıklanan antikor bileşiklerinin birini veya daha fazlasını ve farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcı, seyreltici veya ekspanzyon içerir.

- 10 “Tümör” terimi habis veya selim, bütün neoplastik hücre büyümelerini ve proliferasyonlarını ve bütün kanser öncesi ve kanserli hücreleri ve dokuları belirtmektedir. “Kanser”, “kanserli” ve “tümör” terimleri burada birbirini dışlayacak şekilde kullanılmamaktadır.

- “Kanser” ve “kanserli” terimleri, memelilerdeki, tipik olarak anormal hücre büyümesiyle/proliferasyonu ile özellik kazanan fiziksel bir hastalığı belirtmek için kullanılmaktadır. Kanserlerin örnekleri arasında sınırlandırıcı olmamak koşuluyla karşinomlar, lenfomalar, blastomlar, sarkomlar ve lösemiler yer alır.

c-Met ve Kanser

- Denetimsiz c-Met yollarına transkripsiyonel artış, c-Met gen amplifikasyonu, spesifik
- 20 genetik değişiklikler veya liganda bağımlı otokrin veya parakrin mekanizmaları yoluyla açılabilir. İnsanlardaki tümörlerde yapısal c-Met aktivasyonunun en yaygın nedeni, gen amplifikasyonunun yokluğunda transkripsiyonel artışın bir sonucu olarak artan protein ekspresyonudur. Ayrıca, mide ve yemek borusu karşinomları, küçük hücreli olmayan akciğer (NSCL) karşinomları ve medüloblastomlar da dâhil olmak üzere insanlardaki bir
- 25 dizi birincil tümörde MET geninin amplifikasyonu, sonuç olarak protein aşırı ekspresyonu ve yapısal kinaz aktivasyonu bildirilmiştir. Osteosarkomlar ve rabdomiyosarkomlar gibi mezenkimal kökenli tümörler sıklıkla, HGF üreterek otokrin mekanizmalarını kullanırlar. Yükselen HGF seviyeleri ve aşırı c-Met ekspresyonu sıklıkla, daha agresif hastalık, artan tümör metastazı ve azalan hasta ömrü de dâhil olmak üzere kötü klinik sonuçlarla
- 30 ilişkilidir. Ayrıca, tümörlerde HGF ve/veya c-Met proteinlerinin yüksek seviyeleri kemoterapi ve radyoterapiye direnç yaratır. Anormal HGF ve c-Met ekspresyonuna ek olarak, c-Met yolu c-Met mutasyonları, gen amplifikasyonu ve gen yeniden düzenlenişi

gibi genetik değişikliklerle de aktive edilebilir. Yanlış anlam c-MET mutasyonları iyi karakterize edilmiş kalıtsal papiller renal hücreli karsinomları (PRCC) olan bütün bireylerde ve sporadik PRCC numunelerinin küçük bir alt kümesinde (%13) tespit edilir. Mutasyonların bazıları artan kinaz aktivitesine bağlı olarak onkojenik potansiyele sahiptir.

- 5 Hem HGF hem c-MET genlerinin bulunduğu kromozom 7 trizomisi PRCC’de sık sık oluşur ve mutant c-MET alelinin rastgele olmayan duplikasyonu ile sonuçlanır. Ayrıca, somatik c-MET mutasyonları mide, baş ve boyun, karaciğer, yumurtalık, küçük hücreli olmayan akciğer ve tiroit kanserleri de dâhil olmak üzere insanlardaki diğer kanserlerin yanı sıra bu kanserlerin bazılarının metastazlarında tespit edilmiştir. Mutasyonların tipik
- 10 olarak kinaz alanıyla sınırlı olduğu PRCC’nin tersine, bu mutasyonlar çoğunlukla reseptörün başka bölgelerinde, örneğin membran yanı alanında bulunur. Mutasyonun yanı sıra, c-Met geni meme, karaciğer, beyin, kolorektal, gastrik, akciğer ve mide kanserlerinde sıklıkla amplifiye olur, bu bazı hastalarda hastalığın ilerlemesiyle ilişkilidir.

Terapötik endikasyonlar

- 15 Anormal HGF/c-MET sinyalleri mesane, meme, rahim ağzı, kolorektal, endometriyal, yemek borusu, mide, baş ve boyun, böbrek, karaciğer, akciğer, nazofaringeal, yumurtalık, pankreas, prostat ve tiroit kanserlerinin yanı sıra kolanjiyokarsinom, osteosarkom, rabdomiyosarkom, sinovyal sarkom, Kaposi sarkomu, leyomiyosarkomlar ve MFH/fibrosarkom da dâhil olmak üzere insanlardaki çok çeşitli habasetlerde
- 20 belgelenmiştir. Ayrıca anormal HGF ve/veya c-MET ekspresyonu akut miyelojenöz lösemi, erişkin T-hücreli lösemi, kronik miyeloid lösemi, lenfomalar ve multipl miyelom gibi hematolojik habasetlerin yanı sıra melanom, mezotelyom, Wilm tümörü, gliyoblastomata ve astrositomlar gibi başka tümörlerde de bildirilmiştir (Liu ve diğerleri (2008) Expert Opin. Investig. Drugs 17(7):997-1011’de özetlenmiştir). Bu buluşun c-Met
- 25 antikorları hem HGF’ye bağımlı hem HGF’den bağımsız tümörleri inhibe edebilir.

Aşağıdaki sınırlandırıcı olmayan örnekler bu buluşun çeşitli yönlerini göstermektedir.

- Aşağıdaki örneklerde, beşeri özellikler verilmiş IgG2 ve IgG4 ve murin IgG (bazen mIgG1 olarak da geçer) kontrol antikorları, buradaki c-Met antikorlarıyla ilişkisi olmayan izotip kontrol antikorlarıdır. Antikorlar C8, D 11 ve optD11 murin antikorlarıdır. Her durumda,
- 30 beşeri HGF R&D Systems’tan elde edilir (#294).

Ornek 1**c-Met Antikorları**

- Buradaki tasarlanmış beşeri antikorların hafif zincir ve ağır zincir değişken bölgelerinin amino asit dizileri, tam hafif ve ağır zincirleri ve yukarıdakileri kodlayan nükleotit dizileri aşağıda, “Amino Asit ve Nükleotit Dizileri” başlıklı bölümde listelenmektedir. Hafif zincir ve ağır zincir CDR amino asit dizileri sırasıyla Tablo 1 ve 2’de gösterilmektedir.

Tablo 1. Hafif Zincir CDR’leri

Antikor	CDR 1	CDR 2	CDR 3
D11-S17Y	SVSSSISSTNLH (DİZİ İD NO:49)	GTSYLAS (DİZİ İD NO:50)	QQWSSYPYS (DİZİ İD NO:51)
D11-8B8	SVSSSISSTNLH (DİZİ İD NO:49)	GTSYLAS (DİZİ İD NO:50)	QQWSSYPYS (DİZİ İD NO:51)
D11-C27G3	SVSSSISSTNLH (DİZİ İD NO:49)	GTSRLRS (DİZİ İD NO:52)	QQWSSYPYS (DİZİ İD NO:51)
D11 Konsensus Dizisi	--	GTSX ₁ LX ₂ S (DİZİ İD NO:87)	--
C8-6	SVSSSVSSIY LH (DİZİ İD NO: 53)	STSNLAS (DİZİ İD NO:54)	IQYSGYPLT (DİZİ İD NO:55)
C8-H241	SVSSSVSSIY LH (DİZİ İD NO:53)	STSNLAS (DİZİ İD NO:54)	QVYSGYPLT (DİZİ İD NO:56)
C8-co-16	SVSSSVRSIY LH (DİZİ İD NO:57)	STSNLAS (DİZİ İD NO:54)	QVYRGYPLT (DİZİ İD NO: 58)
C8 Konsensus Dizisi	SVSSSVX ₃ SIY LH (DİZİ İD NO:88)	--	X ₄ X ₅ YX ₆ GYPLT (DİZİ İD NO: 89)
X ₁ Y veya R’dir ve X ₂ A veya R’dir; X ₃ S veya R’dir; X ₄ I veya Q’dur, X ₅ Q veya V’dir ve X ₆ S veya R’dir;			

Tablo 2. Ağır zincir CDR'leri

Antikor	CDR 1	CDR 2	CDR 3
D11-S17Y	GYTFTSRYIH (DİZİ İD NO:59)	WIYPVTGDTYYNEKFKG (DİZİ İD NO:60)	GYGAFYY (DİZİ İD NO:61)
D11-8B8	GYTFTSRYIH (DİZİ İD NO:59)	WIYPVTGDTYYIEKFKG (DİZİ İD NO:62)	GYGAFFY (DİZİ İD NO:63)
D11-C27G3	GYTFTSRYIH (DİZİ İD NO:59)	WIYPVTGDTYYREPFGK (DİZİ İD NO:64)	GYGAFYY (DİZİ İD NO:61)
D11 Konsensus Dizisi	--	WIYPVTGDTYYX ₇ EX ₈ FKG (DİZİ İD NO:90)	GYGAFX ₉ Y (DİZİ İD NO:91)
C8-6	GYTFTDYMH (DİZİ İD NO:65)	RVNPNRGGTTYNQKFEG (DİZİ İD NO:66)	TNWLDY (DİZİ İD NO:67)
C8-H241	GYTFTDYMH (DİZİ İD NO:65)	RVNPNRRGGTTYNQKFEG (DİZİ İD NO:68)	ANWLDY (DİZİ İD NO:69)
C8-ko-16	GYTFTDYMH (DİZİ İD NO:65)	RVNPNRGSTTYNQKFEG (DİZİ İD NO:70)	ANILDY (DİZİ İD NO:71)
C8 Konsensus Dizisi	--	RVNPNX ₁₀ RX ₁₁ X ₁₂ TTYNQKFEG (DİZİ İD NO:92)	X ₁₃ NX ₁₄ LDY (DİZİ İD NO:93)
X ₇ N, I veya R'dir ve X ₈ K veya P'dir; X ₉ Y veya F'dir; X ₁₀ N veya Y'dir, X ₁₁ G veya R'dir ve X ₁₂ G veya S'dir; X ₁₃ T veya A'dır ve X ₁₄ W veya I'dir;			

D11 ve C8 antikoru hafif ve ağır zincir değişken bölgeleri için konsensus dizileri aşağıdakilerdir:

D11 Antikoru Hafif Zincir Değişken Bölge Konsensus Dizisi (DİZİ İD NO:94)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSISSTNLHWYQQKPGQAPRLIY
GTSX₁LX₂SGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPYSFG
QGTKLEIK

burada X₁ Y veya R'dir ve X₂ A veya R'dir;

C8 Antikoru Hafif Zincir Değişken Bölge Konsensus Dizisi (DİZİ İD NO:95)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSVSSSVX₃SIYLHWYQQKPGKAPKLLIY
 STSNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCX₄X₅YX₆GYPLTFG
 GGTKVEIK

burada X₃ S veya R'dir, X₄ I veya Q'dur, X₅ Q veya V'dir ve X₆ S veya R'dir;

D11 Antikoru Ağır Zincir Değişken Bölge Konsensus Dizisi (DİZİ İD NO:96)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFTSRYYHWVRQAPGQGLEWMGW
 IYPTVGDITYYX₇EX₈FKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGY
 5 GAFX₉YWGQGTLVTVS

burada X₇ N, I veya R'dir, X₈ K veya P'dir ve X₉ Y veya F'dir;

C8 Antikoru Ağır Zincir Değişken Bölge Konsensus Dizisi (DİZİ İD NO:97)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGR
 VNPX₁₀RX₁₁X₁₂TTYNQKFEGRVMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARX₁₃
 NX₁₄LDYWGQGTITVTVS

burada X₁₀ Y veya N'dir, X₁₁ G veya R'dir, X₁₂ S veya G'dir, X₁₃ A veya T'dir ve X₁₄ I
 10 veya W'dur.

Antikorlar standart transfeksiyon prosedürleri kullanılarak geçici olarak HEK293 EBNA hücrelerinde (Edge BioSystems, #90500130) eksprese edilir. Transfekte edilmiş hücreler transfeksiyondan sonra 48 ila 120 saat 37°C'de genetisin (G418) ve tobramisin içeren standart serumsuz ortamda kültürlenir. Antikorlar bir 60 mL rProtein A Sepharose
 15 kolonunda (Amersham Biosciences, #17-1279-04) imalatçının talimatlarına göre saflaştırılır ve hareketli faz olarak fosfat tamponlu salin (PBS), pH 7.4'le boyut dışlama kromatografisiyle (XK50/60 Superdex200, Pharmacia) saflaştırılır. Daha sonra antikorlar Millev-GV, PVDF membranlar, 0.22 µm, 33mm, (Millipore, # SLGV033RS) kullanılarak filtreden geçirilir ve 4°C ila 8°C'de saklanır.

20 Aşağıdaki örneklerin birçoğunda sözü edilen murin IgG1 c-Met antikoru 5D5 (ABD Patenti No. 5,686,292) yukarıda açıklandığı gibi, Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu, Manassas, VA'dan elde edilen hibridom HB-11895'ten izole edilir ve saflaştırılır.

Ornek 2

c-Met Antikorlarının Çeşitli c-Met Hücre Dışı Alanlarına Bağlanma Kinetiği

İnsan, sinomolgus maymunu ve sıçan c-Met dizilerinin hücre dışı alanları (ECD'ler) Fc'nin C-terminusunda (DİZİ İD NO: 72-74) bir flag- ve His etiketiyle (Flis-tag) Fc füzyon proteinleri olarak eksprese edilir. Bu c-Met ECD Fc füzyon proteinleri Ornek 1'de

5 açıklandığı gibi HEK293 EBNA hücrelerinde ayrı olarak geçici bir şekilde eksprese edilir ve saflaştırılır.

c-Met antikorlarının, insan, sinomolgus maymunu ve sıçan c-Met ECD'lerine bağlanma kinetiğini ölçmek için bir Biacore® 2000 aleti kullanılır. Ölçümler 25°C'de yapılır.

- 10 Numuneler HBS-EP tampon (150 mM sodyum klorür, 3 mM EDTA, %0.005 (ağırlık/hacim) yüzey aktif madde P-20 ve 10 mM N-2-hidroksietilpiperazin-N'-2-etansülfonik asit (HEPES), pH 7.4; #BR-1001-88) içinde eritilir. Keçi anti beşeri IgG'nin F(ab')₂ fragmanı, spesifik F(ab')₂ fragmanı (Jackson ImmunoResearch Inc, #109-006-097) anti-c-Met antikorlarını yakalamak için amin bağlama kimyası kullanılarak 4000 yanıt
- 15 birimi (RU) seviyesinde bir CM5 sensör çipinin akış hücreleri 1 ila 4 üzerinde hareketsizleştirilir.

Bağlanma birden fazla turda değerlendirilir. Her tur 50 µL/dakika akış hızında uygulanır ve aşağıdaki aşamalardan oluşur: 40-100 RU yakalama amacıyla 10 µg/mL'de yaklaşık 10 µL bir c-Met antikor enjeksiyonu; 250 µL insan, sinomolgus veya sıçan c-Met-Flis-Fc

20 ECD enjeksiyonu (100 nM'de başlanır ve her tur için iki kat seri seyreltme kullanılır), ardından ayrışma için 20 dakika ve yaklaşık 30 µL 10 mM glisin hidroklorür, pH 1.5 kullanımıyla rejenerasyon. Her tur için birleşme ve ayrışma hızları BIAevaluation yazılımı, versiyon 4.1'de bir "1:1 (Langmuir) bağlanma" modeli kullanılarak değerlendirilir.

- Antikor D11-S17Y'nin sıçan c-Met-Flis-Fc ECD'ye bağlanmasına ilişkin olarak, verileri
- 25 uygun şekilde uydurmak için bir heterojen ligand modeli kullanılır; dolayısıyla iki bağlanma afinitesi elde edilir.

Sonuçlar aşağıda Tablo 3-5'te gösterilmektedir.

Tablo 3

c-Met Antikorlarının Beşeri c-Met-Flis-Fc ECD'ye Bağlanma Kinetiği ve Afinitesi			
Antikor	$k_{\text{birleşme}}$ (1/Ms)	$k_{\text{ayrışma}}$ (1/s)	K_D (nM)
D11-8B8	$1.0 \pm 0.1 \times 10^5$	$0.5 \pm 0.2 \times 10^{-4}$	0.5 ± 0.2
D11-C27G3	$6.4 \pm 0.2 \times 10^4$	$0.9 \pm 0.2 \times 10^{-4}$	1.4 ± 0.3
D11-S17Y	$0.7 \pm 0.1 \times 10^5$	$2.8 \pm 0.1 \times 10^{-4}$	4.2 ± 0.9
C8-H241	$1.1 \pm 0.3 \times 10^5$	$<10^{-5}$	<0.1
C8-6	$1.6 \pm 0.4 \times 10^5$	$3 \pm 2 \times 10^{-4}$	4 ± 1
C8-col6	$1.1 \pm 0.2 \times 10^5$	$0.3 \pm 0.2 \times 10^{-4}$	0.3 ± 0.1

Tablo 4

c-Met Antikorlarının Sinomolgus Maymunu c-Met-Flis-Fc ECD'ye Bağlanma Kinetiği ve Afinitesi			
Antikor	$k_{\text{birleşme}}$ (1/Ms)	$k_{\text{ayrışma}}$ (1/s)	K_D (nM)
D11-8B8	$0.78 \pm 0.02 \times 10^5$	$2.23 \pm 0.07 \times 10^{-4}$	2.9 ± 0.2
D11-C27G3	$0.5 \pm 0.1 \times 10^5$	$3.2 \pm 0.4 \times 10^{-4}$	6.5 ± 0.7
D11-S17Y	$0.70 \pm 0.08 \times 10^5$	$3.6 \pm 0.5 \times 10^{-4}$	5.1 ± 0.2
C8-H241	$0.80 \pm 0.06 \times 10^5$	$<10^{-5}$	<0.2
C8-6	$1.4 \pm 0.5 \times 10^5$	$4.5 \pm 0.2 \times 10^{-4}$	3.6 ± 1.1
C8-col6	$1.03 \pm 0.02 \times 10^5$	$<10^{-5}$	<0.1

Tablo 5

c-Met Antikorlarının Sıçan c-Met-Flis-Fc ECD'ye Bağlanma Kinetiği ve Afinitesi						
Antikor	$k_{\text{birleşme}}$ (1/Ms)	$k_{\text{ayrışma}}$ (1/s)	K_D (pM)	$k_{\text{birleşme}}$ (1/Ms)	$k_{\text{ayrışma}}$ (1/s)	K_D (nM)
D11-8B8	$2.1 \pm 0.2 \times 10^5$	$1.9 \pm 0.3 \times 10^{-4}$	0.89 ± 0.04			
D11-C27G3	$1.3 \pm 0.1 \times 10^5$	$3.4 \pm 0.5 \times 10^{-4}$	2.7 ± 0.2			
D11-S17Y	0.66×10^5	189×10^{-4}	286	2.5×10^5	3.0×10^{-4}	1.2

Bu veriler C8-H241, C8-6 ve C8-co16 antikorlarının insan ve sinomolgus maymunu c-Met ECD'lerini benzer afiniteyle bağladığını, ama sıçan c-Met ECD'sini bağlamadığını göstermektedir. Ek veriler (gösterilmemiştir) bu antikorların ELISA plakaları üzerine 1 µg/mL ECD kaplandığında 100 nM'ye kadar fare c-Met ECD'sini bağlamadığını göstermektedir. Ancak D11-8B8, D11-C27G3 ve D11-S17Y antikorları insan, sinomolgus maymunu ve sıçan c-Met ECD'lerini bağlar.

Ornek 3

Epitop Haritalama

Buradaki c-Met antikorlarının epitoplarının haritası, hidrojen-döteryum değişimi kütle spektrometrisi (HDXMS) (Yamada ve diğerleri (2002) Rapid Commun. Mass Spectrom. 16(4):293-299) ve dietil pirokarbonatla (DEPC) işaretleme (Mendoza ve diğerleri (2008) Analy. Chem. 80(8):2895-2904) kombinasyonu ile çıkarılır. Beşeri c-Met Sema alanının hidrojen-döteryum değişim reaksiyonu, c-Met antikorlarının varlığında veya yokluğunda uygulanır. Bir antikorun varlığında, yokluğunda olduğundan daha az döteryum alan Sema alanı bölgeleri, antikor için epitop(lar) olarak tanımlanır. DEPC Sema alanında yüzeyde açığa çıkan lizin veya histidin kalıntılarının amino gruplarıyla reaksiyona girerek etil karbamat lizin veya histidin oluşturabilir. Bu amino asitler epitop bölgesinde bulunuyorsa, bunlar korunacak ve antikor bağlanması üzerine DEPC ile reaksiyona girmeyecektir. Bu HDXMS ile belirlenen epitop bölgelerinin yerinin bulunmasına ve/veya teyit edilmesine yardım eder.

c-Met Sema Alanı Ekspresyonu ve Saflaştırılması. Beşeri c-Met'in Sema alanı HEK293 EBNA hücrelerinde C-terminusta (DİZİ İD NO:76) bir Flis etiketiyle eksprese edilir ve Örnek 1 ve 2'de açıklandığı gibi saflaştırılır. Daha sonra saflaştırılmış protein pH 7.4'te PBS içinde 4°C'de saklanır. Bu alan bu buluşun c-Met antikorlarına tam uzunlukta beşeri c-Met ECD'sine benzer afiniteyle bağlanır, bu durum, bu antikorlar için epitopların beşeri c-Met'in bu bölgesinde bulunduğunu gösterir.

c-Met Sema Alanının Deglikosilasyonu ve Desialilasyonu. 100 µL 1.2 mg/mL beşeri c-Met Sema alanı çözeltisi de-N-glikosilasyon için gece boyunca 37°C'de 1 µL PNGase F çözeltisiyle (Prozyme, GKE-5006B) işleminden geçirilir. LC/MS analizi bu işleminden sonra proteinin çoğunun deglikosile olduğunu gösterir. Ayrıca, 100 µL 1.2 mg/mL beşeri c-Met Sema alanı çözeltisi, Sema alanının desialilasyonu için 1 saat 37°C'de 2 µL 10 U/mL nöraminidaz çözeltisiyle (Roche, Kat. No. # 10 269 611 001) işleminden geçirilir.

c-Met Sema Alanı/Antikor Komplekslerinin Oluşturulması. 10 µL deglikosile c-Met Sema alanı çözeltisi (1.2 mg/mL) antikor çözeltisinin (2.07 µL C8-H241, 2.01 µL D11-8B8 veya 3.87 µL bir ilişkisiz kontrol Mab) 29 µg protein içeren temsili bir miktarıyla karıştırılır ve sonra 40 µL nihai hacme kadar IX PBS çözeltisiyle seyreltilir. Ayıyeten, 5

5 µL desialillenmiş beşeri c-Met Sema alanı çözeltisi (1.2 mg/mL) antikor çözeltisinin (1.04 µL C8-H241, 1.01 µL D11-8B8 veya 1.94 µL ilişkisiz kontrol Mab) 14 µg protein içeren temsili bir miktarıyla karıştırılır ve sonra 15 µL nihai hacme kadar IX PBS çözeltisiyle seyreltilir. Daha sonra her antikorun karıştırılmış çözeltilerinin her biri HDXMS analizine tabi tutulur.

- 10 **HDXMS Tahlilleri.** 4 µL deglikosile veya desialillenmiş c-Met Sema alanı/antikor karışımı 16 µL %100 D₂O (Acros, Kod 166310500; değişim sırasında %80 D) ile karıştırılır ve 90 saniye çevre sıcaklığında inkübe edilir. Daha sonra değişim 0°C'de su içinde 50 µL % 0.5 (hacim/hacim) formik asitle söndürülür. Söndürülmüş çözelti hemen 0°C'de 3.5 veya 4 dakika 2 µL 5 mg/mL (hacim/hacim) pepsin çözeltisiyle (Sigma, Kat.
- 15 No. P6887) işleminden geçirilir. Sindirilmiş çözelti hemen manuel olarak bir RP-HPLC kolonuna (Polymer Laboratories, Parti No. 1912-1802; 2.1 x50mm, 1000 Å gözenek büyüklüğü, 8 µM parçacık büyüklüğü) enjekte edilir. HPLC pompasından (Waters, 2795 HPLC) HPLC tampon akımı bir metal tüpten (yaklaşık 1 mL) bir manuel enjektöre geçirilir. Daha sonra kolon eluatı bir Micromass LCT Premier veya SYNAPT kütle
- 20 spektrometresine geçirilir. Metal tüp, enjektör ilmeği ve kolon bir buz su banyosuna daldırılır.

- Kolon 0.2 mL/dakika akış hızında %99 A (%0.05 (hacim/hacim) sulu TFA (trifloroasetik asit) ve %1 B (%0.04 (hacim/hacim) asetonitril içinde TFA) ile dengelenir. 1 dakika bir izokratik gradyan elüsyonu uygulanır, 3 dakika alıkoymayla 1 dakikada %1'den %10 B'ye,
- 25 12 dakikada %40 B'ye, 4 dakikada %90 B'ye çıkarılır ve sonra çabucak başlangıç koşullarına döndürülür. Kütle spektrometrisi bir Micromass LCT Premier Kütle Spektrometresinde, pozitif spre, W kipiyle ve aşağıdaki ayarlarla uygulanır: 1.5 kV kapiler voltaj, 100 V koni voltajı, 25 V Açıklık 1, 200 ila 2000 kütle aralığı, 150°C desolvasyon sıcaklığı ve 500 L/saat desolvasyon gaz akışı. c-Met'in her peptik peptidinin
- 30 kütle spektrumu c-Met antikoruyla veya bunun olmadığı D/H değişiminden sonra elde edilir. Her peptidin ortalama kütlesi en yoğun iyon pikinin izotopik dağılımına göre hesaplanır.

c-Met/Antikor Komplekslerinin DEPC İşaretlemesi. 8.3 µL 1.2 mg/mL beşeri c-Met Sema alanı çözeltisi bir antikor çözeltisi (24 µg protein: 1.71 µL C8-H241, 1.67 µL D11-8B8 veya 3.2 µL ilişkisiz kontrol Mab) ve IX PBS çözeltisiyle 76 µL nihai hacme kadar karıştırılır. Her c-Met/antikor karışımı 5 dakika çevre sıcaklığında izopropanol içinde 4 µL 10 mg/mL (ağırlık/hacim) DEPC ile işleminden geçirildikten sonra 0.1 M Tris-HCl tampon, pH 8 içinde 20 mg/mL histidin (10 µL) ve 0.1 M Tris-HCl tampon, pH 8 içinde 0.2 mg/mL lizinle (10 µL) işleminden geçirilir. Her çözelti 5 µL 0.2 mg/mL (ağırlık/hacim) domuz tripsin çözeltisiyle (Promega, Kat. No. V528A) karıştırılır ve karışımın yarısı 0.5 µL 50 mg/mL (ağırlık/hacim) ditiotreitol çözeltisiyle karıştırılır. Her numune çözeltisi 5 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra bir saat daha 0.5 µL PNGase F çözeltisiyle işleminden geçirilir. Her sindirilmiş çözelti 2 µL %10 (hacim/hacim) asetik asit çözeltisiyle asitleştirilir. Ditiotreitol ilave edilmeden indirgenmiş sindirim ürününe 2 µL 100 mg/mL TCEP (tris(2-karboksietil)fosfin hidroklorür (Sigma, Kat. No. C4702-2G) çözeltisi ilave edilir. Çözeltilerin her biri bir Waters Acquity UPLC ve Waters SYNAPT Kütle spektrometresi kullanılarak LC/MS analizine tabi tutulur. HPLC'de 60°C'de bir Waters Acquity UPLC BEH C8 kolonu (2.1×50mm, 1.7µm, Waters, parça no. 186002877) kullanılır ve peptitler bir su/asetonitril/TFA HPLC hareketli faz sisteminde bir asetonitril gradyanıyla elute edilir. Sindirim ürünleri için 45 dakika uygulama süresi kullanılır. Kolon 0.2 mL/dakika akış hızında %99 A (%0.05 (hacim/hacim) TFA sulu çözeltisi) ve %1 B (%0.04 (hacim/hacim) asetonitril içinde TFA) ile dengelenir. 2 dakika izokratik durumda bir gradyan elüsyonu uygulanır, 1.5 dakika alıkoymayla 25 dakikada %1 B'den %25 B'ye, 10 dakikada %45 B'ye, 1 dakikada %90 B'ye (aynı sürede, 0.3 mL/dakika akış hızında) getirilir ve sonra hızla %1 B'ye geri getirilir.

Sonuçlar. Mab C8-H241 beşeri c-Met hücre dışı alanının α zincirinde bulunan, c-Met Sema alanının dört bölgesini içeren bir konformasyonel epitopu bağlıyor gibi görünmektedir (DİZİ İD NO:75'in 25-307. amino asit kalıntıları):

¹²¹VVDITYYDDQL₁₃₀ (DİZİ İD NO:77),

¹³¹ISCGSVNRGTCQRHVFPNHHTADIQS₁₅₆ (DİZİ İD NO:78),

¹⁷⁹ALGAKVLSSVKDRFINFF₁₉₆ (DİZİ İD NO:79) ve

²¹⁶VRRLKETKDGFM₂₂₇ (DİZİ İD NO:80).

Daha özel olarak, Mab C8-H241 aşağıdakiler içindeki bir veya daha fazla amino asitle etkileşime girerek c-Met'i bağlar:

¹²³DTYYDD₁₂₈ (DİZİ İD NO:81) (kendileri dâhil),
¹⁴⁴HVFPNHHTADIQS₁₅₆ (DİZİ İD NO: 82) (kendileri dâhil),
¹⁹²FINF₁₉₅ (DİZİ İD NO:83) (kendileri dâhil) ve
²²⁰KETKDGFM₂₂₇ (DİZİ İD NO:84) (kendileri dâhil).

- 5 Mab C8-H241'in ¹⁴⁴HVFPNHHTADIQS₁₅₆ (DİZİ İD NO: 82) bölgesine bağlanması, bağlanma tahlillerinde 100 nM antikora kadar, sıçan veya fare c-Met'inin değil ama hem insan (DİZİ İD NO:75) hem sinomolgus maymunu (DİZİ İD NO:73'ün 25 ila 932. amino asitleri) c-Met hücre dışı alanını karşılaştırılabilir afiniteyle bağlamaya muktedir kılar.
- Mab D11-8B8'in c-Met Sema alanının α zincirine bağlanması, bir bölgeye, yani kendileri
- 10 de dâhil olmak üzere ⁸⁴YKTGPVLEHPDC₁₀₇ (DİZİ İD NO:85) amino asit dizisi, daha özel olarak kendileri de dâhil olmak üzere ⁹⁵CFPCQDCSSKA₁₀₅ (DİZİ İD NO:86) bölgesi içinde doğrusal bir epitop içindeki amino asit kalıntılarında lokalize oluyor gibi görünmektedir. Mab D11-8B8 için epitop ayrıca epitop ekstraksiyon deneyleri için
- 15 teyit edilir (Dhungana ve diğerleri (2009) Methods Mol. Biol. 524:87-101). c-Met Sema alanı domuz tripsiniyle (Promega) sindirilir ve sindirim ürünü daha sonra c-Met peptitlerini bağlamak için EZ-Link™ Sulfo-NHS-LC-Biotin seti (Pierce, Ürün No. 1754210) kullanılarak biyotinlenmiş Mab D11-8B8'le karıştırılır. Bağlı c-Met peptitleriyle birlikte veya bunlar olmadan biyotinlenmiş D11-8B8 yüksek kapasiteli Streptavidin agaroz
- 20 reçinesiyle (Thermo Scientific, Ürün No. 20359) yakalanır. Bağlı peptitler H₂O içinde %0.15 formik asitle (hacim/hacim) serbest bırakılır ve sonra LC/MS'yle tespit edilir.

Ornek 4

Antikorların RON ve PlexinA2 ECD'lere kıyasla Tercihli Olarak c-Met'e Bağlanması

- c-Met'e dizi özdeşliği en fazla olan beşeri proteinler RON ve Plexin A2'dir. Bu deneyde, c-Met antikorunun c-Met, RON ve PlexinA2 ECD'lerine bağlanma spesifitesi
- 25 karşılaştırılmaktadır.
- 96 kuyucuklu EIA/RIA yüksek bağlanma plakalarının (Costar, #2592) kuyucukları gece boyunca 4°C'de kaplama tamponu (BioFX Labs, # COAT-1000-01) içinde 100 μ L 1 μ g/mL beşeri c-Met hücre dışı alanı (ECD)-Fc-Flis füzyonu (DİZİ İD NO:72), RON-ECD-Fc (R&D Systems, #1947-MS) veya PlexinA2-ECD-Fc (Abnova, Taipei, Tayvan
- 30 #H00005362-P01) ile kaplanır. Kuyucuklar aspire edilir ve spesifik olmayan bağlanma yerleri 200 μ L blokaj tamponu (% 0.05 (hacim/hacim) polisorbata 20 (Tween-20) (TBS-T)

- (BioFX Labs, # WSHW-1000-01) artı %1 (ağırlık/hacim) sığır serum albümini (BSA) (Jackson Immuno, #001-000-162) içeren Tris tamponlu salin, pH 8.0) ilave edilerek ve 1 saat oda sıcaklığında inkübe edilerek bloke edilir. Plakalar üç kez yıkama tamponuyla (TBS-T) yıkandıktan sonra, 100 µL/kuyucuk miktarında, blokaj tamponu içinde c-Met
- 5 antikorlarının 1:6 seri seyreltileri (100 µg/mL'den başlanarak) ilave edilir ve oda sıcaklığında 2 saat inkübe edilir. Plakalar 90 dakika blokaj tamponu içinde 100 µL/kuyucuk HRP'yle konjuge keçi anti beşeri F(ab)₂ IgG (Jackson ImmunoResearch Labs #109-036-097) ile yıkanır ve inkübe edilir. Plakalar yıkandıktan sonra, 100 µL/kuyucuk substrat çözeltisi (BioFx, #TMBW-1000-01) ilave edilir ve plakalar 10 dakika oda
- 10 sıcaklığında inkübe edilir. Reaksiyonu durdurmak için 100 µL/kuyucuk durdurma çözeltisi (BioFx, # LSTP-1000-01) ilave edilir. Kolorimetrik sinyaller oluşur ve bir SpectraMax 190 plaka okuyucusu (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) kullanılarak 450 nm'de okunur. c-Met, RON ve PlexinA2 ECD'lere c-Met antikoruna bağlanması renk sinyali üretimiyle orantılıdır.
- 15 Tablo 6'da gösterildiği gibi, bu buluşun hem C8 hem D11 c-Met antikorları RON ECD veya PlexinA2 ECD'lerle karşılaştırıldığında tercihli olarak beşeri c-Met ECD'ye bağlanır.

Tablo 6

c-Met Antikorlarının RON ve PlexinA2 ECD'lere Kıyasla Tercihli Olarak Beşeri c-Met ECD'ye Bağlanması									
	Ortalama A450 nm								
Antikor dozu	C8-H241			C8-6			C8-col6		
(ng/mL)	c-Met ECD	RON ECD	Plexin A2	c-Met ECD	RON ECD	Plexin A2	c-Met ECD	RON ECD	Plexin A2
0.000	0.300	0.098	0.092	0.322	0.110	0.109	0.335	0.106	0.104
0.002	0.317	0.088	0.082	0.326	0.106	0.099	0.369	0.100	0.094
0.010	0.317	0.081	0.090	0.335	0.097	0.095	0.374	0.096	0.078
0.060	0.484	0.104	0.099	0.551	0.087	0.096	0.446	0.089	0.082
0.357	0.902	0.091	0.097	0.813	0.080	0.107	0.907	0.083	0.095
2.143	2.861	0.101	0.103	2.415	0.098	0.106	2.888	0.114	0.092
12.860	4.000	0.079	0.083	4.000	0.087	0.085	4.000	0.102	0.069
77.160	4.000	0.085	0.079	4.000	0.090	0.078	4.000	0.084	0.096
462.963	4.000	0.090	0.104	4.000	0.088	0.086	4.000	0.103	0.092
2777.778	4.000	0.085	0.092	4.000	0.088	0.094	4.000	0.095	0.114
16666.667	4.000	0.117	0.125	4.000	0.124	0.118	4.000	0.198	0.284
100000.000	4.000	0.267	0.310	4.000	0.170	0.171	4.000	0.421	0.983
Standart Hata									
0.000	0.006	0.015	0.007	0.011	0.000	0.004	0.003	0.005	0.011
0.002	0.003	0.006	0.002	0.012	0.005	0.006	0.023	0.000	0.006
0.010	0.002	0.000	0.005	0.001	0.004	0.009	0.015	0.012	0.002
0.060	0.055	0.001	0.002	0.144	0.004	0.005	0.029	0.003	0.002
0.357	0.004	0.004	0.002	0.022	0.005	0.003	0.005	0.007	0.000
2.143	0.032	0.004	0.005	0.041	0.004	0.003	0.128	0.002	0.007
12.860	0.000	0.001	0.012	0.000	0.000	0.007	0.000	0.004	0.004
77.160	0.000	0.002	0.014	0.000	0.008	0.007	0.000	0.003	0.001
462.963	0.000	0.004	0.003	0.000	0.006	0.001	0.000	0.013	0.001
2777.778	0.000	0.004	0.002	0.000	0.004	0.001	0.000	0.007	0.000
16666.667	0.000	0.005	0.004	0.000	0.004	0.003	0.000	0.003	0.002
100000.000	0.000	0.008	0.012	0.000	0.002	0.003	0.000	0.011	0.093

D11-8B8			D11-C27G3			D11-S17Y		
c-Met ECD	RON ECD	Plexin A2	c-Met ECD	RON ECD	Plexin A2	c-Met ECD	RON ECD	Plexin A2
0.297	0.097	0.081	0.2844	0.0791	0.0771	0.31475	0.1129	0.10795
0.299	0.082	0.078	0.2708	0.07065	0.07965	0.3091	0.09705	0.09345
0.304	0.074	0.078	0.2904	0.0715	0.0763	0.31405	0.0868	0.0986
0.445	0.094	0.073	0.45965	0.0695	0.06605	0.37355	0.0857	0.09455
1.314	0.073	0.074	1.43965	0.07085	0.0792	0.78915	0.08475	0.0924
2.416	0.069	0.073	2.5266	0.0655	0.0742	2.1432	0.1085	0.08235
3.931	0.079	0.075	4	0.07835	0.0641	4	0.0825	0.0768
4.000	0.079	0.066	4	0.06725	0.076	4	0.08195	0.07575
4.000	0.071	0.077	4	0.0981	0.1045	4	0.08185	0.0783
4.000	0.088	0.093	4	0.20445	0.30325	4	0.09255	0.0955
4.000	0.165	0.181	4	0.67565	1.33475	4	0.1274	0.1491
4.000	0.544	0.498	3.9211	2.30295	3.37085	4	0.23775	0.3146
Standart Hata								
0.006	0.003	0.003	0.0087	0.0017	0.0106	0.00515	0.0012	0.00035
0.011	0.002	0.002	0.0194	0.00595	0.00185	0.0228	0.00065	0.01725
0.012	0.002	0.001	0.0051	0.0018	0.0017	0.01195	0.0058	0.0079
0.007	0.017	0.003	0.01495	0.0006	0.00335	0.00375	0.0013	0.00035
0.092	0.007	0.004	0.02935	0.00695	0.0017	0.04195	0.00075	0.0039
0.044	0.002	0.001	0.2742	0.0002	0.0015	0.0841	0.0054	0.00015
0.069	0.005	0.002	0	0.01505	0.0043	0	0.0029	0.0061
0.000	0.007	0.000	0	0.00275	0.0066	0	0.00445	0.00455
0.000	0.005	0.004	0	0.0063	0.0032	0	0.00485	0.0089
0.000	0.003	0.005	0	0.00975	0.00535	0	0.00705	0.0055
0.000	0.007	0.004	0	0.03125	0.03495	0	0.0007	0.0035
0.000	0.016	0.006	0.0789	0.07335	0.14345	0	0.00865	0.004

Ornek 5**c-Met Antikorları HGF/c-Met Bağlanmasını Bloke Eder**

HGF'nin c-Met'e bağlanmasının buradaki c-Met antikorlarıyla inhibisyonunu belirlemek için in vitro bağlanma tahlilleri kullanılır.

- 96 kuyucuklu EIA/RIA yüksek bağlanma plakalarının (Costar, #2592) kuyucukları gece boyunca oda sıcaklığında Dulbecco fosfat tamponlu salin (DPBS) içinde 100 µL beşeri c-Met ECD-Fc-Flis (DİZİ İD NO:72) (2 µg/mL) ile kaplanır; bir plaka yıkayıcısında dört kez yıkama tamponuyla (%0.05 (hacim/hacim) polisorbata 20 (TWEEN®-20) (TBS-T) (BioFX Labs, # WSHW-1000-01) içeren Tris tamponlu salin, pH 8.0) yıkanır; 300 µL blokaj tamponu (TBS-T artı %1 (ağırlık/hacim) sığır serum albümini (BSA) (Jackson Immuno, #001-000-162) ilave edilerek; ve 60 dakika 37°C’de inkübe edilerek bloke edilir. Daha sonra kuyucuklardan blokaj tamponu çıkarılır ve her kuyucuğa sırasıyla Tablo 7’de gösterilen nihai konsantrasyonlarda blokaj tamponu içinde antikorlar (50 µL) ilave edilir.
- 10 Blokaj tamponu sadece HGF içeren kontrol kuyucuklarına ilave edilir. c-Met antikorları içeren plakalar 90 dakika 37°C’de inkübe edilir. Daha sonra sadece antikor içeren kontrol kuyucukları dışındaki her kuyucuğa 10 ng/mL nihai konsantrasyonda blokaj tamponu içinde 50 µL beşeri hepatosit büyüme faktörü (HGF) (R&D Systems, #294) ilave edilir. c-Met antikor/HGF karışımını içeren plakalar iki saat oda sıcaklığında bir plaka
- 15 çalkalayıcısı üzerinde inkübe edilir. Daha sonra kuyucuklar bir plaka yıkayıcı içinde TBS-T ile dört kez yıkanır. Ardından, her kuyucuğa 100 ng/mL nihai konsantrasyonunda blokaj tamponu içinde 100 µL biyotinlenmiş anti-HGF antikor (R&D Systems, # BAF294) ilave edilir. Plakalar 90 dakika oda sıcaklığında inkübe edilir. Kuyucuklar yeniden bir plaka yıkayıcı içinde TBS-T ile dört kez yıkanır. Her kuyucuğa blokaj tamponu içinde 100 µL
- 20 1:2000 streptavidin-yaban turpu peroksidaz (HRP) (R&D Systems, DY998) seyreltisi ilave edilir. Plakalar 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edilir. Kuyucuklar bir plaka yıkayıcıda dört kez TBS-T ile yıkanır. Daha sonra 100 µL/kuyucuk substrat çözeltisi (BioFx, #TMBW-1000-01) ilave edilir ve plakalar 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edilir. Reaksiyonu durdurmak için, 100 µL/kuyucuk durdurma çözeltisi (BioFx, # LSTP-1000-
- 25 01) ilave edilir. Numuneler bir mikroparka okuyucusunda (Spectra, MAX 190) 450-570 nm dalga boyunda okunur ve hiç zemin değeri çıkarılmaz.

Tablo 7’de gösterildiği gibi bu buluşun hem C8 hem D11 c-Met antikorları beşeri HGF/c-Met bağlanmasını bloke etmektedir.

Tablo 7

Beşeri HGF'nin Beşeri c-Met'e Bağlanması C8- ve D11- Antikorlarıyla İnhibisyonu								
AVG A450 nm								
Antikor dozu (ng/mL)	hIgG2	D11- 8B8	D11- 27G3	D11- S17Y	hIgG4	C8- 6	C8- H241	C8- co16
0.00	2.43	2.43	2.43	2.43	2.61	2.61	2.61	2.61
0.48	2.46	2.51	2.37	2.15	2.41	2.56	2.45	2.05
1.91	2.87	2.48	2.31	1.98	2.49	2.59	2.46	2.18
7.63	2.70	2.41	2.27	2.08	2.88	2.64	2.53	2.20
30.52	2.41	2.32	2.38	2.07	2.63	2.42	2.42	2.08
122.07	2.52	1.92	1.60	1.69	2.44	2.00	1.77	1.30
488.28	2.53	1.30	0.94	1.29	2.44	1.33	0.73	0.70
1953.13	2.43	1.43	0.97	1.23	2.27	1.08	0.68	0.60
7812.50	2.50	1.24	0.91	1.12	2.49	0.95	0.70	0.57
31250.00	2.50	1.31	0.94	1.17	2.67	0.98	0.77	0.56
125000.00	2.43	1.38	0.89	1.35	3.00	1.32	0.69	0.38
StdHata								
0.00	0.06	0.06	0.06	0.06	0.10	0.10	0.10	0.10
0.48	0.02	0.13	0.01	0.09	0.24	0.02	0.14	0.15
1.91	0.27	0.08	0.08	0.03	0.00	0.03	0.16	0.12
7.63	0.14	0.01	0.21	0.08	0.14	0.03	0.06	0.09
30.52	0.09	0.02	0.31	0.09	0.16	0.01	0.03	0.01
122.07	0.09	0.07	0.03	0.02	0.08	0.10	0.02	0.03
488.28	0.00	0.04	0.04	0.02	0.01	0.02	0.00	0.01
1953.13	0.13	0.16	0.02	0.05	0.00	0.01	0.01	0.01
7812.50	0.04	0.01	0.01	0.02	0.25	0.07	0.01	0.02
31250.00	0.06	0.02	0.02	0.04	0.03	0.03	0.03	0.03
125000.00	0.07	0.03	0.01	0.08	0.13	0.47	0.01	0.00

Kısaltmalar: ORT = ortalama; STDHata = Standart Hata

Ornek 6

c-Met Antikorları Hepatosit Büyüme Faktörüne ve Agonist Mab 5D5'e Kıyasla Zayıf c-Met Fosforilasyonuna Yol Açar

HGF ile stimülasyon üzerine, A549 akciğer karsinomu hücre hattı tirozin kalıntısı 1349'da artan c-Met fosforilasyonu gösterir. HGF'nin yokluğunda çeşitli c-Met antikorlarının ve Mab 5D5'in ve bizzat HGF'nin agonistik aktivitesini ölçmek için bir fosforillenmiş c-Met (p-Met) ELISA tahlili kullanılır.

A549 hücreleri (ATCC, #CCL-185) Ham F12K + 2 mM glutamin (Invitrogen, # 21127-022) + %10 FBS ortamında (Invitrogen, #10082) kültürlenir. Hücreler yukarıdaki gibi 96 kuyucuklu plakalarda tam serum ortamı içinde 6×10^4 hücre/kuyucuk olarak ekilir ve gece boyunca %5 (hacim/hacim) CO₂ altında 37°C'de inkübe edilir. Kuyucuklardan ortam çıkarılır ve hücreler altı saat 37°C'de %5 (hacim/hacim) CO₂ altında 100 µL Ham F12K + 2 mM glutamin ortamı + %0.5 FBS içinde aç bırakılır. Antikorlar veya HGF açlık kültür ortamında seyreltilir, Tablo 8'de gösterilen nihai konsantrasyonlarda ilave edilir ve 15 dakika 37°C'de inkübe edilir. Ortam aspire edilir ve hücreler kuyucuk başına 50 µL liziz tamponunda (10 mM Tris (Invitrogen, #15567-027), 150 mM NaCl, 2 mM etilendiamintetraasetik asit (EDTA) (Invitrogen, #15575-038), 50 mM NaF (Sigma, #S1504), %1 (hacim/hacim) oktilfenoksi polietoksi etanol (TRITON®-X 100; Sigma, #T8787), 2 mM sodyum ortovanadat (EMD Chemicals, Gibbstown, NJ, #567540), proteaz inhibitörü (Sigma, St. Louis, MO; #P8340), fosfataz inhibitör kokteyli I (Sigma #P2850) ve fosfataz inhibitör kokteyli II (Sigma #P5726)) lize edilir ve hücreler 15-20 dakika buz üzerinde inkübe edilir. Hücre lizatları, kalıntı Y1349'da c-Met fosforilasyonunu belirlemek için aşağıda açıklanan ELISA tahlilinde kullanılır.

c-Met yakalama antikoru Bup H kaplama tamponunda (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, #28382) 2 µg/mL'ye seyreltilir, ELISA plakalarına (Greiner Bio-One, Monroe, NC, #655081) ilave edilir ve gece boyunca 4°C'de inkübe edilir. Kuyucuklar aspire edilir, üç kez TBS-T (BioFX, Owings Mills, MD, WSH-1000-01) ile yıkandıktan sonra 1 saat oda sıcaklığında 200 µL blokaj tamponuyla (TBS-T artı %2 (ağırlık/hacim) BSA) bloke edilir. Plakalar üç kez TBS-T ile yıkanır. Daha sonra 25 µL hücre lizatı artı 75 µL blokaj tamponu ilave edilir ve plakalar gece boyunca 4°C'de inkübe edilir. Plakalar daha sonra üç kez TBS-T ile yıkanır. Her kuyucuğa blokaj tamponu içinde 0.5 µg/mL pY1349 c-Met poliklonal antikoru (Cell Signaling Technology, Danvers, MA, #3133) (100

- µl) ilave edilir ve 2 saat oda sıcaklığında inkübe edilir. Daha sonra kuyucuklar üç kez TBS-T ile yıkanır. Her kuyucuğa blokaj tamponu içinde 1/10,000 oranında seyreltilmiş peroksidazla konjuge keçi anti-tavşan IgG poliklonal antikoru (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA, #111-035-144) (100 µl) ilave edilir ve 1 saat oda sıcaklığında inkübe edilir. Daha sonra plakalar üç kez TBS-T ile yıkanır. Her kuyucuğa 100 µL 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin çözeltisi (BioFX, #TMBW-1000-01), ardından 100 µl durdurma çözeltisi (BioFX, #LSTP-1000-01) ilave edilir. Plakalar bir SpectraMax M5 plaka okuyucusunda (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) 450 nm'de okunur ve numune değerleri SOFTmax Pro 4.8 yazılımı (Molecular Devices) kullanılarak belirlenir.
- 10 Sonuçlar Tablo 8'de gösterilmektedir.

Tablo 8

c-Met Antikorları, HGF ve Agonist Mab 5D5'in A549 Hücrelerinde c-Met Fosforilasyonu Üzerindeki Etkisi

Ab Kons. (µg/mL)	p-Met sinyal C8-H241	p-Met sinyal C8-6	p-Met sinyal hlgG4
30	0.333	0.272	0.061
10	0.418	0.334	0.077
3.333	0.450	0.328	0.068
1.113	0.465	0.365	0.087
0.370	0.340	0.211	0.082
0.123	0.304	0.127	0.067
0.041	0.130	0.125	0.268
0.014	0.078	0.105	0.074
0.005	0.074	0.070	0.074
0.002	0.070	0.081	0.117
HGF Kons. (ng/mL)	p-Met sinyal	Ab Kons. (ng/mL)	p-Met sinyal Mab 5D5
300	10.615	5	3.290
100	6.129		
33.33333	2.267		
11.11111	1.0667		
3.703704	0.461		
1.234568	0.211		
0.411523	0.142		
0.137174	0.128		
0.045725	0.100		
0.015242	0.148		

Veriler HGF ve agonist c-Met Mab 5D5'in c-Met fosforilasyonunu kuvvetle stimüle ettiğini, buradaki c-Met Mab C8-H241 ve C8-6'nın c-Met fosforilasyonunu zayıf bir şekilde stimüle ettiğini göstermektedir. HCT116, H460 ve MDA-MB-231 hücre hatlarında benzer sonuçlar elde edilir.

- 5 Mab D11-8B8 benzer sonuçlar verir.

Ornek 7

c-Met Antikorları HGF'nin Yol Açtığı c-Met Fosforilasyonunu inhibe eder

HGF'nin c-Met'e bağlanması c-Met moleküllerinin tirozin fosforilasyonu ve c-Met sinyal yolunun aktivasyonu ile sonuçlanır. Bu örnekte, HGF'ye duyarlı olan beşeri kolon kanseri hücre hattı HCT116, c-Met'in tirozin kalıntıları 1230, 1234 ve 1235'te HGF'nin yol açtığı fosforilasyonunun buradaki c-Met antikorları tarafından inhibisyonunu değerlendirmek için kullanılmaktadır.

- HCT116 hücreleri (ATCC, Manassas, VA, #CCL-247) McCoy 5A ortamı (Invitrogen, Carlsbad, CA, #16600-082) artı %10 (hacim/hacim) fetal sıgır serumu (FBS) (Invitrogen, #10082-147) içeren penisilin/streptomisin (Invitrogen, #15140-122) içinde 150,000 hücre/mL'ye kadar yeniden süspansiyon haline getirilir. Yeniden süspansiyon haline getirilmiş HCT116 hücreleri (0.2 mL) 30,000 hücre/kuyucuk seviyesinde 96 kuyucuklu mikrotitre plakalarına (Corning, Lowell, MA, #3596) ilave edilir ve sonra hücreler 48 saat 37°C'de %5 (hacim/hacim) CO₂ altında inkübe edilir. Daha sonra kültür ortamı aspire edilir ve hücreler 24 saat 37°C'de %5 (hacim/hacim) CO₂ altında 100 µL McCoy 5A ortamı artı %0.1 (ağırlık/hacim) BSA içeren penisilin/streptomisin içinde aç bırakılır. 25 µL sodyum azit (nihai konsantrasyon %0.01 (ağırlık/hacim)) (Sigma, #S2002) ilave edildikten sonra hemen McCoy 5A ortamı artı %0.1 (ağırlık/hacim) BSA içeren penisilin/streptomisine 25 µL 8X c-Met antikor seyreltileri ilave edilir ve hücreler 30 dakika 37°C'de %5 (hacim/hacim) CO₂ altında inkübe edilir. Her kuyucuğa 200 ng/mL nihai konsantrasyonda 50 µL HGF ilave edilir ve kuyucuklar 15 dakika daha 37°C'de %5 (hacim/hacim) CO₂ altında inkübe edilir. Daha sonra ortam aspire edilir ve 50 µL hücre liziz tamponu ilave edilir (10 mM Tris (Invitrogen, #15567-027), 150 mM NaCl, 2 mM etilendiamintetraasetik asit (EDTA) (Invitrogen, #15575-038), 50 mM NaF (Sigma, #S1504), %1 (hacim/hacim) oktilfenoksi polietoksi etanol (TRITON®-X100; Sigma, #T8787), 2 mM sodyum ortovanadat (EMD Chemicals, Gibbstown, NJ, #567540) ve EDTA içermeyen tam proteaz inhibitörü (Roche, Basel, İsviçre, #11836170001). Hücreler

liziz tamponunda oda sıcaklığında 15-30 dakika inkübe edilir. Hücre lizatları aşağıdaki gibi ELISA'yla c-Met tirozin fosforilasyonu açısından tahlil edilir.

c-Met yakalama antikorlu kaplama tamponunda (BioFX, Glendora, CA, COAT-1000-01) 2 µg/mL'ye seyreltilir. ELISA plakalarına (Greiner Bio-One, Monroe, NC, #655081)

- 5 kuyucuk başına 110 µL seyreltilmiş antikor ilave edilir ve plakalar gece boyunca 4°C'de inkübe edilir. Kuyucuklar aspire edilir, iki kez TBS-T ile yıkanır ve sonra 1 saat 200 µL blokaj tamponuyla (TBS-T artı % 2 (ağırlık/hacim) BSA) bloke edilir. Plakalar iki kez TBS-T ile yıkanır. Daha sonra 25 µL hücre lizatı artı 75 µL blokaj tamponu veya 100 µL MKN45 hücre lizatı seyreltileri (bir standart olarak, blokaj tamponuyla seyreltilmiş) ilave
- 10 edilir ve plakalar 2 saat oda sıcaklığında inkübe edilir. Daha sonra plakalar dört kez TBS-T ile yıkanır. Daha sonra her kuyucuğa blokaj tamponu içinde 0.5 µg/mL pYpYpY1230/1234/1235 c-Met poliklonal antikorlu (Invitrogen, #44-888G) (100 µl) ilave edilir ve plakalar 2 saat oda sıcaklığında inkübe edilir. Daha sonra plakalar dört kez TBS-T ile yıkanır. Daha sonra blokaj tamponu içinde 1/12,000 oranında seyreltilmiş peroksidazla
- 15 konjuge keçi anti tavşan IgG poliklonal antikorlu (100 µL) (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA, #111-035-144) ilave edilir ve karışım 1 saat oda sıcaklığında inkübe edilir. Daha sonra plakalar altı kez TBS-T ile yıkanır. Her kuyucuğa 100 µL 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin çözeltisi (BioFX, #TMBW-1000-01), ardından 100 µL durdurma çözeltisi (BioFX, #LSTP-1000-01) ilave edilir. Plakalar bir SpectraMax 190
- 20 plaka okuyucusu (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) kullanılarak 570 nm düzeltmeyle 450 nm'de okunur. Standart eğri 4 parametrelili analiz kullanılarak oluşturulur ve numune değerleri SOFTmax Pro 3.1.2 yazılımı (Molecular Devices) kullanılarak belirlenir.

c-Met tirozin fosforilasyonu inhibisyon yüzdesi c-Met antikorlu ilavesi olmadan (% 0 inhibisyon) HGF işleminin ortalamasına ayarlanır ve %100 inhibisyon sodyum azit

25 işleminin (HGF veya c-Met antikorlu işlemi yok) ortalamasına ayarlanır.

Tablo 9'da standart hatalarla birlikte üç deney için deney başına üç işlemin ortalaması gösterilmektedir. Veriler bu buluşun altı c-Met antikorundan beşinin beşeri IgG2 ve IgG4 izotip kontrolleriyle kıyaslandığında c-Met'in HGF'nin yol açtığı tirozin fosforilasyonunu önemli ölçüde inhibe ettiğini göstermektedir.

Tablo 9

HGF'nin Yol Açtığı c-Met Tirozin Fosforilasyonunun C8- ve D11- Antikorlarıyla İnhibisyon Yüzdesi													
Antikor dozları													
		10 µg/mL		2 µg/mL		0.4 µg/mL		0.08 µg/mL		0.016 µg/mL		0.0032 µg/mL	
Ab işlemi	izotip	ort.	sthata	ort.	sthata	ort.	sthata	ort.	sthata	ort.	sthata	ort.	sthata
D11-8B8	IgG2	19.56	4.68	40.74	8.24	35.04	6.43	10.52	7.41	-6.68	9.48	-10.37	6.79
D11-C27G3	IgG2	1.25	7.55	31.78	7.71	38.10	4.97	20.79	5.72	5.73	8.95	9.72	7.09
D11-S17Y	IgG2	16.73	8.72	31.39	6.43	15.91	6.05	-3.24	10.54	2.53	8.52	9.48	8.51
C8-H241	IgG4	60.08	5.27	62.20	2.10	59.09	3.05	22.09	4.92	14.68	12.40	-12.33	10.18
C8-co-16	IgG4	65.40	3.94	58.96	3.37	45.08	3.44	9.77	9.14	-2.89	10.95	-10.72	5.41
C8-6	IgG4	14.88	10.78	27.94	3.80	16.83	4.36	7.79	7.68	-6.06	8.84	-11.34	8.65
5D5	mIgG1	64.12	3.31	63.75	4.44	42.55	4.27	11.87	7.73	-3.50	9.70	-6.07	5.68
hIgG2	izotip kontrol	6.24	5.31	17.53	5.74	9.31	6.56	-1.58	8.16	9.49	6.77	-10.21	6.78
hIgG4	izotip kontrol	-1.47	5.76	-6.62	9.07	-16.07	7.01	-21.70	9.09	-7.96	10.97	-14.40	7.37
mIgG1	izotip kontrol	5.46	6.31	9.76	9.27	13.43	8.18	-10.59	10.31	-5.42	10.53	-9.76	8.42
		ort	sthata										
işlem yok		100.00	0.98										
HGF	200 ng/mL	0.00	2.76										
ELISA ile ölçüldüğünde HGF uyarımlı fosfo-Met inhibisyon %'si													

Ornek 8

c-Met Antikorlarının c-Met'in İçselleştirilmesine Yol Açması

Bu örnekte açıklanan deneylerde, buradaki c-Met antikorlarının hücre yüzeyi c-Met moleküllerine bağlandığını ve c-Met'in içselleştirilmesine yol açtığını göstermek için floresanla aktive edilen hücre sıralama (FACS) analizi kullanılır. Kullanılan MKN45 hücreleri yapısal olarak yüksek seviyelerde total c-Met eksprese eder ve MET geni amplifikasyonunun bir sonucu olarak HGF'den bağımsız c-Met fosforilasyonu gösterir. c-Met'in içselleştirilmesi c-Met bozunmasına yol açarak (Örnek 10 ve 19'a bakınız), c-Met sinyal yolunun inhibisyonuyla sonuçlanıyor gibi görünmektedir.

- 5 6 kuyucuklu doku kültürü plakalarının (Costar, #3598) kuyucukları 2 mL kültür ortamı (RPMI-1640 (Invitrogen, #11835); %10 (hacim/hacim) FBS (Invitrogen, #10082); 2 mM L-glutamin (Invitrogen, #25030); 100 U/500mL penisilin G ve 100 µg/500 mL streptomiscin (Invitrogen, #15140)) içinde 1.5×10^5 beşeri mide tümörü MKN45 hücreleriyle (Japan Health Sciences Foundation, Health Science Research Resource Bank, #JCRB0254) tohumlanır. Plakalar 24 saat 37°C'de %95 bağıl nem ve %5 (hacim/hacim) CO₂ altında inkübe edilir. Daha sonra antikorlar 5 µg/mL nihai konsantrasyonunda kuyucuklara ilave edilir. Gece boyunca işlemiden geçirildikten sonra kültür ortamı kuyucuklardan çıkarılır ve 1 mL enzimsiz hücre ayrıştırma çözeltisiyle (Chemicon, #S-014-B) değiştirilir. Hücreler 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra santrifüj tüpleri içine toplanır ve bir kez kültür ortamında yıkandıktan sonra bağlama tamponunda (%1 (ağırlık/hacim) BSA ve %0.01 (ağırlık/hacim) sodyum azit içeren DPBS) içinde bir kez daha yıkanır. Hücrelerin boyanmasından önce, buradaki c-Met antikorlarından farklı bir epitopu tanıyan bir c-Met antikoruna bir Alexa Fluor 488 Monoklonal Antikor İşaretleme Seti (Molecular Probes, Eugene, OR, #A-20181) tedarikçinin talimatlarına göre kullanılarak işaretlenir. Hücrelere 2 µg/mL Alexa Fluor 488'le işaretlenmiş antikor içeren 100 µL bağlama tamponu ilave edildikten sonra 60 dakika buz üzerinde inkübe edilir. Daha sonra hücreler bağlama tamponuyla bir kez yıkanır ve 2 µg/mL propidyum iyodür (ölü hücreleri boyamak için) içeren DPBS içinde yeniden süspansiyon haline getirilir. Hücre yüzeyinde kalan c-Met moleküllerinin miktarı FACS analiziyle analiz edilir ve her numune için 10,000 olay elde edilir.

Hücre yüzeyindeki ortalama floresan yoğunluğu c-Met antikorlarıyla işlemiden sonra hücre yüzeyinde kalan c-Met moleküllerinin miktarını yansıtır.

Bir temsil edici deneyden elde edilen veriler Tablo 10'da gösterilmektedir.

Tablo 10

C8- ve D11- Antikorlarının FACS Analiziyle Belirlendiği Üzere c-Met'in İçselleştirilmesi Üzerindeki Etkisi										
	Ortalama Floresans									
Antikor (ug/mL)	hIgG2	D11-8B8	D11-C27G3	D11-S17Y	hIgG4	C8-6	C8-H241	C8-co16	mIgG	5D5
5.00	130.25	44.66	51.09	56.35	135.03	67.88	57.63	56.16	136.47	92.87

Veriler buradaki c-Met antikorlarıyla işlemenden geçirilen hücrelerin yüzeyindeki ortalama floresan yoğunluğunun, karşılık gelen bir IgG izotip kontrol antikoruyla veya mIgG antikoruyla işlemenden geçirilen hücrelerdekinden daha düşük olduğunu gösterir, bu c-Met antikorlarının c-Met'in içselleştirilmesine yol açtığına işaret eder. Ayrıca, buradaki c-Met antikorlarıyla işlemenden geçirilen hücrelerin yüzeyindeki ortalama floresan yoğunluğu kontrol agonisti c-Met antikoru 5D5'le işlemenden geçirilen hücrelerdekinden daha düşüktür. İçselleştirilme %'si aşağıdaki gibi hesaplanabilir:

- 10 İçselleştirilme %'si = $[1 - (\text{test antikorunun ortalama floresansı} / \text{izotop antikoru kontrolünün ortalama floresansı})] \times 100$

İçselleştirilme verileri, buradaki antikorların beşeri c-Met'in dimerizasyonuna yol açtığını düşündürmektedir. Örnek 9 ve 19'daki veriler C8- ve D11- antikorlarının da c-Met'in bozunmasına yol açtığını ve fosforilasyonunu azalttığını göstermektedir.

- 15 Tamamlayıcı içselleştirilme sonuçları, MKN45 ve Caki-1 hücrelerinde floresanla işaretlenmiş murin C8 antikoru kullanılarak eşodaklı mikroskopiyile elde edilir.

C8-H241, C8-6, C8-co-16 ve murin D11 antikorları kullanılarak, sinomolgus maymunu c-Met'i kodlayan nükleik asitle transfekte edilmiş sinomolgus maymunu NIH3T3 hücrelerinde benzer içselleştirilme sonuçları elde edilir.

- 20 C8-H241, C8-6, C8-co-16 ve optD11 antikorları, beşeri c-Met kinaz alanı mutasyonu M1149T'yi kodlayan nükleik asitle transfekte edilmiş NIH3T3 hücrelerinde de c-Met'in içselleştirilmesine yol açar. C8-H241, C8-6, C8-co-16 ve murin D11 antikorları c-Met

membran yanı alan mutasyonu R988C'yi içeren küçük hücreli olmayan akciğer kanseri H1437'de de c-Met'in içselleşmesine yol açar.

Ornek 9

/In Vitro Liganddan Bağımsız Tümör Hücresi Proliferasyonunun Antikorla

5 İnhibisyonu

Bu tahlilde HGF ligandının yokluğunda HGF'den bağımsız MKN45 hücrelerinde c-Met antikorlarının in vitro tümör hücresi büyümesi inhibisyonu incelenmektedir.

c-Met ve izotip kontrol antikorları Tablo 11'de gösterilen nihai konsantrasyonların 2 katına ulaşmak için kültür ortamıyla (RPMI-1640 (Invitrogen, #11835), %10 (hacim/hacim) FBS, 10 2 mM L-glutamin (Invitrogen, #25030), 100 U/500mL penisilin G ve 100 µg/500 mL streptomisin (Invitrogen, #15140)) seyreltilir ve 96 kuyucuklu doku kültürü plakalarının (PerkinElmer#1450-517) her kuyucuğna 50 µL 2X antikor çözeltileri ilave edilir. MKN45 hücreleri (Japan Health Sciences Foundation, Health Science Research Resource Bank, #JCRB0254) yukarıda sözü edilen ortamda tutulur ve aynı ortamda 1×10^5 hücre/mL'ye 15 yeniden süspansiyon haline getirilir. Her kuyucuğa 5×10^3 hücre/kuyucuğa ulaşmak için bu MKN45 süspansiyonundann 50 µL ilave edilir. Daha sonra plakalar 48 saat 37°C 'de %95 bağıl nem ve %5 (hacim/hacim) CO_2 altında ilave edilir. Kültürün son altı saatinde, hücrelere ^3H -timidinle (MP Biomedicals, Solon, OH #24066) 1 µCi/kuyucuk seviyesinde 37°C 'de, %95 bağıl nem, %5 (hacim/hacim) CO_2 altında darbe uygulanır. Daha sonra 20 ortam çıkarılır ve hücreler bir kez DPBS'yle yıkanır. Bundan sonra her kuyucuğa 200 µL Optiphas Supermix (PerkinElmer, #1200-439) ilave edilir. Plakalar kapatılır ve en az bir saat oda sıcaklığında inkübe edilir. Hücrelere giren ^3H -timidin bir dakika bir sintilasyon sayacı kullanılarak sayılır.

Temsil edici bir deneyden elde edilen veriler Tablo 11'de gösterilmektedir.

Tablo 11

MKN45 Hücrelerine ³ H-Timidin Girişinin Çeşitli C8- ve D11- Antikorlarıyla İnhibisyonu										
AVG CPM										
Antikor dozu (ng/mL)	hIgG2	D11-8B8	D11-27G3	D11-S17Y	hIgG4	C8-co16	C8-H241	C8-6	mIgG	5D5
20000.0	45054	11239	18407	19752	50628	11738	11425	16387	52448	35086
3333.3	49384	11441	16920	21239	54026	12956	12063	18216	53670	38195
555.6	51720	11925	15987	20936	54204	13476	13217	18334	54655	39496
92.6	47562	11094	14550	21911	54264	12419	11962	23041	52241	39607
15.4	50488	24402	28685	39695	53806	22528	23150	44771	51329	49766
2.6	48491	44741	47034	49868	54765	53465	48761	54598	55463	54967
0.4	46468	43334	43998	45304	55330	47485	46645	53389	51549	49563
0.1	44822	41578	41515	44566	53856	45725	44418	51668	47709	51883
0.0	50427	50427	44213	44213	48708	51478	51478	48708	50300	50300
STDHata										
20000.0	2927	114	1265	1206	2491	262	654	282	1845	764
3333.3	2462	732	641	689	1421	388	386	314	1310	1491
555.6	2166	605	578	267	4364	281	341	1116	1192	534
92.6	1835	22	150	564	1733	352	636	475	1036	370
15.4	2144	2024	941	463	1376	207	1771	422	1281	968
2.6	2587	1914	1133	1910	1978	2164	1945	444	919	2577
0.4	2041	650	1177	2551	1501	378	2392	162	438	1943
0.1	1628	1734	1817	2402	678	1340	2442	1589	2092	3143
0.0	1203	1203	841	841	1377	886	886	1377	777	777

Kısaltmalar: ORT = ortalama; CPM = dakikada sayım; STDHata = Standart Hata

Bu veriler bu buluşun çeşitli C8- ve D11- c-Met antikorlarının, ^3H -timidin girişindeki bir azalmanın gösterdiği gibi HGF'den bağımsız MKN45 hücre proliferasyonunu inhibe ettiğini göstermektedir. Her biri yapısal olarak c-Met aşırı ekspresyonu ve fosforilasyonu gösteren SNU5 ve NUGC-4 tümör hücrelerinde benzer sonuçlar elde edilir.

5 **Örnek 10**

c-Met Antikorlarına Yanıt Olarak Fosforillenmiş ve Total c-Met'in Azalması ve c-Met Hücre Dışı alanının Dökülmemesi

Bu örnekte MKN45 hücrelerinin bu buluşun c-Met antikorlarıyla işleminden geçirilmesinin, fosforillenmiş c-Met (p-Met) ve total c-Met'te azalmayla sonuçlanıp sonuçlanmadığı incelenmektedir. Ayrıca, bu tahlil, c-Met antikoru işleminin MKN45'le koşullandırılmış ortam içine c-Met ECD dökülmesine yol açıp açmadığını belirlemek için kullanılır.

c-Met ve izotip kontrol antikorları Tablo 12'de gösterilen nihai konsantrasyonların 2 katına ulaşmak için kültür ortamıyla (RPMI-1640 (Invitrogen, #11835), % 10 (hacim/hacim) FBS (Invitrogen, #10082), 2 mM L-glutamin (Invitrogen, #25030), 100 U/500mL penisilin G ve 100 µg/500 mL streptomisin (Invitrogen, #15140)) seyreltilir ve 96 kuyucuklu doku kültürü plakalarının 5 (Costar, #3596) her kuyucuğna 50 µL 2X antikor çözeltisi ilave edilir. MKN45 hücreleri (Japan Health Sciences Foundation, Health Science Research Resource Bank, #JCRB0254) yukarıda belirtilen ortamda tutulur ve aynı ortamda 1×10^5 hücre/mL'ye yeniden süspansiyon haline getirilir. Her kuyucuğa 5×10^3 hücre-kuyucuğa ulaşmak için bu MKN45 yeniden süspansiyonundan 50 µL ilave edilir. Daha sonra plakalar 24 saat 37°C 'de %95 bağıl nem ve %5 (hacim/hacim) CO_2 altında inkübe edilir ve hücre lizatları Örnek 7'de açıklandığı gibi hazırlanır. Ayrıca, her işleminden koşullandırılmış ortam c-Met-ECD miktar tayini için alınır. Hücre lizatlarındaki p-Met ve total c-Met seviyeleri ELISA ile belirlenir ve lizat proteini konsantrasyonuna (BCA ile belirlendiği üzere, Pierce #23225) normalize edilir.

Fosforillenmiş c-Met

Tirozin kalıntıları 1230, 1234 ve 235'teki c-Met fosforilasyonu Örnek 7'de açıklandığı gibi belirlenir.

Total c-Met ve c-Met ECD Dökülmesi

Total c-Met ve c-Met ECD ELISA'ları için, bir c-Met yakalama antikoru kaplama tamponunda (BioFX, Glendora, CA, COAT-1000-01) 2 µg/mL'ye seyreltilir. ELISA

- plakalarına (Greiner Bio-One, Monroe, NC, #655081) kuyucuk başına 110 µL seyreltilmiş antikor ilave edilir ve plakalar gece boyunca 4°C'de inkübe edilir. Kuyucuklar aspire edilir, iki kez TBS-T ile yıkanır ve sonra 1 saat oda sıcaklığında 200 µL blokaj tamponuyla (TBS-T artı %2 (ağırlık/hacim) BSA) bloke edilir. Daha sonra plakalar iki kez TBS-T ile
- 5 yıkanır. Ardından, MKN45 hücre lizatları, MKN45'le koşullandırılmış ortam veya c-Met hücre dışı alanı (ECD) (DİZİ İD NO:75) (bir standart olarak) ilave edilir ve plakalar 2 saat oda sıcaklığında inkübe edilir. Plakalar daha sonra dört kez TBS-T ile yıkanır. Daha sonra her kuyucuğa blokaj tamponunda seyreltilmiş yakalama antikorundan farklı bir c-Met epitopunu bağlayan biyotinlenmiş bir ikinci biyotinlenmiş c-Met antikor (Mab 5D5) (100
- 10 µL, 0.5 µg/mL) ilave edilir ve plakalar 2 saat oda sıcaklığında inkübe edilir. Ardından plakalar dört kez TBS-T ile yıkanır. Blokaj tamponunda 1/12,000 oranında seyreltilmiş peroksidazla konjuge streptavidin (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA, #016-030-084) (100 µL) ilave edilir ve karışım 1 saat oda sıcaklığında inkübe edilir. Daha sonra plakalar altı kez TBS-T ile yıkanır. Her kuyucuğa 100 µL 3,3',5,5'-
- 15 tetrametilbenzidin çözeltisi (BioFX, #TMBW-1000-01), ardından 100 µL durdurma çözeltisi (BioFX, #LSTP-1000-01) ilave edilir. Plakalar bir SpectraMax 190 plaka okuyucusu (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) kullanılarak 570 nm düzeltmeyle 450 nm'de okunur. Standart eğri 4 parametrelili analiz kullanılarak oluşturulur ve numune değerleri SOFTmax Pro 3.1.2 yazılımı (Molecular Devices) kullanılarak belirlenir.
- 20 Tablo 12'de gösterildiği gibi, p-Met ve total c-Met ELISA verileri Mab C8-H241 işleminin p-Met'i en yüksek olarak %77 ve c-Met'i yaklaşık olarak %67 azalttığını ortaya koymaktadır. D11-8B8 işlemi p-Met'i en yüksek olarak yaklaşık %75 ve total c-Met'i %63 azaltır.
- Örnek 8'de belirtildiği gibi, bu veriler C8- ve D11- antikorlarının c-Met bozunmasına yol
- 25 açtığını ve c-Met fosforilasyonunu azalttığını göstermektedir.
- Tablo 12'deki veriler ayrıca C8-H241 ve D11-8B8 c-Met antikorlarıyla işlemin c-Met ECD'de yarıma ve dökülmeye yol açmadığını göstermektedir.

Tablo 12

MKN45 Hücre Lizatlarında ve Koşullandırılmış Ortamda C8- ve D11- Antikorlarının Fosforillenmiş c-Met, Total c-Met ve c-Met Hücre Dışı Alanının Dökülmesi Üzerindeki Etkisi								
MKN45 Fosforillenmiş c-Met İnhibisyon Yüzdesi								
	C8-H241		hIgG4		D11-8B8		hIgG2	
Mab Doz (ng/mL)	ort	stdsap	ort	stdsap	ort	stdsap	ort	stdsap
10000	77.0	2.4	-2.1	10.9	74.8	3.4	14.0	7.1
1000	74.1	1.3	11.1	9.7	72.8	2.0	-4.6	10.9
100	71.7	2.5	13.4	13.3	69.1	3.7	-7.6	24.4
10	42.3	3.0	5.8	11.3	37.6	5.5	6.1	11.0
	ort	stdsap						
işlem yok	0.0	8.0						
MKN45 Total c-Met İnhibisyon Yüzdesi								
	C8-H241		hIgG4		D11-8B8		hIgG2	
Mab Doz (ng/mL)	ort	stdsap	ort	stdsap	ort	stdsap	ort	stdsap
10000	63.1	1.6	-23.7	4.1	63.0	7.0	14.1	9.1
1000	66.7	4.3	10.4	16.0	62.7	0.6	-2.4	22.4
100	61.5	3.4	-3.7	14.4	62.9	2.5	7.3	9.1
10	32.3	4.9	-3.4	13.5	34.5	8.4	15.1	7.0
	ort	stdsap						
işlem yok	0.0	25.9						
MKN45'le Koşullandırılmış Ortamda c-Met ECD Seviyesi (ng/mL)								
	C8-H241		hIgG4		D11-8B8		hIgG2	
Mab Doz (ng/mL)	ort	stdsap	ort	stdsap	ort	stdsap	ort	stdsap
10000	5.1	0.5	7.4	0.7	6.2	0.2	7.0	0.1
1000	6.1	0.8	7.6	0.4	7.2	0.5	7.2	0.5
100	5.4	0.4	7.6	0.8	6.9	1.6	7.2	0.6
10	6.6	0.2	8.4	1.1	6.2	0.4	7.2	0.1
	ort	stdsap						
işlem yok	8.3	1.0						

Ornek 11**HGF'nin Yokluğunda Caki-1. Tümör Hücrelerinde Antikorların Agonist Aktivitesi**

Caki-1 renal karsinom hücreleri HGF'ye yanıt olarak çoğalır. Caki-1 hücrelerinde HGF'nin yokluğunda c-Met antikorlarıyla c-Met aktivasyonu bu örnekte bu buluşun c-Met antikorlarının agonist aktivitesini değerlendirmek için incelenmektedir.

96 kuyucuklu doku kültürü plakalarının kuyucukları, %10 (hacim/hacim) FBS, 2 mM L-glutamin (Invitrogen, #25030), 100 U/500mL penisilin G ve 100 µg/500 mL streptomisinle (Invitrogen, #15140) takviye edilmiş McCoy 5A kültür ortamı (Invitrogen, #16600) içinde 5,000 beşeri böbrek berrak hücreli karsinom Caki-1 hücresiyle (ATCC, #HTB-46)

tohumlanır. 24 saat kültürden sonra, hücreler 24 saat daha düşük serum ortamında (%0.5 (hacim/hacim) FBS) aç bırakılır. Daha sonra hücreler 24 saat 37°C'de, %95 bağıl nem, %5 (hacim/hacim) CO₂ altında Tablo 13'te gösterilen nihai konsantrasyonlarda düşük serum ortamında anti-c-Met ve kontrol antikorlarının varlığında kültürlenir. Kültürün son altı saatinde, hücrelere ³H-timidinle (MP Biomedicals, Solon, OH #24066) 1 µci/kuyucuk seviyesinde 37°C'de, %95 bağıl nem, %5 (hacim/hacim) CO₂ altında darbe uygulanır.

Daha sonra ortam çıkarılır ve hücreler bir kez DPBS'yle yıkanır. Bundan sonra her kuyucuğa 200 µL Optiphase Supermix (PerkinElmer, #1200-439) ilave edilir. Plakalar kapatılır ve en az bir saat oda sıcaklığında inkübe edilir. Hücrelere giren ³H-timidin bir dakika bir sintilasyon sayacı kullanılarak sayılır

Bir temsil edici deneyden elde edilen veriler Tablo 13'te gösterilmektedir.

Tablo 13

HGF'nin Yokluğunda Caki-1 Hücrelerinde C8- ve D11- Antikorlarının ³ H-Timidin Girişi Üzerindeki Etkisi										
ORT CPM										
Antikor dozu (ng/mL)	hIgG2	D11-8B8	D11-27G3	D11-S17Y	hIgG4	C8-co16	C8-H241	C8-6	mIgG	5D5
20000.0	14658	15866	16054	18616	13704	13112	12797	13194	14224	19893
3333.3	14034	15730	15765	17897	13023	13829	12702	13193	13469	19018
555.6	14048	13997	14536	16620	12393	11359	12116	13494	13200	20043
92.6	14113	13705	14718	15342	12934	11563	12142	12793	13761	15588
15.4	14473	13488	13836	14579	13271	12111	13020	13670	13638	11748
2.6	15517	14097	13325	14867	13858	13713	14407	14126	13766	12520
0.4	14341	14411	13596	14618	13412	14080	14142	14601	14357	12896
0.1	16947	15319	17690	15899	13547	15567	15530	16121	13797	14383
0.0	14992	14992	15237	15237	14622	13889	14622	13889	14531	14531
STDHata										
20000.0	398	737	549	345	219	642	268	96	465	807
3333.3	358	959	538	466	84	1086	380	382	927	954
555.6	343	809	705	284	478	437	216	4	397	505
92.6	428	502	728	237	447	292	445	212	706	394
15.4	232	737	729	160	487	267	305	107	514	318
2.6	386	173	295	404	339	299	291	711	91	221
0.4	357	568	508	392	317	556	656	281	331	323
0.1	262	550	1108	326	381	601	583	536	229	145
0.0	310	310	394	394	364	554	364	554	238	238
Kısaltmalar: ORT = ortalama; CPM = dakikada sayı; STDHata = Standart Hata										

Bu veriler c-Met antikorları C8-H241, C8-6, C8-co-16 ve D11-8B8'in, IgG izotip kontrolleriyle kıyaslandığında Caki-1 hücrelerinde timidin-[metil-³H] alımını önemli ölçüde arttırmadığını göstermektedir. D11-C27G3 ve D11-S17Y, IgG izotip kontrolüyle kıyaslandığında Caki-1 hücrelerinde timidin-[metil-³H] alımında düşük, değişken, ama istatistiksel olarak anlamlı bir stimülasyon gösterir. Kontrol c-Met agonist antikor 5D5 aynı deney koşulları altında Caki-1 hücrelerinde buradaki c-Met antikorlarının daha kuvvetli timidin-[metil-³H] alımına yol açar.

Ornek 12

HGF'nin Yokluğunda Antikorların Birincil Beşeri Hepatositlerde Agonist Aktivitesi

- 10 Buradaki c-Met antikorlarının agonist aktivitesi ayrıca HGF'nin yokluğunda HGF'yle duyarlı birincil beşeri hepatositlerde (PHH) değerlendirilir.
- Dondurularak saklanmış, kaplanabilir PHH hücreleri (KQG Celsis, Şikago, IL, RD#00002) 37°C'de çözündürülür ve InVitroGRO CP ortamında (Celsis, #Z99029) torpedo antibiyotik karışımıyla (Celsis, #Z99000) 175,000 hücre/mL'ye yeniden süspansiyon haline getirilir.
- 15 Kolajen I kaplı 96 kuyucuklu mikrotitre plakalarına (BD, Franklin Lakes, NJ, #354407) 35,000 hücre/kuyucuk seviyesinde kuyucuk başına 0.2 mL yeniden süspansiyon haline getirilmiş PHH hücresi ilave edilir ve hücreler 24 saat 37°C'de %5 (hacim/hacim) CO₂'de inkübe edilir. Daha sonra kültür ortamı aspire edilir ve kuyucuk başına torpedo antibiyotik karışımı artı %0.1 (ağırlık/hacim) BSA içeren 150 µL InVitroGRO HI ortamı (Celsis,
- 20 #Z99009), artı torpedo antibiyotik karışımı artı %0.1 (ağırlık/hacim) BSA içeren InVitroGRO HI Ortamı içinde 10 µg/mL ila 0.0032 µg/mL nihai konsantrasyonunda 50 µL c-Met ve kontrol antikorları veya 200 ng/mL nihai konsantrasyonda HGF ilave edilir. Hücreler 48 saat 37°C'de %5 (hacim/hacim) CO₂'de inkübe edilir ve inkübasyonun son 6 saatinde kuyucuk başına 10 µL 0.1 mCi timidin-[metil-³H]/mL (MP Biomedicals, Solon,
- 25 OH, #24066) ilave edilir. Tahlil plakaları -70°C'de dondurulur, 37°C'de çözündürülür ve bir Filtermate Harvester (Perkin Elmer) kullanılarak UniFilter-96, GF/C plakaları (Perkin Elmer, Waltham, MA, #6005174) üzerine toplanır. UniFilter plakaları kurutulur, kuyucuk başına 20 µL Microscint 0 sintilan (Perkin Elmer, #6013611) ilave edilir ve plakalar bir 1450 Microbeta sıvı sintilasyon sayacında (Perkin Elmer) sayılır.
- 30 Tablo 14 standart sapmalarla birlikte üçlü işlemlerin ortalamasını göstermekte ve üç tekrar deneyini temsil etmektedir.

Tablo 14

HGF'nin Yokluğunda Birincil Beşeri Hepatositlerde ³ H-Timidin Girişi Üzerinde Çeşitli C8- ve D11- Antikorlarının Etkisi													
Dozlar:													
		10 µg/mL		2 µg/mL		0.4 µg/mL		0.08 µg/mL		0.016 µg/mL		0.0032 µg/mL	
Ab işlemi	izotip	ort.	stsap	ort.	stsap	ort.	stsap	ort.	stsap	ort.	stsap	ort.	stsap
D11-8B8	IgG2	1703.7	140.1	1427.0	120.3	1231.0	232.4	1122.7	188.3	715.3	25.8	611.0	61.5
D11-C27G3	IgG2	2145.7	171.0	1874.0	443.4	1753.0	199.8	1283.3	131.6	892.0	109.3	692.7	23.0
D11-S17Y	IgG2	3155.0	594.2	2566.0	173.1	1911.0	348.3	1458.7	132.7	919.7	47.5	726.3	131.7
C8-H241	IgG4	671.0	61.0	710.3	81.8	681.3	13.7	669.3	77.0	630.0	37.2	625.0	65.5
C8-co-16	IgG4	952.0	36.0	822.0	88.4	670.0	23.3	767.3	12.6	715.7	12.5	828.7	85.2
C8-6	IgG4	1042.3	91.3	892.3	107.0	801.7	77.4	792.3	48.4	769.7	109.9	736.3	43.1
5D5	mIgG1	4978.0	59.9	4912.3	287.7	3763.7	292.1	3320.7	40.1	1716.3	324.1	821.7	175.3
hIgG2	izotip kontrol	650.0	39.4	643.7	11.7	711.7	16.6	836.0	61.0	748.3	57.7	799.7	80.3
hIgG4	izotip kontrol	647.3	77.1	735.0	33.8	717.3	19.4	819.0	44.2	848.3	75.1	806.7	79.7
mIgG1	izotip kontrol	616.7	24.8	581.0	81.8	601.0	82.0	596.0	78.6	588.7	43.0	675.0	73.0
		ort.	stsap										
HGF	200 ng/mL	6292.7	733.0										
işlem yok		615.1	83.9										

- Veriler, IgG izotip kontrolleriyle karşılaştırıldığında, buradaki c-Met antikorları C8-H241'in PHH hücrelerine timidin-[metil-³H] alımını önemli ölçüde arttırmadığını göstermektedir; C8-6, C8-co-16, D11-8B8, D11-C27G3 ve D11-S17Y timidin-[metil-³H] alımı için düşük, değişken, ama istatistiksel olarak anlamlı bir stimülasyon gösterir. Ancak,
- 5 buradaki c-Met antikorlarının agonist aktivitesi, 5D5 kontrol c-Met antikorunkinden anlamlı olarak daha düşüktür. Agonist antikor 5D5, PHH proliferasyonunu, 3 µg/mL konsantrasyonunda 5 kat artışla doza bağımlı bir şekilde stimüle eder. 200 ng/mL'de, HGF ³H-timidin alımında 5 kat artışı stimüle eder. Mab C8-H241 10 µg/mL seviyesinde kullanıldığında bile proliferasyona yol açmaz.
- 10 Yine HGF stimülasyonuna yanıt olarak çoğalan beşeri renal epitelyal HK2 hücrelerinde benzer sonuçlar elde edilir.

Ornek 13

HGF'nin Yokluğunda HepG2 Hücrelerinde Tübüler Morfogenez Üzerinde Antikorların Etkisi

- 15 HGF bazal membranın bileşenlerini içeren hücre dışı bir matris malzemesi olan Matrigel™'de (Becton-Dickinson, #354234) üretilen HepG2 hücrelerinde tübüler morfolojik değişikliklere yol açar. Bu deneyde, HepG2 hücrelerinde tübüler morfolojik değişikliklerin uyarılmasında bu buluşun antikorlarının HGF'ye benzer agonist aktivitesi değerlendirilmektedir.
- 20 HepG2 hücreleri (ATCC, #HB-8065) %10 FBS ile takviye edilmiş DMEM içinde kültürlenir. %10 (hacim/hacim) FBS, 2 mM L-glutamin (Invitrogen, #25030), 100 U/500mL penisilin G ve 100 µg/500 mL streptomisinle (Invitrogen, #15140) takviye edilmiş Opi-MEMI (Invitrogen, #31985) içinde seyreltilmiş 100 µL Matrigel™ çözeltisi (Matrigel™, Becton-Dickinson) 96 kuyucuklu doku kültürü plakalarının (Costar, #3596)
- 25 kuyucuklarına ekilir. Matrigel™ çözeltisi katılaştıktan sonra, %10 serumla takviye edilmiş 50 µL kültür ortamı içindeki 2000 HepG2 hücresi ilave edilir. Daha sonra, c-Met ve kontrol antikorları 50 µg/mL nihai konsantrasyonda veya HGF 50 ng/mL nihai konsantrasyonda hücrelere ilave edilir. Hücreler 4 gün 37°C'de %5 (hacim/hacim) CO₂ içeren nemli bir atmosferde üretilir. 4 gün sonra, üstteki ortam çıkarılır ve PBS içinde 1
- 30 mg/mL p-İyodonitro-tetrozolyum moruyla (50 µL) (Sigma, #18377) değiştirilir ve hücreler

48 saat daha aynı koşullar altında inkübe edilir. Boyanmış 32 mm alanın fotoğrafları alınır ve Image-Pro Plus 6 (Media Cybernetics, Inc., MD) kullanılarak analiz edilir.

50 µg/mL'deki antikorlar için temsil edici bir deneyden elde edilen veriler Tablo 15'te verilmektedir.

5

Tablo 15

C8- Antikorlarının HepG2 Hücrelerinde Tübüler Morfogeneze Üzerindeki Etkisi							
Antikor (50ug/ml)	hlgG4	C8-H241	C8-co16	C8-6	mlgG	5D5	HGF (50ng/ml)
Tübüler Morfogeneze	stimülasyon yok	stimülasyon yok	stimülasyon yok	1.2	1.2	4.9	5.4
Agonist aktivite							
(kat stimülasyon)							

Bu veriler HGF ve kontrol agonist antikor 5D5'in izotip kontrolüne kıyasla HepG2 hücrelerinde yaklaşık olarak 5 kat tübüler morfolojik değişikliğe yol açtığını göstermektedir. Buna karşılık, buradaki c-Met antikorları C8-H241 ve C8-co16, aynı koşullar altında HepG2 hücrelerinde önemli tübüler morfolojik değişikliklere yol açmaz, c-Met antikoru C8-6 ise sadece düşük bir düzeyde stimülasyona yol açar.

10

Mab D11-8-B8'le benzer sonuçlar elde edilir.

Ornek 14

Antikorların Hücre Motilitesi Üzerindeki Etkisi: DU145 Saçılım Tahlili ve H441 Hücre Kazıma Tahlili

15 HGF ile stimülasyon üzerine, DU145 prostat kanseri hücreleri birbirinden ayrılır ve bir konfluent hücre tabakasında yapılan bir çizik içine H411 hücreleri dolar. H441 hücreleri yüksek bir c-Met ekspresyonu seviyesi ve bu reseptörün yapısal fosforilasyonunu gösterir, ama hâlâ HGF'ye duyarlıdır. Aşağıdaki deneylerde bu buluşun antikorlarının bir saçılım tahlilinde ve bir kazıma tahlilinde hücre motilitesi üzerindeki agonist etkisi

20 değerlendirilmektedir.

DU145 Hücre Saçılım Tahlili

37°C’de % 5 (hacim/hacim) CO₂ altında MEM ortamı (Invitrogen, #11095) + % 10 FBS (Invitrogen, #10082) içinde üretilen DU145 hücreleri (ATCC, # HTB-81) siyah ViewPlate 96 kuyucuklu plakaları (Perkin Elmer, Waltham, MA, #6005182) içinde 70 µL hacimde 2 x 10³ hücre/kuyucuk seviyesinde ekilir. c-Met ve kontrol antikorları hücre kültürü ortamında seyreltilir ve 20 µg/mL nihai konsantrasyonda ilave edilir ve HGF 20 ng/mL nihai konsantrasyonda ilave edilir (her biri on iki kopya olarak 30 µl hacimde) ve 48 saat 37°C’de % 5 (hacim/hacim) CO₂ altında inkübe edilir. Daha sonra ortam aspire edilir ve hücreler 15 dakika oda sıcaklığında %2 formaldehit içinde sabitlenir. Kuyucuklar üç kez PBS’yle yıkanır ve oda sıcaklığında 30 dakika 50 µL 5 U/mL Alexa Fluor 488 faloidin (Invitrogen, #A12379) ilave edilir. Kuyucuklar üç kez PBS ile yıkanır ve 50 µL 15 µM propidyum iyodür (Invitrogen, #P3566) ilave edilir. Plaka daha sonra kolonilerdeki DU145 hücreleri yüzdesini belirlemek için Jockyss yazılımı kullanılarak bir Acumen Explorer™ lazer taraması floresan mikropilaka sitometresinde (TTP Labtech Ltd, Cambridge, MA) okunur.

Sonuçlar Tablo 16’da gösterilmektedir.

Tablo 16

C8- ve D11- Antikorlarının DU145 Hücre Saçılımı Üzerindeki Etkisi									
	Kolonilerdeki DU145 Hücreleri Yüzdesi								
	C8-H241	C8-6	C8-co-16	hIgG4	D11-8B8	hIgG2	5D5	HGF	İşlem yok
Ort.	24.13	23.29	23.69	24.41	25.57	25.67	14.45	8.15	26.53
Std. Sap.	3.35	1.37	2.30	2.02	1.98	3.13	0.34	1.23	2.44

Veriler agonist c-Met Mab 5D5 ve HGF’nin DU145 hücre saçılımını/motilitesini önemli ölçüde stimüle ettiğini, ama c-Met Mab C8-H241, C8-co-16, C8-6 veya D11-8B8’nin etmediğini göstermektedir.

H441 Hücre Kazıma Tahlili

H441 Kazıma tahlili için, H441 hücreleri (ATCC, # HTB-174) RPMI-1640 (Invitrogen, #11835); % 10 (hacim/hacim) FBS (Invitrogen, #10082); 2 mM L-glutamin (Invitrogen,

#25030); 100 U/500mL penisilin G ve 100 µg/500 mL streptomisin (Invitrogen, # 15140)) içinde üretilir ve 6 kuyucuklu doku kültürü plakalarının (Costar, #3598) kuyucuklarında kültür ortamı içinde 1×10^6 hücre/2mL/kuyucuk seviyesinde tohumlanır. Plakalar 3 gün %95 bağıl nem ve %5 (hacim/hacim) CO₂ altında inkübe edilir. Daha sonra ortam aspire edilir ve hücreler 16 saat düşük serum ortamında (RPMI ortamı içinde %0.5 (hacim/hacim) FBS) aç bırakılır. Kuyucukların dibindeki konfluent hücre tabakaları, her kuyucuğun ortasında 5 mL'lik pipet uçlarıyla kazınır ve yüzen hücreler aspire edilir. Kalan hücreler düşük serum ortamıyla 1 kez yıkanır. Düşük serum ortamı ilave edilir ve kazınmış alanların görüntüsü 4X objektifi olan bir aydınlık alan mikroskopu kullanılarak alınır. Bu açıklıklar 0 saatte Açıklıklar olarak tanımlanır.

Test antikorları hücrelere 10 µg/mL nihai konsantrasyonunda ilave edildikten sonra 16 saat 37°C'de %5 (hacim/hacim) CO₂ altında inkübe edilir. HGF 200 ng/mL nihai konsantrasyonda test edilir. Her tedavi grubu en azından çift kuyucuklarda test edilir. Kazınmış alanların görüntüsü yine 16 saatte bir aydınlık alan mikroskopu kullanılarak alınır. Bu açıklıklar 16 saatteki Açıklıklar olarak tanımlanır.

c-Met antikorlarının veya HGF'nin H441 hücrelerinin açıklıkları doldurmak için hareketi üzerindeki etkisi aşağıdaki gibi hesaplanır:

$$\text{Ortalama değişiklik yüzdesi} = \frac{\text{Tedavi grubu (0 saatte Açıklık - 16 saatte Açıklık)}}{\text{Ortalama ortam grubu (0 saatte Açıklık - 16 saatte Açıklık)}} \times 100$$

Sonuçlar Tablo 17'de gösterilmektedir.

Tablo 17

C8- antikorlarının H441 Kazıma Tahlilindeki Etkisi		
Antikor (10 µg/mL)	Ort. %	St. Sap.
Ortam	100	7
hlgG4	98	9
C8-H241	98	9
C8-6	102	4
mIgG1	98	18
Mab 5D5	244	4
HGF (200 ng/mL)	364	9

Veriler agonist c-Met Mab 5D5 ve HGF'nin H441 hücrelerinin hareketini/kazınmış alanları doldurmasını stimüle ettiğini göstermektedir. Aynı koşullar altında, c-Met Mab C8-H241 ve C8-6 H411 hücre motilitesini stimüle etmez.

Ornek 15

5 c-Met Antikorlarının HepG2 Hücresi Yayılması Üzerindeki etkisi

HGF ve agonist c-Met antikorları c-Met taşıyan hücrelerin yayılmasını stimüle eder. Bu örnek bir yayılma tahlilinde HGF'ye duyarlı olan HepG2 hücrelerinin kullanıldığı bir hücre yayılması tahlilinde buradaki c-Met antikorlarının agonist aktivitesini incelemektedir.

- 10 HepG2 hücreleri (ATCC, #HB-8065) gece boyunca serumsuz MEM ortamında (Invitrogen, #11095) aç bırakılır ve sonra alt bölme 10 µg/mL konsantrasyonunda 750 serumsuz ortam toplam hacminde antikorlar veya serumsuz ortamda 50 ng/mL 'de HGF içermek üzere, bir matrigel yayılma bölmesinin (BD, Franklin Lakes, NJ, #354483) üst bölmesinin her kuyucuğuna toplam 500 µL hacminde 5×10^4 hücre ilave edilir, ardından
- 15 kırk sekiz saat 37°C'de %5 (hacim/hacim) CO₂ altında inkübe edilir. Yayılmayan hücreler üst bölmeden bir pamuklu çubukla çıkarıldıktan sonra membran %95 etanolla sabitlenir ve %0.2 (ağırlık/hacim) kristal moruyla boyanır. Yıkandıktan ve kurutulduktan sonra, yayılan hücrelerin sayısı, boyanmış hücrelerin bir 2.5X objektifle alınan fotoğraflarının Image-Pro Plus 6 Manual Tag (Media Cybernetics, Inc., MD) yazılım analiziyle sayılır.
- 20 Sonuçlar Tablo 18'de özetlenmektedir.

Tablo 18

C8-, C8 ve D11 Antikorlarının HepG2 Hücresi Yayılması Üzerindeki Etkisi								
Antikor Konsantrasyonu (µg/mL)	2.5x Alan Başına Ortalama Hücre Sayısı							
	hIgG4	C8-H241	C8	mIgG1	optD11	5D5	HGF (50 ng/mL)	Ortam
10.00	5.5	3.5	4.3	5.5	19.8	85.0	509.5	3.5
	Std. Sap.							
	0.5	0.9	1.3	0.5	4.1	20.4	4.5	0.5

Veriler agonist c-Met Mab 5D5 ve HGF'nin HepG2 yayılmasını stimüle ettiğini, ama c-Met Mab C8-H241 ve (murin) C8'in etmediğini göstermektedir. Murin c-Met Mab optD11 HepG2 hücre yayılmasını zayıf bir şekilde uyarır.

Örnek 16

5 C8- ve D11- Antikorları Caki-1 Hücrelerini Staurosporinin Yol Açtığı Apoptozdan Korumaz

HGF ve agonist c-Met antikorları hücreleri staurosporinin yol açtığı hücre ölümünden korur. Bu örnekte, HGF'ye duyarlı Caki-1 hücrelerinin kullanıldığı staurosporinin yol açtığı apoptoz tahlilinde bu buluşun c-Met antikorlarının agonist etkisi incelenmektedir.

- 10 Caki-1 hücreleri (ATCC, #HTB-46) Örnek 11'de açıklandığı gibi üretilir, 96 kuyucuklu plakalarda (Costar, #3596) kültür ortamı içinde 1×10^4 hücre/kuyucuk olarak tohumlanır ve bir saat antikorlarla (hücre kültürü ortamında 30000 ng/mL ila 3 ng/mL aralığında seyreltilmiş) veya HGF'yle (25 ng/mL ila 0.02 ng/mL aralığında seyreltilmiş) ön işlemden geçirildikten sonra, kırk sekiz saat 37°C'de 0.1 μ M staurosporinle (nihai konsantrasyon)
- 15 işlemde geçirilir. Ortam aspire edilir ve hücreler 30 dakika 0.2 mL Hücre Ölümü Saptama ELISA setinin (Roche Applied Science, Indianapolis, IN, #11774425001) liziz tamponu bileşeniyle lize edilir. Bu sette 450 nm'de emilimle belirlendiği üzere sitoplazmik histonla ilişkili DNA fragmanlarının saptanmasıyla hücre ölümünü ölçmek için her lizattan 20 μ L kullanılır. 450 nm'de daha yüksek bir optik yoğunluk daha fazla apoptozu gösterir.
- 20 Tablo 19'da sunulan sonuçlar HGF'nin Caki-1 hücrelerini staurosporinin yol açtığı apoptozdan koruduğunu, ama c-Met Mab C8-H241, C8-6 ve D11-8B8'in korumadığını göstermektedir.

Tablo 19

c-Met Antikorlarının Caki-1 Hücrelerinde Staurosporinin Yol Açtığı Apoptoz Üzerindeki Etkisi								
Antikor dozu (ng/mL)	Ortalama A450 nm							
	hIgG4	C8-H241	C8-6	HGF	hIgG2	D11-8B8	Ortam	STS*
3	0.95	0.83	1.09	0.97 (0.02 ng/mL)	0.95	1.02	0.24	0.87
30	0.98	0.84	1.02	0.93 (0.23 ng/mL)	0.91	0.91		
300	0.87	0.86	0.97	0.73 (2.25 ng/mL)	0.95	0.81		
3000	0.98	0.85	0.92	0.58 (22.5 ng/mL)	0.95	0.91		
30000	0.91	0.90	0.96	0.45 (225 ng/mL)	0.94	0.87		
	STDHata							
3	0.03	0.02	0.19	0.02	0.07	0.01	0.01	0.03
30	0.03	0.01	0.14	0.06	0.00	0.11		
300	0.10	0.03	0.06	0.03	0.02	0.02		
3000	0.04	0.01	0.12	0.01	0.06	0.02		
30000	0.00	0.01	0.13	0.06	0.04	0.03		
*STS: Staurosporin								

Ornek 17**C8- Antikorlarının Anjiyogenez Üzerindeki Etkisi**

HGF ve agonist c-Met antikorları anjiyogenezi stimüle eder. Bu buluşun c-Met antikorları ADSC/ECFC birlikte kültür tüp oluşumu tahlilinde bu işlevsel agonist özellik açısından değerlendirilir. Adipoz türevli kök hücreler (ADSC) HGF eksprese eder; endotelial koloni oluşturuıcı hücreler (ECFC) HGF ile stimülasyona yanıt olarak tüpler oluşturuur.

ADCS (Lonza, Allendale, NJ, # PT-5006) ayrılır, bazal ortam (MCDB-131 ortam (Sigma, St. Louis, MO #M8537)) + 30 µg/mL L-askorbik asit 2-fosfat (Sigma #A8960), 1 µM deksametazon (Sigma #D4902), 50 µg/mL tobramisin (Sigma #T4014), 10 µg/mL Cell

Prime r-transferrin AF (Millipore #9701) + 10 µg/mL Nucellin (Lilly beşeri rekombinant insülin)) içinde yeniden süspansiyon haline getirilir, 96 kuyucuklu plakalara 4×10^4 hücre/kuyucuk olarak ekilir ve gece boyunca 37°C'de ve %5 (hacim/hacim) CO₂ altında inkübe edilir. Ortam aspire edilir ve 100 µL/kuyucuk olarak bazal ortam içinde 500 µg/mL sodyum heparin (Sigma, #H3393) ilave edilir; hücreler daha sonra 1 saat 37°C'de inkübe

edilir. Kuyucuklar aspire edilir, bir kez 100 µL bazal ortamla yıkanır ve ECFC aşağıdaki gibi ilave edilir: ECFC (EndGenitor Technologies, Inc., Indianapolis, IN #EGT-

ECFC100506) ayrılır, bazal ortamda yıkanır, bazal ortamda yeniden süspansiyon haline getirilir ve 96 kuyucuklu plakalara ADSC'nin üzerine 4×10^3 hücre/kuyucuk olarak ilave edilir. 4 saat 37°C'de inkübasyondan sonra, HGF ve antikorlar hücre kültürü ortamında

seyreltilir ve aşağıdaki nihai konsantrasyonlarda ayrı kuyucuklara ilave edilir: HGF:100 ng/mL; antikorlar: 10 µg/mL. HGF antikor (R&D Systems #AB-294-NA) 10 µg/mL nihai konsantrasyonda da ilave edilir. Hücreler 4 gün daha 37°C'de inkübe edilir. Kuyucuklar

aspire edilir ve 100 µL/kuyucuk %1 paraformaldehit ilave edilir, ardından 20 30 dakika inkübasyon uygulanır. Hücreler üç kez PBS-BSA (%0.1 BSA, Invitrogen #15260-037) ile

yıkanır ve 1 saat 37°C'de veya gece boyunca 4°C'de 50 µL 1 µg/mL anti beşeri CD31 antikoruyla (R&D Systems, #AF806) işleminden geçirilir. Hücreler iki kez PBS-BSA ile yıkanır ve 1 saat oda sıcaklığında 50 µL 4 µg/mL anti koyun IgG AlexaFluor488

konjugatıyla (Invitrogen, #A11015) işleminden geçirilir. Hücreler iki kez PBS-BSA ile

yıkanır ve 100 µL Hoechst3342 boyayla boyanır ve bir Cellomics ArrayScan'da (Thermo

Fisher Scientific, Waltham, MA) okunur. Çeşitli antikorların ve HGF'nin anjiyogenezin stimülasyonu üzerindeki etkisini değerlendirmek için kullanılan total tüp alanlarını

belirlemek için vHCS View Versiyon 1.4.6 yazılımı kullanılır.

Sonuçlar Tablo 20’de gösterilmektedir.

Tablo 20

C8- Antikorlarının ECFC Hücrelerinde Tüp Oluşumu Üzerindeki Etkisi								
Total Tüp Alanı								
	Bazal Ortam	hlgG4	C8-H241	C8-6	mlgG1	5D5	HGF Ab	HGF
Ort.	67753.3	90134.3	22979.7	65224.0	125538.3	147237.3	22824.3	212104.7
Std. Sap.	24221.6	17741.1	604.9	18275.9	34702.4	18748.1	6586.0	16588.5

Sonuçlar C8-H241 ve C8-6’nın ortamla veya karşılık gelen izotip kontrol antikorlarıyla kıyaslandığında tüp oluşumunu stimüle etmediğini, HGF ve agonist Mab 5D5’in ise tüp oluşumunu önemli ölçüde stimüle ettiğini göstermektedir.

Ornek 18

Ksenograft Modellerinde HGF’den Bağımsız ve HGF’ye Bağımlı Tümör Hücresi Büyümesinin İnhibisyonu

HGF’den bağımsız ve HGF’ye bağımlı tümör hücresi büyümesinin bu buluşun c-Met antikorlarıyla inhibisyonu, sırasıyla MKN45 hücresi ve U87MG (beşeri gliyoblastom) hücresi fare ksenograft modellerinin kullanıldığı in vivo tahlillerde incelenir. MKN45 hücreleri HGF’nin yokluğunda yapısal olarak yüksek seviyelerde c-Met eksprese eder ve c-Met fosforilasyonuna yol açar. U87MG hücreleri otokrin bir şekilde HGF salgılar ve HGF’ye duyarlıdır.

MKN45 hücreleri (Japan Health Sciences Foundation, Health Science Research Resource, #JCRB0254) Örnek 8’de açıklandığı gibi kültür içinde büyütülür, tek tek hücreler halinde tripsinlenir, toplanır ve yeniden PBS içinde süspansiyon haline getirilir. PBS içinde iki milyon MKN45 hücresi atimik çıplak farelerin (Harlan, Indianapolis, IN) arka böğrüne subkütanöz yolla enjekte edilir. c-Met antikorları ve karşılık gelen IgG2 ve IgG4 antikorları PBS, pH 7.2 içinde seyreltilir ve tümör hücresinin yerleştirilmesinden 3 veya 7 gün sonra başlanmak üzere 1, 5 veya 20 mg/mL seviyesinde intravenöz enjeksiyonla haftalık olarak uygulanır. Tümör hücresi büyümesinin inhibisyonu tedavi sırasında haftada

iki kez tümör hacimlerinin üç boyutlu kumpas ölçümüyle belirlenir. Vücut ağırlığı toksisitenin genel bir ölçümü olarak ölçülür.

U87MG hücreleri (ATCC, #HTB-14) 37°C’de MEM (Invitrogen, #11095) içinde üretilir, kültür içinde büyütülür, tek tek hücreler halinde tripsinlenir, toplanır ve yeniden PBS (Invitrogen, # 14190) içinde süspansiyon haline getirilir. Beş milyon hücre atimik çıplak farelerin (Harlan, Indianapolis, IN) arka böğrüne subkütanöz yolla enjekte edilir. c-Met antikorları PBS içinde seyreltilir ve tümör hücresinin yerleştirilmesinden 7 gün sonra başlanmak üzere Tablo 22’de gösterilen dozlarda intravenöz enjeksiyonla haftalık olarak uygulanır. Kontrol IgG4 antikor 10 mg/kg olarak uygulanır. Tümör hücresi büyümesi tedavi sırasında haftada iki kez tümör hacimlerinin üç boyutlu kumpas ölçümüyle belirlenir. Vücut ağırlığı toksisitenin genel bir ölçümü olarak ölçülür.

MKN45 hücresi ksenograft modelinde dört antikorun –D11-8B8, C8-H241, C8-6 ve C8-Co-16 – tümöre karşı etkinliği Tablo 21’de özetlenmektedir. “Maksimum İnhibisyon %’si” karşılık gelen kontrol antikoruyla (%0 inhibisyon) tedaviye kıyasla tümör büyümesinin inhibisyon yüzdesini temsil eder.

5 mg/kg veya 20 mg/kg dozunda uygulandığında, dört c-Met antikorunun hepsi karşılık gelen IgG izotip kontrolleriyle kıyaslandığında MKN45 tümör hücresi büyümesinde anlamlı inhibisyona yol açar.

Tablo 21

C8- ve D11- Antikorlarının HGF’den Bağımsız MKN45 Tümör Büyümesi Üzerinde <i>İn Vivo</i> Etkisi			
Antikor	Doz seviyesi (mg/kg)	Maksimum İnhibisyon %’si	p değeri
D11-8B8	5	53	p<0.05
	20	56	p<0.01
C8-H241	1	39	NS
	5	63	p<0.01
	20	51	p<0.05
C8-6	1	60	p<0.001
	5	59	p<0.01
	20	73	p<0.001
C8-Co-16	1	36	NS
	5	60	p<0.001
	20	85	p<0.001

C8-H241’le tümör hücresi büyümesinin doza bağımlı inhibisyonu, Tablo 22’de özetlendiği gibi HGF’ye bağımlı U87MG hücresi ksenograft modelinde de gözlemlenir. “Maksimum İnhibisyon %’si karşılık gelen IgG4 kontrol antikoruyla (%0 inhibisyon) kıyaslandığında tümör büyümesinin inhibisyon yüzdesini temsil eder.

5

Tablo 22

C8-H241 Antikorumun <i>İn Vivo</i> HGF’ye Bağımlı U87M Tümör Büyümesi Üzerindeki Etkisi			
Antikor	Doz seviyesi (mg/kg)	Maksimum İnhibisyon %’si	p değeri
C8-H241	0.1	45.2	NS
C8-H241	0.3	86.8	p<0.001
C8-H241	1	91.9	p<0.001
C8-H241	3	91	p<0.001
C8-H241	10	94.8	p<0.001

5 ve 20 mg/kg’de, C8-H241 antikoru H441 küçük hücreli olmayan akciğer kanseri ksenograft tümör büyümesini de sırasıyla %58 ve %60 inhibe eder. H441 hücreleri yüksek bir c-Met ekspresyonu ve yapısal c-Met fosforilasyon seviyesi gösterir, ama hâlâ HGF’ye duyarlıdır.

10 **Örnek 19**

MKN45 Ksenograft Tümörlerinde Total ve Fosforillenmiş c-Met’in Antikorla Azalması

c-Met antikoru C8-H241’in MKN45 (HGF’den bağımsız) ksenograft tümörleri taşıyan farelerde total c-Met ve fosforillenmiş c-Met üzerindeki in vivo aktivitesi bu örnekte incelenmektedir. Antikor uygulamasından 24 saat sonra hem total c-Met hem fosforillenmiş c-Met’te (tirozin 1349’da) doza bağımlı bir azalma gözlemlenir.

15

MKN45 hücreleri Örnek 8’de açıklandığı gibi büyütülür, tripsinlenir ve toplanır. PBS içinde iki milyon MKN45 hücresi atipik çıplak farelerin (Harlan, Indianapolis, IN) arka böğrüne subkutanöz olarak enjekte edilir. c-Met antikoru C8-H241 PBS, pH 7.2 içinde seyreltilir ve 2.5, 5, 10, 20 ve 40 mg/kg’de tümör hücresi yerleştirildikten sekiz gün sonra intravenöz enjeksiyonla uygulanır. Kontrol antikoru hIgG4 40 mg/kg’de uygulanır.

20

Tedaviden 24 saat sonra, tümörler alınır, şoklamayla dondurulur, geçici olarak -80°C'de saklanır ve liziz tamponunda (5 mM etilendiamintetraasetik asit (EDTA), 5 mM etilenglikol-bis(b-aminoetil)-N,N,N',N'-tetrasetik asit (EGTA), 50 mM HEPES, 20 mM sodyum pirofosfat (ThermoFisherScientific, #S390-500), 150 mM NaCl, 20 mM NaF, %1 (hacim/hacim) oktilfenoksi polietoksi etanol (TRITON®-X 100), tam proteaz inhibitörü, EDTA içermeyen (Roche, Basel, İsviçre, # 1836153) fosfataz inhibitör kokteyli I (Sigma #P2850) ve fosfataz inhibitör kokteyli II (Sigma #P5726)) lize edilir.

Total c-Met ELISA

Total c-Met ELISA için, bir c-Met yakalama antikoru Bup H kaplama tamponunda (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, #28382) 2 µg/mL'ye seyreltilir. ELISA plakalarına (ThermoFisherScientific, Waltham, MA #439454) kuyucuk başına 100 µL seyreltilmiş antikor ilave edilir ve plakalar gece boyunca 4°C'de inkübe edilir. Kuyucuklar aspire edilir, iki kez TBS-T'yle yıkanır ve sonra 1 saat oda sıcaklığında 200 µL blokaj tamponuyla (TBS-T artı %2 (ağırlık/hacim) BSA) bloke edilir. Plakalar iki kez TBS-T'yle yıkanır. Daha sonra, tümör lizatlarının seyreltileri veya c-Met hücre dışı alan (DİZİ İD NO:75'in 25-932. amino asitleri) ilave edilir ve plakalar gece boyunca 4°C'de inkübe edilir. Daha sonra plakalar üç kez TBS-T'yle yıkanır. Daha sonra her kuyucuğa blokaj tamponunda seyreltilmiş 0.5 µg/mL biyotinleşmiş Mab 5D5 (100 µL) (yakalama antiorundan farklı bir c-Met epitopunu bağlayan ikinci c-Met antikoru olarak) ilave edilir ve plakalar 2 saat oda sıcaklığında inkübe edilir. Daha sonra plakalar üç kez TBS-T'yle yıkanır. Ardından blokaj tamponu içinde 1/10,000 oranında seyreltilmiş peroksidazla konjuge streptavidin (100 µL) (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA, #016-030-084) ilave edilir ve karışım 1 saat oda sıcaklığında inkübe edilir. Daha sonra plakalar üç kez TBS-T'yle yıkanır. Her kuyucuğa 100 µL 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin çözeltisi (BioFX, #TMBW-1000-01), ardından 100 µL durdurma çözeltisi (BioFX, #LSTP-1000-01) ilave edilir. Plakalar bir SpectraMax 250 plaka okuyucusu (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) SOFTmax Pro 3.1.2 yazılımıyla (Molecular Devices) kullanılarak 450 nm'de okunur.

Fosforillenmiş c-Met ELISA

Fosfo-c-Met ELISA için, bir c-Met yakalama antikoru Bup H kaplama tamponunda (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, #28382) 2 µg/mL'ye seyreltilir. ELISA plakalarına (ThermoFisherScientific, Waltham, MA #439454) kuyucuk başına 100 µL

- seyreltilmiş antikor ilave edilir ve plakalar gece boyunca 4°C’de inkübe edilir. Kuyucuklar aspire edilir, iki kez TBS-T’yle yıkanır ve sonra 1 saat oda sıcaklığında 200 µL blokaj tamponuyla (TBS-T artı %2 (ağırlık/hacim) BSA) bloke edilir. Plakalar iki kez TBS-T’yle yıkanır. Daha sonra, MKN45 hücre lizatları ilave edilir ve plakalar gece boyunca oda sıcaklığında inkübe edilir. Plakalar üç kez TBS-T’yle yıkanır. Daha sonra her kuyucuğa blokaj tamponu içinde seyreltilmiş 0.5 µg/mL anti-pY1349 c-Met antikor (100 µL) (Cell Signaling Technology, Danvers, Massachusetts, #3121) ilave edilir ve plakalar 2 saat oda sıcaklığında inkübe edilir. Plakalar üç kez TBS-T’yle yıkanır. Blokaj tamponu içinde 1/10,000 oranında seyreltilmiş peroksidazla konjuge anti tavşan IgG (100 µL) (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA, #111-035-144) ilave edilir ve karışım 1 saat oda sıcaklığında inkübe edilir. Daha sonra plakalar üç kez TBS-T’yle yıkanır. Her kuyucuğa 100 µL 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin çözeltisi (BioFX, #TMBW-1000-01), ardından 100 µL durdurma çözeltisi (BioFX, #LSTP-1000-01) ilave edilir. Plakalar bir SpectraMax 250 plaka okuyucusu (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) SOFTmax Pro 3.1.2 yazılımıyla (Molecular Devices) kullanılarak 450 nm’de okunur.

Sonuçlar Tablo 23’te gösterilmektedir.

Veriler MKN45 ksenograft tümörlerinin 24 saat Mab C8-H241’le in vivo tedavisinin, bu koşullar altında total c-Met’i azami olarak yaklaşık %43 ve fosforillenmiş c-Met’i yaklaşık %73 oranında azalttığını göstermektedir.

Tablo 23

<i>İn Vivo</i> c-Met antikoru C8-H241'le 24 Saat Tedavinin Ardından MKN45 Ksenograft Tümörlerinde Total ve Fosforillenmiş c-Met'teki Azalma Total c-Met'teki Azalma							
İnhibisyon %'si		C8-H241					hIgG4
	PBS	2.5 mpk	5 mpk	10 mpk	20 mpk	40 mpk	40 mpk
ortalama inhibisyon %'si	-88.51	-8.43	4.26	25.07	42.85	30.62	0.00
st. sap. inhibisyon %'si	62.63	-8.43	36.84	26.88	17.67	35.95	41.23
Fosforillenmiş c-Met'teki Azalma							
İnhibisyon %'si		C8-H241					hIgG4
	PBS	2.5 mpk	5 mpk	10 mpk	20 mpk	40 mpk	40 mpk
ortalama inhibisyon %'si	12.16	22.89	17.56	53.21	67.04	73.42	0.00
st. sap. inhibisyon %'si	23.89	22.89	37.05	9.90	6.58	7.04	48.81
mpk: mg/kg							

Amino Asit ve Nükleotit Dizileri

Hafif Zincir Değişken Bölge Amino Asit Dizileri

D11-S17Y (DİZİ İD NO:1)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSISSTNLHWYQQKPGQAPRLLIYGTSYLAS
GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPYSFGQGTKLEIK

5

D11-8B8 (DİZİ İD NO:2)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSISSTNLHWYQQKPGQAPRLLIYGTSYLAS
GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPYSFGQGTKLEIK

D11-C27G3 (DİZİ İD NO:3)

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCSVSSSISSTNLHWYQQKPGQAPRLLIYGTSRLRS
GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPYSFGQGTKLEIK

C8-6 (DİZİ İD NO:4)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSVSSSVSSIYLNHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLAS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCIQYSGYPLTFGGGTKVEIK

5 C8-H241 (DİZİ İD NO:5)

/ DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSVSSSVSSIYLNHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLAS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQVYSGYPLTFGGGTKVEIK

C8-co-16 (DİZİ İD NO:6)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSVSSSVRSIYLNHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQVYRGYPLTFGGGTKVEIK

Hafif Zincir Değişken Bölge Nükleik Asit Dizileri**10 D11-S17Y (DİZİ İD NO:7)**

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC
CTCTCCTGCAGTGTGAGCTCAAGTATAAGTTCCACCAACTTACACTGGTACCAGCAGAAA
CCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGCACATCCTATCTGGCTTCTGGCATCCCA
GACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAACAGTGGAGTAGTTACCCGTACAGTTTCGGC
CAAGGGACCAAGTTGGAGATCAAA

D11-8B8 (DİZİ İD NO:8)

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC
CTCTCCTGCAGTGTGAGCTCAAGTATAAGTTCCACCAACTTACACTGGTACCAGCAGAAA
CCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGCACATCCTACCTGGCTTCTGGCATCCCA
GACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAACAGTGGAGTAGTTACCCGTACAGTTTCGGC
CAAGGGACCAAGTTGGAGATCAAA

D11-C27G3 (DİZİ İD NO:9)

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC
CTCTCCTGCAGTGTGAGCTCAAGTATAAGTTCCACCAACTTACACTGGTACCAGCAGAAA
CCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGCACATCCAGACTGAGATCTGGCATCCCA
GACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAACAGTGGAGTAGTTACCCGTACAGTTTCGGC
CAAGGGACCAAGTTGGAGATCAAA

15

C8-6 (DİZİ İD NO:10)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
 ATCACTTGCACTGTCAGCTCAAGTGTAAAGTTCCATTTACTTGCACTGGTATCAGCAGAAA
 CCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATAGCACATCCAAGTTGGCTTCTGGAGTCCCA
 TCAAGGTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAA
 CCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTATTCACTACAGTGGTTACCCGCTCACGTTTCGGC
 GGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

C8-H241 (DİZİ İD NO:11)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
 ATCACTTGCACTGTCAGCTCAAGTGTAAAGTTCCATTTACTTGCACTGGTATCAGCAGAAA
 CCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATAGCACATCCAAGTTGGCTTCTGGAGTCCCA
 TCAAGGTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAA
 CCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTACAGTGGTTACCCGCTCACGTTTCGGC
 GGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

5

C8-co-16 (DİZİ İD NO:12)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
 ATCACTTGCACTGTCAGCTCAAGTGTACGTTCCATTTACTTGCACTGGTATCAGCAGAAA
 CCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATAGCACATCCAAGTTGGCTTCTGGAGTCCCA
 TCAAGGTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAA
 CCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTACAGTGGTTACCCGCTCACGTTTCGGC
 GGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

Ağır Zincir Değişken Bölge Amino Asit Dizileri**D11-S17Y (DİZİ İD NO:13)**

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSRYIHWVRQAPGQGLEWMGWIYP
 VTGDTYYNEKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGYGAFYYW
 QGTLVTVS

10

D11-8B8 (DİZİ İD NO:14)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSRYIHWVRQAPGQGLEWMGWIYP
 VTGDTYYIEKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGYGAFYYWG
 QGTLVTVS

D11-C27G3 (DİZİ İD NO:15)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSRYIHWVRQAPGQGLEWMGWIYP
 VTGDTYYREPKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGYGAFYYWG
 QGTLVTVS

C8-6 (DİZİ İD NO:16)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGRV
NPNRRGGTTYNQKFEGRVMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARTNWLDY
WGQGTTVTVS

C8-H241 (DİZİ İD NO:17)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGRV
NPNRRGGTTYNQKFEGRVMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARANWLDY
WGQGTTVTVS

5 C8-co-16 (DİZİ İD NO:18)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGRV
NPNRRGGTTYNQKFEGRVMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARANILDY
WGQGTTVTVS

Ağır Zincir Değişken Bölge Nükleik Asit Dizileri**D11-S17Y (DİZİ İD NO:19)**

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTC
TCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACAAGTAGGTATATACACTGGGTGCGACAGGCC
CCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATTTATCCTGTAAGTGGTGATACTTACTAC
AACGAGAAGTTCAAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACAAATCCACGAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCTAC
GGAGCTTTTTTACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCC

10 D11-8B8 (DİZİ İD NO:20)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTC
TCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACAAGTAGGTATATACACTGGGTGCGACAGGCC
CCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATTTATCCTGTAAGTGGTGATACTTACTAC
ATCGAGAAGTTCAAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACAAATCCACGAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCTAT
GGTGCTTTTTTCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCC

D11-C27G3 (DİZİ İD NO:21)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTC
TCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACAAGTAGGTATATACACTGGGTGCGACAGGCC
CCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATTTATCCTGTAAGTGGTGATACTTACTAC
AGAGAGCCTTTCAAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACAAATCCACGAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCTAT
GGGGCTTTTTTACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCC

C8-6 (DİZİ İD NO:22)

CAGGTTCAAGCTGGTGCAGTCTGGTGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGTGCCTCAGTGAAGGTC
 TCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCGACTACTACATGCACTGGGTGCGTCAGGCC
 CCTGGTCAAGGTCTTGAGTGGATGGGTCGTGTTAATCCTAACCAGGGGTGGTACTACCTAC
 AACCAGAAATTCGAGGGCCGTGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTAC
 ATGGAGCTGCGTAGCCTGCGTTCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGTACGAAC
 TGGCTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTCACCGTCTCC

C8-H241 (DİZİ İD NO:23)

CAGGTTCAAGCTGGTGCAGTCTGGTGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGTGCCTCAGTGAAGGTC
 TCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCGACTACTACATGCACTGGGTGCGTCAGGCC
 CCTGGTCAAGGTCTTGAGTGGATGGGTCGTGTTAATCCTAACCAGGGGTGGTACTACCTAC
 AACCAGAAATTCGAGGGCCGTGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTAC
 ATGGAGCTGCGTAGCCTGCGTTCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGTACGAAC
 TGGCTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTCACCGTCTCC

5 C8-co-16 (DİZİ İD NO:24)

CAGGTTCAAGCTGGTGCAGTCTGGTGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGTGCCTCAGTGAAGGTC
 TCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACATTCAGTACTACTACATGCACTGGGTGCGTCAGGCC
 CCTGGTCAAGGTCTTGAGTGGATGGGTCGTGTTAATCCTTATCGGGGTAGTACTACCTAC
 AACCAGAAATTCGAGGGCCGTGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTAC
 ATGGAGCTGCGTAGCCTGCGTTCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGTACGAAC
 ATCTTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTCACCGTCTCC

Tam Hafif Zincir Amino Asit Dizileri**D11-S17Y kappa (DİZİ İD NO:25)**

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSSISSTNLHWYQQKPGQAPRLLIYGTSYLAS
 GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPYSFGQGTKLEIKRTVAA
 PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
 SKDSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

D11-8B8 kappa (DİZİ İD NO:26)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSSISSTNLHWYQQKPGQAPRLLIYGTSYLAS
 GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPYSFGQGTKLEIKRTVAA
 PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
 SKDSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

D11-C27G3 kappa (DİZİ İD NO:27)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSSISSTNLHWYQQKPGQAPRLLIYGTSRLRS
 GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPYSFGQGTKLEIKRTVAA
 PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
 SKDSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

C8-6 kappa (DiZi ID NO:28)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSVSSSVSSIYLHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLAS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCIQYSGYPLTFGGGTKVEIKRTVAAP

SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS
KDSITYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

5 C8-H241 kappa (DiZi ID NO:29)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSVSSSVSSIYLHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLAS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQVYSGYPLTFGGGTKVEIKRTVAAP
PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSITYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

C8-co-16 kappa (DiZi ID NO:30)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSVSSSVRSIYLHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQVYRGYPLTFGGGTKVEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSITYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Tam Hafif Zincir Nükleik Asit Dizileri**10 D11-S17Y IgG2 LC (DiZi ID NO:31)**

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC
CTCTCCTGCAGTGTGAGCTCAAGTATAAGTTCCACCAACTTACACTGGTACCAGCAGAAA
CCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGCACATCCTACCTGGCTTCTGGCATCCCA
GACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAACAGTGGAGTAGTTACCCGTACAGTTTCGGC
CAAGGGACCAAGTTGGAGATCAACGAAGTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCG
CCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTC
TATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAGTCC
CAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTG
ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAG
GGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

D11-8B8 IgG2 LC (DiZi ID NO:32)

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC
CTCTCCTGCAGTGTGAGCTCAAGTATAAGTTCCACCAACTTACACTGGTACCAGCAGAAA
CCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGCACATCCTACCTGGCTTCTGGCATCCCA
GACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAACAGTGGAGTAGTTACCCGTACAGTTTCGGC
CAAGGGACCAAGTTGGAGATCAACGAAGTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCG
CCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTC

TATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAGTCC
CAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTG
ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAG
GGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

15

D11-C27G3 IgG2 LC (Dizi ID NO:33)

GAAATTGTGTTGACGCGAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC
 CTCTCCTGCAGTGTCAAGTATAAGTTCCACCACTTACACTGGTACCAGCAGAAA
 CCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGCACATCCAGACTGAGATCTGGCATCCCA
 GACAGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
 CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAACAGTGGAGTAGTTACCCGTACAGTTTCGGC
 CAAGGGACCAAGTTGGAGATCAAACGAAGTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCG
 CCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTC
 TATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAGTCC
 CAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTG
 ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAG
 GGCTTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

C8-6 IgG4 LC (Dizi ID NO:34)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
 ATCACTTGCAAGTGTCAAGTGTAAAGTTCCATTTACTTGCACTGGTATCAGCAGAAA
 CCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATAGCACATCCAAGTTGGCTTCTGGAGTCCCA
 TCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAA
 CCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTATTACAGTACAGTGGTTACCCGCTCAGGTTTCGGC
 GGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGAAGTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCG
 CCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTC
 TATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAGTCC
 CAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTG
 ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAG
 GGCTTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

5 C8-H241 IgG4 LC (Dizi ID NO:35)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
 ATCACTTGCAAGTGTCAAGTGTATCCTCCATTTACTTGCACTGGTATCAGCAGAAA
 CCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATAGCACATCCAAGTTGGCTTCTGGAGTCCCA
 TCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAA
 CCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAAGTCTACAGTGGTTACCCGCTCAGGTTTCGGC
 GGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGAAGTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCG
 CCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTC
 TATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAGTCC
 CAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTG
 ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAG
 GGCTTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

C8-co16 IgG4 LC (Dizi ID NO:36)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
 ATCACTTGCAAGTGTCAAGTGTACGTTCCATTTACTTGCACTGGTATCAGCAGAAA
 CCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATAGCACATCCAAGTTGGCTTCTGGAGTCCCA
 TCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAA
 CCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAAGTGTACAGGTTACCCGCTCAGGTTTCGGC
 GGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGAAGTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCG
 CCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTC
 TATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAGTCC
 CAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTG
 ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAG
 GGCTTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGC

Tam Ağır Zincir Amino Asit Dizileri

D11-S17Y IgG2 (DİZİ İD NO:37)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSRYIHWVRQAPGQGLEWMGWITP
VTGDTYYNEKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGYGAFYYW
GQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPHKPSNTKVDKTVR
KCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFN
WYVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGL
PAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPG

D11-8B8 IgG2 (DİZİ İD NO:38)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSRYIHWVRQAPGQGLEWMGWITP
VTGDTYYIEKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGYGAFYYWG
QGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPHKPSNTKVDKTVR
CCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNW
YVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP
APIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG

5

QPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPG

D11-C27G3 IgG2 (DİZİ İD NO:39)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSRYIHWVRQAPGQGLEWMGWITP
VTGDTYYREPFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGYGAFYYWG
QGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPHKPSNTKVDKTVR
CCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNW
YVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP
APIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPG

C8-6 IgG4 (Dizi ID NO:40)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWRQAPGQGLEWMGRV
 NPNRGGTTYNQKFEGRVMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARTNWL
 DYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP
 TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQYTCNV
 DHKPSNTKVDKTVERKCCVECP
 PCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFN
 WYVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS
 VLTVVHQQDWLNGKEYKCKVSNKGL
 PAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
 GQPENNYKTTTPMLDSG
 SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
 MHEALHNHYTQKSLSLSPG

C8-H241 IgG4 (Dizi ID NO:41)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWRQAPGQGLEWMGRV
 NPNRRGTTYNQKFEGRVMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARANWLDY
 WGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP
 TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQYTCNV
 DHKPSNTKVDKTVERKCCVECP
 PCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFN
 WYVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS
 VLTVVHQQDWLNGKEYKCKVSNKGL

5

PAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
 GQPENNYKTTTPMLDSG
 SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
 MHEALHNHYTQKSLSLSPG

C8-co-16 IgG4 (Dizi ID NO:42)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWRQAPGQGLEWMGRV
 NPYRGSTTYNQKFEGRVMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARANILDY
 WGGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP
 TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQYTCNV
 DHKPSNTKVDKTVERKCCVECP
 PCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFN
 WYVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS
 VLTVVHQQDWLNGKEYKCKVSNKGL
 PAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
 GQPENNYKTTTPMLDSG
 SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
 MHEALHNHYTQKSLSLSPG

Tam Ağır Zincir Nükleik Asit Dizileri

D11-S17Y IgG2 HC (DİZİ İD NO:43)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTC
 TCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACAAGTAGGTATATACACTGGGTGCGACAGGCC
 CCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATTTATCCTGTAACCTGGTGATACTTACTAC
 AACGAGAAGTTCAAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACAAATCCACGAGCACAGCCTAC
 ATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCTAT
 GGGGCTTTTTACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCAACGCTCTCCTCCGCCTCCACCAAG
 GGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCC
 CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGC
 GCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCTCAGGACTCTACTCC
 CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAAC
 GTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTC
 GAGTGCCACCGTGCCCGAGCACCCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCA
 AAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACGTCGCTGGTGGTGAC
 GTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCATGGAGGTGCAT
 AATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGTC
 CTCACCGTCTGTGCACCAAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC
 AAAGGCTTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCCCCGAGAA
 CCACAGGTGTACACCTTCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTG
 ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG
 CAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTC
 CTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGC

TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCG
 GGT

5

D11-8B8 IgG2 HC (DİZİ İD NO:44)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTC
 TCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACAAGTAGGTATATACACTGGGTGCGACAGGCC
 CCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATTTATCCTGTAACCTGGTGATACTTACTAC
 ATCGAGAAGTTCAAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACAAATCCACGAGCACAGCCTAC
 ATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCTAT
 GGTGCTTTTTTCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCAACGCTCTCCTCCGCCTCCACCAAG
 GGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCC
 CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGC
 GCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCTCAGGACTCTACTCC
 CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAAC
 GTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTC
 GAGTGCCACCGTGCCAGCACCCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCA
 AAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACGTCGCTGGTGGTGAC
 GTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCATGGAGGTGCAT
 AATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGTC
 CTCACCGTCTGTGCACCAAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC
 AAAGGCTTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCCCCGAGAA
 CCACAGGTGTACACCTTCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTG
 ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG
 CAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTC
 CTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGC
 TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCG
 GGT

D11-C27G3 IgG2 HC (Dizi ID NO:45)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCCTCGGTGAAGGTC
 TCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACAAGTAGGTATATACACTGGGTGCGACAGGCC
 CCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATTTATCCTGTAACCTGGTGATACTTACTAC
 AGAGAGCCTTTCAAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACAAATCCACGAGCACAGCCTAC
 ATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCTAC
 GGAGCTTTTTTACTACTTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCAACCGTCTCCTCCGCCCTCCACCAAG
 GGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCC
 CTGGGCTGCCGTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGC
 GCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCC
 CTCAGCAGCGTGACCGTGACCAACTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCC
 GTAGATCACAAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTC
 GAGTGCCACCGTGCCAGCACCACTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCA
 AAACCCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGGAC
 GTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCATGGAGGTGCAT
 AATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCTGTGGTCAGCGTC
 CTCACCGTCTGTCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC

AAAGGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCCCCGAGAA
 CCACAGGTGTACACCTTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAAGCCTG
 ACCTGCCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG
 CAGCCGGAGAACTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTC
 CTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGC
 TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCG
 GGT

5 C8-6 IgG4 HC (Dizi ID NO:46)

CAGGTTCAAGCTGGTGCAGTCTGGTGTCTGAGGTGAAGAAGCCTGGTGCCTCAGTGAAGGTC
 TCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCGACTACTACATGCCTGGGTGCGTCAGGCC
 CCTGGTCAAAGGCTTCTGAGTGGATGGGTGCGTTAATCCTAACCGGGGTGGTACTACCTAC
 AACCAGAAATTCGAGGGCCGTGTACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTAC
 ATGGAGCTGCGTAGCCTGCGTTCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGTACGAAC
 TGGCTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCCGTACCGTCTCCTCCGCCCTCCACCAAGGGC
 CCATCGGTCTTCCCGCTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTG
 GGCTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCC
 CTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTC
 AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTA
 GATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCA
 TGCCCCACCTTGCCAGCACCTGAGGCCGCCGGGGGACCATCAGTCTTCTGTTCCTCTCTC
 AAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGGAC
 GTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCAT
 AATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTC
 CTCACCGTCTGTCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC
 AAAGGCCCTCCCGTCTTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAG
 CCACAGGTGTACACCTTGCCCCCATCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAAGCCTG
 ACCTGCCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGCAATGGG
 CAGCCGGAGAACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGACTCCGACGGCTCCTTCTTC
 CTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGC
 TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTG
 GGT

C8-H241 IgG4 HC (Dizi ID NO:47)

CAGGTTCAAGCTGGTGCAGTCTGGTGTGAGGTGAAGAAGCCTGGTGCCTCAGTGAAGGTC
 TCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACATTCACTGACTACTACATGCACTGGGTGCGTCAGGCC
 CCTGGTCAAGGCTTGTAGTGGATGGGTTCGTGTTAATCCTAACCGGAGGGGTACTACCTAC
 AACCAGAAATTCGAGGGCCGTGTCAACATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTAC
 ATGGAGCTGCGTAGCCTGCGTTCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGTGCGAAC
 TGGCTTGACTACTGGGGCCAGGGCACACCGTCAACCGTCTCCTCCGCCCTCCACCAAGGGC
 CCATCGGTCTTCCCGCTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTG
 GGCTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCC
 CTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTC
 AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTA
 GATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCA
 TGCCCCACCTGCCCAGCACCTGAGGCCGCCGGGGGACCATCAGTCTTCTGTTCCCCCA

AAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACAGTGCCTGGTGGTGGAC
 GTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCAT
 AATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTC
 CTCACCGTCTTGCAACAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC
 AAAGGCCCTCCCGTCTTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAG
 CCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTG
 ACCTGCCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGCAATGGG
 CAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTC
 CTCTACAGCAGGCTAACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGC
 TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACUACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTG
 GT

5 C8-co16 IgG4 HC (Dizi ID NO:48)

CAGGTTCAAGCTGGTGCAGTCTGGTGTGAGGTGAAGAAGCCTGGTGCCTCAGTGAAGGTC
 TCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACATTCACTGACTACTACATGCACTGGGTGCGTCAGGCC
 CCTGGTCAAGGCTTGTAGTGGATGGGTTCGTGTTAATCCTTATCGGGGTAGTACTACCTAC
 AACCAGAAATTCGAGGGCCGTGTCAACATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTAC
 ATGGAGCTGCGTAGCCTGCGTTCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGTGCGAAC
 ATTCTTGACTACTGGGGCCAGGGCACACCGTCAACCGTCTCCTCCGCCCTCCACCAAGGGC
 CCATCGGTCTTCCCGCTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTG
 GGCTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCC
 CTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTC
 AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTA
 GATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCA
 TGCCCCACCTGCCCCAGCACCTGAGGCCGCCGGGGGACCATCAGTCTTCTGTTCCCCCA
 AAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACAGTGCCTGGTGGTGGAC
 GTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCAT
 AATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTC
 CTCACCGTCTTGCAACAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC
 AAAGGCCCTCCCGTCTTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAG
 CCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTG
 ACCTGCCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGCAATGGG
 CAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTC
 CTCTACAGCAGGCTAACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGC
 TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTG
 GT

Beşeri cMet-ECD-Fc-Flis (Dizi ID NO:72)

MKAPAVLAPGILVLLFTLVQRSNGECKEALAKSEMNVNMKYQLPNFTAETPIQN
VILHEHHIFLGATNYIYVLNEEDLQKVAEYKTGPVLEHPDCFPQCDCSSKANLSG
GVWKDNINMALVVDYTYDDQLISCGSVNRGTQQRHVFPHNHTADIQSEVHCIFS
PQIEEPSQCPDCVVSALGAKVLSSVKDRFINFFVGNTINSSYFPDHPLHSISVRRLK
ETKDGFMFLTDQSYIDVLPEFRDSYPIKYVHAFESNNFIYFLTVQRETLDATQFHT

RIIRFCSINSGLSYMEMPLECILTEKRKKRSTKKEVFNILQAAYVSKPGAQLARQI
 GASLNDDILFGVFAQSKPDSAEPMDRSAMCAFPKIYVNDFFNKIVNKNVRCCLQ
 HFYGPNEHCNRTLLRNSSGCEARRDEYRTEFTTALQRVDLFGMGQFSEVLLTSI
 STFIKGDLTIANLGTSEGRFMQVVVSRSGPSTPHVNFLLDSHPVSPREVIVEHTLNQ
 NGYTLVITGKKITKIPLNGLGCRHFQSCSQCLSAPPFVQCGWCHDKCVRSEECLS
 GTWTQQICLPAIYKVFPNSAPLEGGTRLTICGWDFGFRNNKFDLKKTRVLLGNE
 SCTLTLESTMTNLKCTVGPAMNKHFNMSIISNGHGTTQYSTFSYVDPVITSISP
 YGPMAGGTLTLTGNYLNSGNSRHISIGGKTCTLKSVSNSILECYTPAQTISTEFA
 VKLKIDLANRETSIFSYPREDPIVYEIHPTKSFISGGSTITGVGKNLNSVSVPRMVINV
 HEAGRNFTVACQHRNSEIICCTTPSLQQLNLQLPLKTKAFFMLDGILSKYFDLIY
 VHNPVFKPFEPVMISMGNENVLEIKGNDIDPEAVKGEVLKVGKNSCENIHLHSE
 AVLCTVPNDLLKLNSELNIEWKQAISSTVLGKVIVQPDQNFTEVLFGQPDIEPKS
 CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
 NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
 LPAPIEKTISKAKGQPREPQEYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
 NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY
 TQKSLSLSPGKRIDYKDDDDKHVHHHHHH

Koyu, italik yazılmış amino asitler sinyal dizisini temsil eder; koyu altı çizili amino asitler Flis etiketini temsil eder.

5 **Sinomolgus Maymunu cMet-ECD-Fc-Flis (DİZİ İD NO:73)**

MKAPAVLVPGLVLLFTLVQRSNGECKEALAKSEMNVNMKYQLPNFTAETAIQN
 VILHEHHIFLGATNYIYVLNEEDLQKVAEYKTGPVLEHPDCFCQDCSSKANLSG
 GVWKDNINMALVVDITYDDQLISCGSVNRGTCQRHVFPNHNTADIQSEVHCIFS
 PQIEEPNQCPDCVVSALGAKVLSSVKDRFINFFVGNINSSYFPHHPLHSISVRLK
 ETKDGMFLTDQSYIDVLPEFRDSYPIKIYHAFESNNFIYFLTVQRETLNAQTFHTR
 IIRFCSLNSGLSYMEMPLECILTEKRKKRSTKKEVFNILQAAYVSKPGAQLARQI
 GASLNDDILFGVFAQSKPDSAEPMDRSAMCAFPKIYVNDFFNKIVNKNVRCCLQ
 HFYGPNEHCNRTLLRNSSGCEARRDEYRAEFTTALQRVDLFGMGQFSEVLLTSI
 STFVKGDLTIANLGTSEGRFMQVVVSRSGPSTPHVNFLLDSHPVSPREVIVEHPLNQ
 NGYTLVVTGKKITKIPLNGLGCRHFQSCSQCLSAPPFVQCGWCHDKCVRSEECPS

GTWTQQICLPAIYKVFPTSAPLEGGTRLTICGWDFGFRNNKFDLKKTRVLLGNE
 SCTLTLESTMTNLKCTVGPAMNKHFNMSIIISNGHGTTQYSTFSYVDPIITSISPK
 YGPMAGGTLLTLTGNYLNSGNSRHISIGGKTCTLKSVSNSILECYTPAQTISTEFA
 VKLKIDLANRETSIFSYPREDPIVYEIHPTKSFISGGSTITGVGKNLHSSVSPRMVINV
 HEAGRNFVACQHRNSSEIJCCTTPSLQQNLQLPLKTKAFFMLDGILSKYFDLIY
 VHNPVFKPFKPPVMISMGNENVLEIKGNDIDPEAVKGEVLKVGNGKSCENIHLHSE
 AVLCTVPNDLLKLNSSELNIEWKQAISSTVLGKVIVQPDQNFLEVLFGQPDIEPKS
 CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
 NQYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
 LPAPIEKTISKAKGQPREPQEYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
 NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHY
 TQKSLSLSPGKRIDYKDDDDKHVHHHHHH

Koyu, italik yazılmış amino asitler sinyal dizisini temsil eder; koyu altı çizili amino asitler Flis etiketini temsil eder.

5 Sıçan cMet-ECD-Fc-Flis (DİZİ İD NO:74)

MKAPTALAPGILLLLLTLAQRSHGECKEALVKSEMNVMKYQLPNFTAETPIHN
*VVLHGHHIYL*GATNYIYVLNDKDLQKVSEFKTGPVVEHPDCFCQDCSSKANVS
 GGVWKDNVNMALLVDTYYDDQLISCGSVNRGTCQRHVLPPDNAADIQSEVHC
 MFSPLAEESGQCPDCVVSALGAKVLLSEKDRFINFFVGNTINSSYPDYSLHSISV
 RRLKETQDGFKFLTDQSYIDVLPFRDSYPIKYIHAFESNHFIYFLTVQKETLDAQT
 FHTRIIRFCSVDSGLHSYMEMPLECILTEKRRKRSTREEVFNILQAAYVSKPGANL
 AKQIGASPYDDILYGVFAQSKPDSAEPMNRSACAFPIKYVNDFNKIVNKNNV
 CLQHFYGPNEHCENRLLRNSSGCEVRSDEYRTEFTTALQRVDLFMGRNLHVL
 LTSISTFIKGDLTIANLGTSEGRFMQVVLSTAHFTPHVNFLDSYPVSPEVIVEHP
 SNQNGYTLVVTGKKITKIPLNGLGCGHFQSCSQCLSAPYFIQCGWCHNRCVHSNE
 CPSGTWTQEICLPAVYKVFPTSAPLEGGTMLTICGWDFGFKNNKFDLRKTKVLL
 GNESTLTLESTNTNLKCTVGPAMSEHFNVSVIVSNSRETTQYSAFSYVDPVITSI
 SPRYGPHAGGTLLTLTGKYLNSGNSRHISIGGKTCTLKSVSDSILECYTPGHTVSA
 EFPVKLKIDLADRTSSFSYREDPVVSEIHPTKSFISGGSTITGIGKNLNSVSTPKLV
 IEVHDVGVNITVACQHRSSSEIJCCTTPSLQQDLQLPLKTKAFFLLDGILSKHFDL
 TYVHDPMFKPFKPPVMISMGNENVVEIKGDDIDPEAVKGEVLKVGNGKSCENLH

WHSEALLCTVPSDLLKLNGGELNIEWKQAVSSTVLGKVIVQPDQNFLEVLFGQ
 PDIEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH
 EDPVKFNQYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
 KVSNAKLPAPIEKTISKAKGQPREPQEYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
 AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVME
 ALHNHYTQKSLSLSPGKRIDYKDDDDKHVHHHHHH

Koyu, italik yazılmış amino asitler sinyal dizisini temsil eder; koyu altı çizili amino asitler Flis etiketini temsil eder.

Beşeri c-Met ECD (DİZİ İD NO:75)

MKAPAVLAPGILVLLFTLVQRSNGECKEALAKSEMNVNMKYQLPNFTAETPIQN
VILHEHHIFLGATNYIYVLNEEDLQKVAEYKTGPVLEHPDCFPQCDCSSKANLSG
GVWKDNINMALVVDITYDDQLISCGSVNRGTCQRHVFPNHTADIQSEVHCIFS
PQIEEPSQCPDCVVSALGAKVLSSVKDRFINFFVGNTINSSYFPDHPLHSISVRRLK
ETKDGFMFLTDQSYIDVLPEFRDSYPIKYVHAFESNNFIYFLTVQRETLDAQTFHT
RIIRFCSINSGLHSYMEMPLECILTEKRKKRSTKKEVFENILQAAVVSKEPGAQLARQI
GASLNDDILFGVFAQSKPDSAEPMDRSAMCAFPKYVNDFFNKIVNKNNVRCLO
HFYGPNEHCFNRTLRLNSSGCEARRDEYRTEFTTALQRVDLFMGQFSEVLLTSI
STFIKDLTIANLGTSEGRFMQVVVSRSRGPSTPHVNFLLDSPVSPVIVEHTLNQ
NGYTLVITGKKITKIPLNGLGCRHFQSCSQCLSAPPFVQCGWCHDKCVRSEECLS
GTWTQQICLPAIYKVPNSAPLEGGTRLTICGWDFGFRNNKFDLKKTRVLLGNE
SCTLTLESTMTNLKCTVGPAMNKHFNMSIIISNGHGTQYSTFSYVDPVITSISPK
YGPMAGGTLTLTGNYLNSGNSRHISIGGKTCTLKSVSNSILECYTPAQTISTEFA
VKLKIDLANRETSIFSYPREDPIVYEHPTKSFISGGSTITGVGKNLNSVSVPRMVINV
HEAGRNFVACQHRNSEIICCTTPSLQQNLQLPLKTKAFFMLDGILSKYFDLIY
VHNVPVKPFKPMISMGNENVLEIKGNDIDPEAVKGEVLKVGNGKSCENIHLHSE
AVLCTVPNDLLKLNSELNIEWKQAISSTVLGKVIVQPDQNET

- 5 Koyu, italik yazılmış amino asitler sinyal dizisini temsil eder.

Flis etiketli Beşeri c-Met Sema Alanı (DİZİ İD NO:76)

MKAPAVLAPGILVLLFTLVQRSNGECKEALAKSEMNVNMKYQLPNFTAETPIQN
VILHEHHIFLGATNYIYVLNEEDLQKVAEYKTGPVLEHPDCFPQCDCSSKANLSG
GVWKDNINMALVVDITYDDQLISCGSVNRGTCQRHVFPNHTADIQSEVHCIFS
PQIEEPSQCPDCVVSALGAKVLSSVKDRFINFFVGNTINSSYFPDHPLHSISVRRLK
ETKDGFMFLTDQSYIDVLPEFRDSYPIKYVHAFESNNFIYFLTVQRETLDAQTFHT
RIIRFCSINSGLHSYMEMPLECILTEKRKKRSTKKEVFENILQAAVVSKEPGAQLARQI
GASLNDDILFGVFAQSKPDSAEPMDRSAMCAFPKYVNDFFNKIVNKNNVRCLO
HFYGPNEHCFNRTLRLNSSGCEARRDEYRTEFTTALQRVDLFMGQFSEVLLTSI
STFIKDLTIANLGTSEGRFMQVVVSRSRGPSTPHVNFLLDSPVSPVIVEHTLNQ
NGYTLVITGKKITKIPLNGLGCRHFQSCSQCLSAPPFVQCGWCHDKCVRSEECLS
GTWTQQICL*DYKDDDDKHVHHHHH***

Koyu, italik yazılmış amino asitler sinyal dizisini temsil eder; koyu altı çizili amino asitler Flis etiketini temsil eder.

Beşeri c-Met Hücre Dışı Alanında C8- Antikoru Epitopları

121VVDTTYDDQL₁₃₀ (DİZİ İD NO:77)

131ISCGSVNRGTCQRHVFPNHTADIQS₁₅₆ (DİZİ İD NO:78)

179ALGAKVLSSVKDRFINF₁₉₅ (DİZİ İD NO:79)

5 216VRRLKETKDGFM₂₂₇ (DİZİ İD NO:80)

123DTYYDD₁₂₈ (DİZİ İD NO:81)

144HVFPHNHTADIQS₁₅₆ (DİZİ İD NO: 82)

192FINF₁₉₅ (DİZİ İD NO:83)

220KETKDGFM₂₂₇ (DİZİ İD NO:84)

10 **Beşeri c-Met Hücre Dışı Alanında D11- Antikoru Epitopları**

84YKTGPVLEHPDCFCQDCSSKANL₉₅ (DİZİ İD NO:85)

95CFPCQDCSSKA₁₀₅ (DİZİ İD NO:86)

Konsensus CDR Dizileri**D11- Antikoru Hafif Zincir CDR2**

15 GTSX₁LX₂S (DİZİ İD NO:87), burada X₁ Y veya R'dir; ve X₂ A veya R'dir;

C8-Antikoru Hafif Zincir CDR1

SVSSSVX₃SIYLH (DİZİ İD NO:88), burada X₃ S veya R'dir;

C8- Antikoru Hafif Zincir CDR3

20 X₄X₅YX₆GYPLT (DİZİ İD NO:89), burada X₄ I veya Q'dur, X₅ Q veya V'dir, ve X₆ S veya R'dir;

D11-Ağır Zincir Antikor CDR2

WIYPVTGDTYYX₇EX₈FKG (DİZİ İD NO:90), burada X₇ N, I veya R'dir ve X₈ K veya P'dir;

D11- Antikoru Ağır Zincir CDR 3

25 GYGAFX₉Y (DİZİ İD NO:91), burada X₉ Y veya F'dir;

C8- Antikoru Ağır Zincir CDR 2

RVNPX₁₀RX₁₁X₁₂TTYNQKFEG (DİZİ İD NO:92), burada X₁₀ N veya Y'dir, X₁₁ G veya R'dir ve X₁₂ G veya S'dir;

C8- Antikoru Ağır Zincir CDR3

$X_{13}NX_{14}LDY$ (DİZİ İD NO:93), burada X_{13} T veya A'dır ve X_{14} W veya I'dir;

Konsensus Hafif Zincir Değişken Bölge Dizileri**D11- Antikoru Hafif Zincir Değişken Bölge Konsensus Dizisi (DİZİ İD NO:94)**

5 EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSVSSSISSTNLHWYQQKPGQAPRLLIY

GTSX₁LX₂SGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQWSSYPYSFG
QGTKLEIK

burada X_1 Y veya R'dir ve X_2 A veya R'dir;

C8- Antikoru Hafif Zincir Değişken Bölge Konsensus Dizisi (DİZİ İD NO:95)

10 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSVSSSVX₃SIYLHWYQQKPGKAPKLLIY
STSNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCX₄X₅YX₆GYPLTFG
GGTKVEIK

burada X_3 S veya R'dir, X_4 I veya Q'dur, X_5 Q veya V'dir ve X_6 S veya R'dir;

Konsensus Ağır Zincir Değişken Bölge Dizileri**D11-Antikor Ağır Zincir Değişken Bölge Konsensus Dizisi (DİZİ İD NO:96)**

15 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSRYYHWVRQAPGQGLEWMGW
IYPVTGDTYYX₇EX₈FKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDFAVYYCARGY
GAFX₉YWGQGTLVTVS

burada X_7 N, I veya R'dir, X_8 K veya P'dir ve X_9 Y veya F'dir;

C8- Antikor Ağır Zincir Değişken Bölge Konsensus Dizisi (DİZİ İD NO:97)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGR
VNPX₁₀RX₁₁X₁₂TTYNQKFEGRVMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARX₁₃
NX₁₄LDYWGQGTITVTVS

burada X_{10} Y veya N'dir, X_{11} G veya R'dir, X_{12} S veya G'dir, X_{13} A veya T'dir ve X_{14} I veya W'dur.

20 Buluş şimdi aşağıdaki numaralandırılmış maddelere referansla açıklanacaktır.

1. Bir monoklonal antikor olup,

a) beşeri c-Met'in α -zinciri içindeki bir epitopu bağlar,

b) hücre yüzeyi beşeri c-Met'in içselleştirilmesine yol açar.

2. Madde 1'in monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, burada antikor veya bunun antikor bağlayıcı fragmanı hücre yüzeyi beşeri c-Met'in hepatosit büyüme faktöründen bağımsız olarak içselleştirilmesine yol açar.

3. Madde 1-2'nin herhangi birinin monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, c-Met kinaz alanı mutasyonu M1149T ve membran yanı alanı mutasyonu R988C'den oluşan gruptan seçilen bir işlev mutasyonu kazanıcı içeren bir beşeri c-Met varyantı ihtiva eden hücrelerde beşeri c-Met'in içselleştirilmesine yol açar.

4. Madde 1-3'ün herhangi birinin monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, burada antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen bir amino asit içine bağlanır:

- a) ¹²¹VVD¹³⁰TYDDQL¹³⁰ (DİZİ İD NO:77),
- b) ¹³¹ISCGSVNRGTCQRHVFPNHTADIQS¹⁵⁶ (DİZİ İD NO:78),
- c) ¹⁷⁹ALGAKVLSSVKDRFINF¹⁹⁵ (DİZİ İD NO:79) ve
- d) ²¹⁶VRRLKETKDGFM²²⁷ (DİZİ İD NO:80).

5. Madde 1-4'ün herhangi birinin monoklonal antikoru olup, burada antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen bir amino asit dizisi içinde bağlanır:

- a) ¹²³DTYYDD¹²⁸ (DİZİ İD NO:81),
- b) ¹⁴⁴HVFPNHTADIQS¹⁵⁶ (DİZİ İD NO: 82),
- c) ¹⁹²FINF¹⁹⁵ (DİZİ İD NO:83) ve
- d) ²²⁰KETKDGFM²²⁷ (DİZİ İD NO:84).

6. Madde 1-5'in herhangi birinin monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, burada antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı, kendileri de dâhil olmak üzere ¹²³DTYYDD¹²⁸ (DİZİ İD NO:81), ¹⁴⁴HVFPNHTADIQS¹⁵⁶ (DİZİ İD NO: 82), ¹⁹²FINF¹⁹⁵ (DİZİ İD NO:83), and ²²⁰KETKDGFM²²⁷ (DİZİ İD NO:84) ile karakterize edilen konformasyonel epitop içinde bir amino asit dizisini bağlar.

7. Madde 1-3'ün herhangi birinin monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, burada antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı kendisi de dâhil

olmak üzere ${}_{84}\text{YKTGPVLEHPDCFCQDCSSKANL}_{107}$ (DİZİ İD NO:85) amino asit dizisi içinde bağlanır.

8. Madde 1-3'ün herhangi birinin monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, burada antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı kendisi de dâhil olmak üzere ${}_{95}\text{CFPCQDCSSKA}_{105}$ (DİZİ İD NO:86) amino asit dizisi içinde bağlanır.

9. Madde 1-8'in herhangi birinin monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, burada antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı üç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (LCDR) ve üç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (HCDR) içerir, burada sözü edilen üç LCDR ve sözü edilen üç HCDR

10 aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilir:

a) SVSSSISSTNLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:49) içeren LCDR1;
GTSX₁LX₂S amino asit dizisini (DİZİ İD NO:87) içeren LCDR2, wherein X₁ Y veya R'dir ve X₂ A veya R'dir;

15 QQWSSYPYS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:51) içeren LCDR3;
GYTFTSRYIH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:59) içeren HCDR1;
WIYPVTGDTYYX₇EX₈FKG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:90) içeren HCDR2, burada X₇ N, I veya R'dir ve X₈ K veya P'dir; ve
GYGAFX₉Y amino asit dizisini (DİZİ İD NO:91) içeren HCDR3, burada X₉ Y veya F'dir; ve

20 b) SVSSSVX₃SIYLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:88) içeren LCDR1, burada X₃ S veya R'dir;

STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:54) içeren LCDR2,
X₄X₅YX₆GYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO:89) içeren LCDR3, burada X₄ I veya Q'dur, X₅ Q veya V'dir ve X₆ S veya R'dir;

25 GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:65) içeren HCDR1,
RVNPX₁₀RX₁₁X₁₂TTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:92) içeren HCDR2, burada X₁₀ N veya Y'dir, X₁₁ G veya R'dir ve X₁₂ G veya S'dir; ve
X₁₃NX₁₄LDY (DİZİ İD NO:93) amino asit dizisini içeren HCDR3, burada X₁₃ T veya A'dır ve X₁₄ W veya I'dir.

30 10. Madde 1, 3, 7 ve 9'un herhangi birinin monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, burada antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı üç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (LCDR) ve üç ağır zincir tamamlayıcılık belirleme

bölgesi (HCDR) içerir, burada LCDR1 SVSSSISSTNLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:49) içerir,

LCDR2 GTSX₁LX₂S amino asit dizisini (DİZİ İD NO:87) içerir, burada X₁ Y veya R'dir ve X₂ A veya R'dir,

- 5 LCDR3 QQWSSYPYS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:51) içerir,
HCDR1 GYTFTSRYIH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:59) içerir,
HCDR2 WIYPVTGDTYYX₇EX₈FKG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:90) içerir, burada X₇ N, I veya R'dir ve X₈ K veya P'dir ve
HCDR3 GYGAFX₉Y amino asit dizisini (DİZİ İD NO:91) içerir, burada X₉ Y veya F'dir.

- 10 11. Madde 1-6, 8 ve 9'un herhangi birinin monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, burada antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı üç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (LCDR) ve üç ağır zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (HCDR) içerir, burada LCDR1 SVSSSVX₃SIY₄LH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:88) içerir, burada X₃ S veya R'dir;

- 15 LCDR2 STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:54) içerir,
LCDR3 X₄X₅YX₆GYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO:89) içerir, burada X₄ I veya Q'dur, X₅ Q veya V'dir ve X₆ S veya R'dir,
HCDR1 GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:65) içerir,
HCDR2 RVNPX₁₀RX₁₁X₁₂TTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:92) içerir,
20 burada X₁₀ N veya Y'dir, X₁₁ G veya R'dir ve X₁₂ G veya S'dir ve
HCDR3 X₁₃NX₁₄LDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:93) içerir, burada X₁₃ T veya A'dır ve X₁₄ W veya I'dir.

12. Madde 1-11'in herhangi birinin monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, üç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (LCDR) ve üç ağır zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (HCDR) içerir, burada sözü edilen üç LCDR ve sözü edilen üç HCDR aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilir:

- a) SVSSSISSTNLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:49) içeren LCDR1,
GTSYLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:50) içeren LCDR2,
QQWSSYPYS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:51) içeren LCDR3,
30 GYTFTSRYIH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:59) içeren HCDR1,
WIYPVTGDTYYNEKFKG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:60) içeren HCDR2 ve
GYGAFYY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:61) içeren HCDR3;

- b) SVSSSISSTNLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:49) içeren LCDR1,
 GTSYLA amino asit dizisini (DİZİ İD NO:50) içeren LCDR2,
 QQWSSYPYS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:51) içeren LCDR3,
 GYTFTSRYPH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:59) içeren HCDR1
 5 WIYPVTGDTYYIEKFKG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:62) içeren HCDR2 ve
 GYGAFYY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:63) içeren HCDR3;
- c) SVSSSISSTNLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:49) içeren LCDR1,
 GTSRLRS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:52) içeren LCDR2,
 QQWSSYPYS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:51) içeren LCDR3,
 10 GYTFTSRYPH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:59) içeren HCDR1,
 WIYPVTGDTYYREPFGK amino asit dizisini (DİZİ İD NO:64) içeren HCDR2 ve
 GYGAFYY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:61) içeren HCDR3;
- d) SVSSSVSSIYLLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:53) içeren LCDR1,
 STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:54) içeren LCDR2,
 15 IQYSGYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO:55) içeren LCDR3,
 GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:65) içeren HCDR1,
 RVNPNRGGTTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:66) içeren HCDR2 ve
 TNWLDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:67) içeren HCDR3;
- e) SVSSSVSSIYLLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:53) içeren LCDR1,
 20 STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:54) içeren LCDR2,
 QVYSGYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO:56) içeren LCDR3,
 GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:65) içeren HCDR1,
 RVNPNRRGGTTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:68) içeren HCDR2 ve
 ANWLDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:69) içeren HCDR3 ve
- f) SVSSSVRSIYLLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:57) içeren LCDR1,
 25 STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:54) içeren LCDR2,
 QVYRGYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO:58) içeren LCDR3,
 GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:65) içeren HCDR1,
 RVNPNRGSTTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:70) içeren HCDR2 ve
 30 ANILDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:71) içeren HCDR3.

13. Madde 1-3, 7, 9, 10 ve 12'nin herhangi birinin monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, üç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (LCDR) ve üç

ağır zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (HCDR) içerir, burada sözü edilen üç LCDR ve sözü edilen üç HCDR aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilir:

- a) SVSSSISSTNLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:49) içeren LCDR1,
GTSYLA amino asit dizisini (DİZİ İD NO:50) içeren LCDR2,
5 QWSSYPYS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:51) içeren LCDR3,
GYTFTSRYIH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:59) içeren HCDR1,
WIYPVTGDTYYNEKFKG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:60) içeren HCDR2 ve
GYGAFYY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:61) içeren HCDR3;
- b) SVSSSISSTNLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:49) içeren LCDR1,
10 GTSYLA amino asit dizisini (DİZİ İD NO:50) içeren LCDR2,
QWSSYPYS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:51) içeren LCDR3,
GYTFTSRYIH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:59) içeren HCDR1,
WIYPVTGDTYYIEKFKG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:62) içeren HCDR2 ve
GYGAFFY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:63) içeren HCDR3;
- c) SVSSSISSTNLH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:49) içeren LCDR1,
15 GTSRLRS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:52) içeren LCDR2,
QWSSYPYS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:51) içeren LCDR3,
GYTFTSRYIH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:59) içeren HCDR1,
WIYPVTGDTYYREPFGK amino asit dizisini (DİZİ İD NO:64) içeren HCDR2 ve
20 GYGAFYY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:61) içeren HCDR3.

14. Madde 1-6, 8, 9, 11 ve 12'nin herhangi birinin monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, üç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (LCDR) ve üç ağır zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (HCDR) içerir, burada sözü edilen üç LCDR ve sözü edilen üç HCDR aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilir:

- a) SVSSSVSSIYLA amino asit dizisini (DİZİ İD NO:53) içeren LCDR1,
25 STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:54) içeren LCDR2,
IQYSGYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO:55) içeren LCDR3,
GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:65) içeren HCDR1,
RVNPNRGGTTYNQKFEK amino asit dizisini (DİZİ İD NO:66) içeren HCDR2 ve
30 TNWLDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:67) içeren HCDR3;

b) SVSSSVSSIY LH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:53) içeren LCDR1,
 STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:54) içeren LCDR2,
 QVYSGYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO:56) içeren LCDR3,
 GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:65) içeren HCDR1,
 5 RVNPNRRGTTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:68) içeren HCDR2 ve
 ANWLDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:69) içeren HCDR3 ve

c) SVSSSVRSIY LH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:57) içeren LCDR1,
 STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:54) içeren LCDR2,
 QVYRGYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO:58) içeren LCDR3,
 10 GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:65) içeren HCDR1,
 RVNPNRGSTTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:70) içeren HCDR2 ve
 ANILDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:71) içeren HCDR3.

15. Madde 1-3, 8, 9, 11, 12 ve 14'ün herhangi birinin monoklonal antikoru veya bunun
 antijen bağlayıcı fragmanı olup, üç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (LCDR)

15 ve üç ağır zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (HCDR) içerir, burada

LCDR1 SVSSSVSSIY LH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:53) içerir,
 LCDR2 STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:54) içerir,
 LCDR3 IQYSGYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO:55) içerir,
 HCDR1 GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:65) içerir,
 20 HCDR2 RVNPNRRGGTTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:66) içerir ve
 HCDR3 TNWLDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:67) içerir.

16. Madde 1-6, 9, 11, 12 ve 14'ün monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı
 fragmanı olup, üç hafif zincir tamamlayıcılık belirleme bölgesi (LCDR) ve üç ağır zincir
 tamamlayıcılık belirleme bölgesi (HCDR) içerir, burada

25 LCDR1 SVSSSVSSIY LH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:53) içerir,
 LCDR2 STSNLAS amino asit dizisini (DİZİ İD NO:54) içerir,
 LCDR3 QVYSGYPLT amino asit dizisini (DİZİ İD NO:56) içerir,
 HCDR1 GYTFTDYMH amino asit dizisini (DİZİ İD NO:65) içerir,
 HCDR2 RVNPNRRGTTYNQKFEG amino asit dizisini (DİZİ İD NO:68) içerir ve
 30 HCDR3 ANWLDY amino asit dizisini (DİZİ İD NO:69) içerir.

17. Madde 1-16'nın herhangi birinin monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, bir hafif zincir değişken bölgesi (LCVR) ve bir ağır zincir değişken bölgesi (HCVR) içerir, burada sözü edilen LCVR ve sözü edilen HCVR sırasıyla aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen amino asit dizilerini içerir:

- 5 a) DİZİ İD NO:94 ve DİZİ İD NO:96; ve
b) DİZİ İD NO:95 ve DİZİ İD NO:97.

18. Madde 1-3, 7, 9, 10, 12, 13 ve 17'nin herhangi birinin monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, bir hafif zincir değişken bölgesi (LCVR) ve bir ağır zincir değişken bölgesi (HCVR) içerir, burada sözü edilen LCVR DİZİ İD NO:94'ü içerir ve
10 sözü edilen HCVR DİZİ İD NO:96'yı içerir.

19. Madde 1-6, 8, 9, 11, 12 ve 14-17'nin herhangi birinin monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, bir hafif zincir değişken bölgesi (LCVR) ve bir ağır zincir değişken bölgesi (HCVR) içerir, burada sözü edilen LCVR DİZİ İD NO:95'i içerir ve sözü edilen HCVR DİZİ İD NO:97'yi içerir

- 15 20. Madde 1-19'un herhangi birinin monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, burada sözü edilen LCVR ve sözü edilen HCVR aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen amino asit dizilerini içerir:

- a) LCVR DİZİ İD NO:1'dir ve HCVR DİZİ İD NO:13'tür;
b) LCVR DİZİ İD NO:2'dir ve HCVR DİZİ İD NO:14'tür;
20 c) LCVR DİZİ İD NO:3'tür ve HCVR DİZİ İD NO:15'tir;
d) LCVR DİZİ İD NO:4'tür ve HCVR DİZİ İD NO:16'dır;
e) LCVR DİZİ İD NO:5'tir ve HCVR DİZİ İD NO:17'dir; ve
f) LCVR DİZİ İD NO:6'dır ve HCVR DİZİ İD NO:18'dir.

21. Madde 1-3, 7, 9, 10, 12, 13, 17, 18 ve 20'nin herhangi birinin monoklonal antikoru
25 veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, burada sözü edilen LCVR ve sözü edilen HCVR sırasıyla aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen amino asit dizilerini içerir:

- a) LCVR DİZİ İD NO:1'dir ve HCVR DİZİ İD NO:13'tür;
b) LCVR DİZİ İD NO:2'dir ve HCVR DİZİ İD NO:14'tür; ve
c) LCVR DİZİ İD NO:3'tür ve HCVR DİZİ İD NO:15'tir.

22. Madde 1-6, 8, 9, 11, 12, 14-17, 19 ve 20'nin herhangi birinin monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, burada sözü edilen LCVR ve sözü edilen HCVR aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen amino asit dizilerini içerir:

- a) LCVR DİZİ İD NO:4'tür ve HCVR DİZİ İD NO:16'dır;
- 5 b) LCVR DİZİ İD NO:5'tir ve HCVR DİZİ İD NO:17'dir; ve
- c) LCVR DİZİ İD NO:6'dır ve HCVR DİZİ İD NO:18'dir.

23. Madde 1-3, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 17, 19, 20 ve 22'nin herhangi birinin monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, burada sözü edilen LCVR DİZİ İD NO:4'ün amino asit dizisini içerir ve sözü edilen HCVR DİZİ İD NO: 16'nın amino asit dizisini içerir.

24. Madde 1-6, 9, 11, 12, 14, 16, 17, 19, 20 ve 22'nin herhangi birinin monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı olup, burada sözü edilen LCVR DİZİ İD NO:5'in amino asit dizisini içerir ve sözü edilen HCVR DİZİ İD NO: 17'nin amino asit dizisini içerir.

15 25. Madde 1-24'ün herhangi birinin monoklonal antikoru olup, burada sözü edilen antikor bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir ve ağır zincir aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen amino asit dizilerini içerir:

- a) hafif zincir DİZİ İD NO:25'tir ve ağır zincir DİZİ İD NO:37'dir;
- b) hafif zincir DİZİ İD NO:26'dır ve ağır zincir DİZİ İD NO:38'dir;
- 20 g) hafif zincir DİZİ İD NO:27'dir ve ağır zincir DİZİ İD NO:39'dur;
- h) hafif zincir DİZİ İD NO:28'dir ve ağır zincir DİZİ İD NO:40'tır;
- i) hafif zincir DİZİ İD NO:29'dur ve ağır zincir DİZİ İD NO:41'dir; ve
- j) hafif zincir DİZİ İD NO:30'dur ve ağır zincir DİZİ İD NO:42'dir.

25 26. Madde 1-3, 7, 9, 10, 12, 13, 17, 18, 20, 21 ve 25'in herhangi birinin monoklonal antikoru olup, burada sözü edilen antikor bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir ve ağır zincir aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen amino asit dizilerini içerir:

- a) hafif zincir DİZİ İD NO:25'tir ve ağır zincir DİZİ İD NO:37'dir,
- b) hafif zincir DİZİ İD NO:26'dır ve ağır zincir DİZİ İD NO:38'dir ve
- d) hafif zincir DİZİ İD NO:27'dir ve ağır zincir DİZİ İD NO:39'dur.

27. Madde 1-6, 8, 9, 11, 12, 14-17, 19, 20 ve 22-25'in herhangi birinin monoklonal antikoru olup, burada sözü edilen antikor bir hafif zincir ve bir ağır zincir içerir, burada hafif zincir ve ağır zincir aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen amino asit dizilerini içerir:

a) hafif zincir DİZİ İD NO:28'dir ve ağır zincir DİZİ İD NO:40'tır;

5 b) hafif zincir DİZİ İD NO:29'dur ve ağır zincir DİZİ İD NO:41'dir; ve

c) hafif zincir DİZİ İD NO:30'dur ve ağır zincir DİZİ İD NO:42'dir.

28. Madde 1-3, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 17, 19, 20, 22, 23, 25 ve 27'nin herhangi birinin monoklonal antikoru olup, burada sözü edilen hafif zincir DİZİ İD NO:28'in amino asit dizisini içerir ve sözü edilen ağır zincir DİZİ İD NO:40'ın amino asit dizisini içerir.

10 29. Madde 1-6, 9, 11, 12, 14, 16, 17, 19, 20, 22, 24, 25 ve 27'nin herhangi birinin monoklonal antikoru olup, burada sözü edilen hafif zincir DİZİ İD NO:29'un amino asit dizisini içerir ve sözü edilen ağır zincir DİZİ İD NO:41'in amino asit dizisini içerir.

30. Madde 1-3, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 17, 19, 20, 22, 23, 25, 27 ve 28'in herhangi birinin monoklonal antikoru olup, burada antikor iki hafif zincir ve iki ağır zincir içerir, burada her hafif zincir DİZİ İD NO:28'in amino asit dizisini içerir ve her ağır zincir DİZİ İD NO:40'ın amino asit dizisini içerir.

31. Madde 1-6, 9, 11, 12, 14, 16, 17, 19, 20, 22, 24, 25, 27 ve 29'un herhangi birinin monoklonal antikoru olup, burada antikor iki hafif zincir ve iki ağır zincir içerir, burada her hafif zincir DİZİ İD NO:29'un amino asit dizisini içerir ve her ağır zincir DİZİ İD NO:41'in amino asit dizisini içerir.

32. Madde 1-31'in herhangi birinin c-Met monoklonal antikoruyla veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı ile rekabet eden bir monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı.

33. Madde 1-32'nin herhangi birinin c-Met monoklonal antikoruyla veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı ile aynı c-Met epitopuna bağlanan bir monoklonal antikor veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı

34. Madde 1-33'ün herhangi birinin monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanını ve farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcı, seyreltici veya ekspanan içeren bir farmasötik bileşim.

30 35. Tedavide kullanım için madde 1-34'ün herhangi birinin bir monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı.

36. Bir insanda bir kanserin tedavisinde kullanım için madde 1-35'in herhangi birinin bir monoklonal antikoru veya bunun antijen bağlayıcı fragmanı.

DİZİ LİSTESİ

<110> Eli Lilly and Company

<120> c-Met Antikorları

<130> X-18217

5 <150> 61/116825

<151> 2008-11-21

<150> 61/219903

<151> 2009-06-24

<160> 97

10 <170> PatentIn versiyon 3.5

<210> 1

<211> 108

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

15 <220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

<210> 2

<211> 108

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

5 <220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 2

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

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

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

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

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

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

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

<210> 3

10 <211> 108

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 3

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

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

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

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

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

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

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

5 <210> 4

<211> 108

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

10 <223> Sentetik Oluşum

<400> 4

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Val Ser Ser Ile
 20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 5

<211> 108

5 <212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 5

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Val Ser Ser Ile
 20 25 30

10 Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu

35

40

45

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

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

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

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

<210> 6

<211> 108

5 <212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 6

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Val Arg Ser Ile
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 7

<211> 324

<212> DNA

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 7

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc	60
ctctcctgca gtgtcagctc aagtataagt tccaccaact tacactggta ccagcagaaa	120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggcacatcct atctggcttc tggcatccca	180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag	240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcaa cagtggagta gttaccogta cagtttcggc	300
caagggacca agttggagat caaa	324

5 <210> 8

<211> 324

<212> DNA

<213> Yapay Dizi

<220>

10 <223> Sentetik Oluşum

<400> 8

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc	60
ctctcctgca gtgtcagctc aagtataagt tccaccaact tacactggta ccagcagaaa	120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggcacatcct acctggcttc tggcatccca	180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag	240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcaa cagtggagta gttaccogta cagtttcggc	300
caagggacca agttggagat caaa	324

<210> 9

<211> 324

15 <212> DNA

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 9

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gtgtcagctc aagtataagt tccaccaact tacactggta ccagcagaaa 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggcacatcca gactgagatc tggcatccca 180
 gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gatttcactc tcaccatcag cagactggag 240
 cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcaa cagtggagta gttaccogta cagtttcggc 300
 caagggacca agttggagat caaa 324

<210> 10

<211> 324

5 <212> DNA

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 10

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgca gtgtcagctc aagtgttaagt tccatttact tgcactggta tcagcagaaa 120
 ccagggaaaag cccctaagct cctgatctat agcacatcca acttggtctc tggagtccca 180
 tcaaggttca gtggcagtgg atctgggaca gatttcactc tcaccatcag cagtctgcaa 240
 cctgaagatt ttgcaactta ctactgtatt cagtacagtg gttaccogct caggttcggc 300
 ggagggacca aggtggagat caaa 324

10

<210> 11

<211> 324

<212> DNA

<213> Yapay Dizi

15

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 11

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgca gtgtcagctc aagtgttaagt tccatttact tgcactggta tcagcagaaa 120
 ccagggaaaag cccctaagct cctgatctat agcacatcca acttggtctc tggagtccca 180
 tcaaggttca gtggcagtgg atctgggaca gatttcactc tcaccatcag cagtctgcaa 240
 cctgaagatt ttgcaactta ctactgtcag gtgtacagtg gttaccogct caggttcggc 300
 ggagggacca aggtggagat caaa 324

<210> 12

<211> 324

<212> DNA

<213> Yapay Dizi

5 <220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 12

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
atcaacttgca gtgtcagctc aagtgtacgt tccatttact tgcactggta tcagcagaaa	120
ccagggaaaag cccctaagct cctgatctat agcacatcca acttggcttc tggagtecca	180
tcaaggttca gtggcagtgg atctgggaca gatttcactc tcaccatcag cagtctgcaa	240
cctgaagatt ttgcaactta ctactgtcag gtgtacaggg gttaccogct cacgttcggc	300
ggagggacca aggtggagat caaa	324

<210> 13

10 <211> 115

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 13

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

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

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

Gly Trp Ile Tyr Pro Val Thr Gly Asp Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser
115

<210> 14

<211> 115

5 <212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 14

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

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

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

10

Gly Trp Ile Tyr Pro Val Thr Gly Asp Thr Tyr Tyr Ile Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser
115

<210> 15

<211> 115

5 <212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 15

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

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

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

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

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

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

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

Thr Val Ser
115

10

<210> 16

<211> 114

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

5 <220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 16

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

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

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

Gly Arg Val Asn Pro Asn Arg Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Val Ser

<210> 17

10 <211> 114

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 17

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

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

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

Gly Arg Val Asn Pro Asn Arg Arg Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

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

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

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

Val Ser

5 <210> 18

<211> 114

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

10 <223> Sentetik Oluşum

<400> 18

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser

<210> 19

<211> 345

5 <212> DNA

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 19

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggcta caccttcaca agtaggtata tacactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atttattcctg taactgggtga tacttactac 180

aacgagaagt tcaagggcag agtcacgatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggctac 300

10 ggagcttttt actactgggg ccagggcacc ctggtcaccg tctcc 345

<210> 20

<211> 345

<212> DNA

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 20

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc	60
tcctgcaagg cttctggcta caccttcaca agtaggtata tacactgggt gcgacaggcc	120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atttatcctg taactgggtga tacttactac	180
atcgagaagt tcaagggcag agtcacgatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac	240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggctat	300
ggtgcttttt tctactgggg ccagggcacc ctggtcaccg tctcc	345

5 <210> 21

<211> 345

<212> DNA

<213> Yapay Dizi

<220>

10 <223> Sentetik Oluşum

<400> 21

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc	60
tcctgcaagg cttctggcta caccttcaca agtaggtata tacactgggt gcgacaggcc	120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atttatcctg taactgggtga tacttactac	180
agagagcctt tcaagggcag agtcacgatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac	240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggctat	300
ggggcttttt actactgggg ccagggcacc ctggtcaccg tctcc	345

15 <210> 22

<211> 342

<212> DNA

<213> Yapay Dizi

<220>

20 <223> Sentetik Oluşum

<400> 22

caggttcagc	tggtgcagtc	tggtgctgag	gtgaagaagc	ctggtgcctc	agtgaaggtc	60
tcctgcaagg	cttctgggta	cacctttacc	gactactaca	tgactgggt	gcgtcaggcc	120
cctggccaag	gtcttgagt	gatgggtcgt	gttaatccta	accgggggtg	tactacctac	180
aaccagaaat	tcgagggccg	gtcaccatg	accacagaca	catccacgag	cacagcctac	240
atggagctgc	gtagcctgog	ttctgacgac	acggccgtgt	attactgtgc	gcgtacgaac	300
tggttgact	actggggcca	gggcaccacc	gtcaccgtct	cc		342

<210> 23

<211> 342

5 <212> DNA

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 23

caggttcagc	tggtgcagtc	tggtgctgag	gtgaagaagc	ctggtgcctc	agtgaaggtc	60
tcctgcaagg	cttctgggta	cacctttacc	gactactaca	tgactgggt	gcgtcaggcc	120
cctggccaag	gtcttgagt	gatgggtcgt	gttaatccta	accggagggg	tactacctac	180
aaccagaaat	tcgagggccg	gtcaccatg	accacagaca	catccacgag	cacagcctac	240
atggagctgc	gtagcctgog	ttctgacgac	acggccgtgt	attactgtgc	gcgtgcgaac	300
tggttgact	actggggcca	gggcaccacc	gtcaccgtct	cc		342

<210> 24

<211> 342

<212> DNA

<213> Yapay Dizi

15 <220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 24

caggttcagc	tggtgcagtc	tggtgctgag	gtgaagaagc	ctggtgcctc	agtgaaggtc	60
tcctgcaagg	cttctgggta	cacattcact	gactactaca	tgactgggt	gcgtcaggcc	120
cctggccaag	gtcttgagt	gatgggtcgt	gttaatcctt	atcggggtag	tactacctac	180
aaccagaaat	tcgagggccg	gtcaccatg	accacagaca	catccacgag	cacagcctac	240

atggagctgc gtagcctgcg ttctgacgac acggccgtgt attactgtgc gcgtgcgaac 300
attcttgact actggggcca gggcaccacc gtcaccgtct cc 342

<210> 25

<211> 215

5 <212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 25

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

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

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

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

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

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

Tyr Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

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

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

10

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 26

<211> 215

5 <212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 26

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

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

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

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

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

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

Tyr Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110

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

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175

10

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 27

<211> 215

5 <212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 27

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

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

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

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

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

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

Tyr Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110

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

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160

10 Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu

165

170

175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 28

<211> 215

5 <212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 28

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Val Ser Ser Ile
20 25 30

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

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

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

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

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

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

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

10 Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 29

<211> 215

5 <212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 29

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Val Ser Ser Ile
20 25 30

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

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

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

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

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

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

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

10

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 30

<211> 215

5 <212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 30

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Val Arg Ser Ile
20 25 30

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

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

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

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

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

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

10

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 31

<211> 645

5 <212> DNA

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 31

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gtgtcagctc aagtataagt tccaccaact tacactggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggcacatcct acctggcttc tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcaa cagtggagta gttaccogta cagtttcggc 300
caagggacca agttggagat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg cctccaatc gggtactcc 480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg 540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag 600
10 ggctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgc 645

<210> 32

<211> 645

<212> DNA

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 32

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc	60
ctctcctgca gtgtcagctc aagtataagt tccaccaact tacactggta ccagcagaaa	120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggcacatcct acctggcttc tggcatccca	180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag	240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcaa cagtggagta gttaccogta cagtttcggc	300
caagggacca agttggagat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg	360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc	420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggttaactcc	480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacccctg	540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag	600
ggcctgagct cggccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgc	645

5 <210> 33

<211> 645

<212> DNA

<213> Yapay Dizi

<220>

10 <223> Sentetik Oluşum

<400> 33

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc	60
ctctcctgca gtgtcagctc aagtataagt tccaccaact tacactggta ccagcagaaa	120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggcacatcca gactgagatc tggcatccca	180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag	240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcaa cagtggagta gttaccogta cagtttcggc	300
caagggacca agttggagat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg	360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc	420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggttaactcc	480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacccctg	540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag	600
ggcctgagct cggccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgc	645

<210> 34

<211> 645

<212> DNA

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

5 <400> 34

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgca gtgtcagctc aagtgttaagt tccatttact tgcactggta tcagcagaaa 120
ccagggaaaag cccctaagct cctgatctat agcacatcca acttggcttc tggagtccca 180
tcaaggttca gtggcagtgg atctgggaca gatttctctc tcaccatcag cagtctgcaa 240
cctgaagatt ttgcaactta ctactgtatt cagtacagtg gttaccogct cacgttcggc 300
ggagggacca aggtggagat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggttaactcc 480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacccctg 540
acgttgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag 600
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgc 645

<210> 35

<211> 645

<212> DNA

10 <213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 35

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgca gtgtcagctc aagtgtatcc tccatttact tgcactggta tcagcagaaa 120
ccagggaaaag cccctaagct cctgatctat agcacatcca acttggcttc tggagtccca 180
tcaaggttca gtggcagtgg atctgggaca gatttctctc tcaccatcag cagtctgcaa 240
cctgaagatt ttgcaactta ctactgtcaa gtctacagtg gttaccogct cacgttcggc 300
ggagggacca aggtggagat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggttaactcc 480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacccctg 540
acgttgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag 600
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgc 645

<210> 36

<211> 645

<212> DNA

<213> Yapay Dizi

5 <220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 36

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
atcacttgca gtgtcagctc aagtgtacgt tccatttact tgcactggta tcagcagaaa	120
ccagggaaaag cccctaagct cctgatctat agcacatcca acttggtctc tggagtccca	180
tcaaggttca gtggcagtgg atctgggaca gatttcactc tcaccatcag cagtctgcaa	240
cctgaagatt ttgcaactta ctactgtcag gtgtacagg gttaccogct cacgttcggc	300
ggagggacca aggtggagat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg	360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc	420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtactcc	480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg	540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag	600
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgc	645

<210> 37

10 <211> 441

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 37

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

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

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

Gly Trp Ile Tyr Pro Val Thr Gly Asp Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
 115 120 125
 Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 130 135 140
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe
 180 185 190
 Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr
 195 200 205
 Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro
 210 215 220
 Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 225 230 235 240
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 245 250 255
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
 260 265 270
 Tyr Val Asp Gly Met Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 275 280 285
 Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val
 290 295 300
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 305 310 315 320
 Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
 325 330 335
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 340 345 350
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

355

360

365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 370 375 380

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 385 390 395 400

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 405 410 415

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 420 425 430

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440

<210> 38

<211> 441

<212> PRT

5 <213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 38

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

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

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

Gly Trp Ile Tyr Pro Val Thr Gly Asp Thr Tyr Tyr Ile Glu Lys Phe
 50 55 60

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

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

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

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

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160

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

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe
 180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr
 195 200 205

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

Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 225 230 235 240

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

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
 260 265 270

Tyr Val Asp Gly Met Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 275 280 285

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

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 305 310 315 320

Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
 325 330 335

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 340 345 350

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 355 360 365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

370

375

380

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 385 390 395 400

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 405 410 415

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 420 425 430

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440

<210> 39

<211> 441

<212> PRT

5 <213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 39

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe
 180 185 190
 Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr
 195 200 205
 Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro
 210 215 220
 Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 225 230 235 240
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 245 250 255
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
 260 265 270
 Tyr Val Asp Gly Met Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 275 280 285
 Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val
 290 295 300
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 305 310 315 320
 Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
 325 330 335
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 340 345 350
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 355 360 365
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 370 375 380
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

385 390 395 400
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 405 410 415
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 420 425 430
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440
 <210> 40
 <211> 440
 <212> PRT
 5 <213> Yapay Dizi
 <220>
 <223> Sentetik Oluşum
 <400> 40
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Arg Val Asn Pro Asn Arg Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Thr Asn Trp Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
 115 120 125
 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
 130 135 140
 Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
 145 150 155 160

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

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly
 180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
 195 200 205

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

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 225 230 235 240

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

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
 260 265 270

Val Asp Gly Met Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 275 280 285

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His
 290 295 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 305 310 315 320

Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
 325 330 335

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 340 345 350

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 355 360 365

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 370 375 380

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 385 390 395 400

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

405

410

415

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 420 425 430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440

<210> 41

<211> 440

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

5 <220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 41

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

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

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

Gly Arg Val Asn Pro Asn Arg Arg Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

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

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

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

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

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly
180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

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

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
225 230 235 240

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

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
260 265 270

Val Asp Gly Met Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
275 280 285

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His
290 295 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
305 310 315 320

Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
325 330 335

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
340 345 350

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
355 360 365

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
370 375 380

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
385 390 395 400

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
405 410 415

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

420

425

430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440

<210> 42

<211> 440

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

5 <220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 42

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

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

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

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

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

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

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

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

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

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

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly
180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

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

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
225 230 235 240

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

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
260 265 270

Val Asp Gly Met Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
275 280 285

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His
290 295 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
305 310 315 320

Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
325 330 335

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
340 345 350

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
355 360 365

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
370 375 380

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
385 390 395 400

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
405 410 415

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
420 425 430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

435 440

<210> 43

5 <211> 1323

<212> DNA

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

5 <400> 43

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggcta caccttcaca agtaggtata tacactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atttatcctg taactgggtga tacttactac 180
aacgagaagt tcaagggcag agtcacgatt accgcggaca aatccaogag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggctat 300
ggggcttttt actactgggg ccagggcacc ctggtcaccg tctcctccgc ctccaccaag 360
ggcccatcgg tcttcccgtc agcgcctgc tccaggagca cctccgagag cacagccgcc 420
ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cgggtgcgtg gaactcaggc 480
gccctgacca gggcgctgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 540
ctcagcagcg tgggtgacgt gccctccagc aacttcggca cccagacctc cacctgcaac 600
gtagatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagacag ttgagcgcaa atgttgtgtc 660
gagtgcctac cgtgcccagc accacctgtg gcaggaccgt cagtcttctt ctcccccca 720
aaacccaagg acaccctcat gatctccgg acccctgagg tcacgtgctg ggtggtggac 780
gtgagccacg aagacccga ggtccagttc aactggtacg tggacggcat ggaggtgcat 840
aatgccaa ga caaagccacg ggaggagcag ttcaacagca cgttccgtgt ggtcagcgtc 900
ctcaccgtcg tgcaccagga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 960
aaaggcctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaa ccaaagggca gccccgagaa 1020
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1080
acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1140
cagccggaga acaactacaa gaccacacct cccatgctgg actccgacgg ctcttcttc 1200
ctctacagca agctcacgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 1260
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacacaga agagcctctc cctgtctccg 1320
ggt 1323

<210> 44

<211> 1323

<212> DNA

10 <213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 44

caggtgcagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcctgcaagg	cttctggcta	caccttcaca	agtaggtata	tacactgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggatgg	atttatcctg	taactgggtga	tacttactac	180
atcgagaagt	tcaagggcag	agtcacgatt	accgcgga	aatccacgag	cacagcctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	acggccgtgt	attactgtgc	gagaggctat	300
ggtgcttttt	tctactgggg	ccagggcacc	ctgggtcacg	tctcctccgc	ctccaccaag	360
ggcccatcgg	tcttcccgt	agcgccctgc	tccaggagca	cctccgagag	cacagccgcc	420
ctgggctgcc	tggtcaagga	ctacttcccc	gaaccgggtga	cgggtgctgt	gaactcaggc	480
gccctgacca	gcggcgctga	caccttcccc	gctgtcctac	agtcctcagg	actctactcc	540
ctcagcagcg	tggtgaccgt	gccctccagc	aacttcggca	cccagacct	cacctgcaac	600
gtagatcaca	agcccagcaa	caccaagggt	gacaagacag	ttgagcgcaa	atgttggtc	660
gagtgcacc	cgtgcccagc	accacctgtg	gcaggaccgt	cagtcttct	cttccccca	720
aaacccaagg	acacctcat	gatctcccg	accctgagg	tcacgtgct	ggtggtggac	780
gtgagccacg	aagacccga	gtccagttc	aactggtacg	tggaaggcat	ggagggtcat	840
aatgccaaga	caaagccacg	ggaggagcag	ttcaacagca	cgttcctgt	ggtcagcgtc	900
ctcaccgtcg	tgcaccagga	ctggctgaac	ggcaaggagt	acaagtgcaa	ggtctccaac	960
aaaggcctcc	cagcccccat	cgagaaaacc	atctccaaa	ccaaagggca	gccccgagaa	1020
ccacagggtg	acacctgcc	cccatcccg	gaggagatga	ccaagaacca	ggtcagcctg	1080
acctgcctgg	tcaaaggctt	ctaccccagc	gacatcgccg	tggaagtggga	gagcaatggg	1140
cagccggaga	acaactacaa	gaccacacct	cccatgctgg	actccgacgg	ctccttcttc	1200
ctctacagca	agctcacgt	ggacaagagc	aggtggcagc	aggggaacgt	cttctcatgc	1260
tcogtgatgc	atgaggctct	gcacaaccac	tacacacaga	agagcctctc	cctgtctccg	1320
ggt						1323

<210> 45

<211> 1323

5 <212> DNA

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 45

10	caggtgcagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
----	------------	------------	------------	------------	------------	------------	----

tcctgcaagg cttctggcta caccttcaca agtaggtata tacactgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atttatcctg taactgggtga tacttactac 180
 agagagcctt tcaagggcag agtcacgatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggctac 300
 ggagcttttt actactgggg ccagggcacc ctggtcaccg tctcctccgc ctccaccaag 360
 ggcccatcgg tcttcccgtc agcgccctgc tccaggagca cctccgagag cacagccgcc 420
 ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccgggtga cgggtgcgtg gaactcaggc 480
 gccctgacca ggggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 540
 ctgagcagcg tggtagccgt gccctccagc aacttcggca cccagacctc cacctgcaac 600
 gtagatcaca agcccagcaa caccaagggt gacaagacag ttgagcgcaa atgttgtgtc 660
 gagtgccac cgtgcccagc accacctgtg gcaggaccgt cagtcttctt ctcccccca 720
 aaacccaagg acaccctcat gatctcccg acccctgagg tcacgtgcgt ggtgggtggac 780
 gtgagccacg aagacccga ggtccagttc aactggtagc tggacggcat ggaggtgcat 840
 aatgccaaaga caaagccacg ggaggagcag ttcaacagca cgttccgtgt ggtcagcgtc 900
 ctaccgctcg tgcaccagga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 960
 aaaggcctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaa ccaaaggga gccccgagaa 1020
 ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccg gaggatga ccaagaacca ggtcagcctg 1080
 acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1140
 cagccggaga acaactaaa gaccacacct cccatgctgg actccgacgg ctcttcttc 1200
 ctctacagca agctcacgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt ctctcatgc 1260
 tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacacaga agagcctctc cctgtctccg 1320
 ggt 1323

<210> 46

<211> 1323

5 <212> DNA

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 46

caggttcagc tgggtgcagtc tgggtgctgag gtgaagaagc ctggtgccctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctgggta cacctttacc gactactaca tgcactgggt gcgtcaggcc 120
 cctgggtcaag gtcttgagtg gatgggtcgt gttaatccta accgggggtgg tactacctac 180
 aaccagaaat tcgagggccg tgtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
 atggagctgc gtagcctgcg ttctgacgac acggccgtgt attactgtgc gcgtacgaac 300

10

tggcttgact actggggcca gggcaccacc gtcaccgtct cctccgcctc caccaagggc 360
 ccatcggtct tcccgttagc gccctgctcc aggagcacct ccgagagcac agccgcctg 420
 ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc 480
 ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggtt gtcctacagt cctcaggact ctactccctc 540
 agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcacga agacctacac ctgcaacgta 600
 gatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagttg agtccaaata tggccccca 660
 tgccaccctt gccagcacc tgaggcgcc gggggaccat cagtcttctt gttccccca 720
 aaacccaagg acactctcat gatctcccg acccctgagg tcacgtgctt ggtggtggac 780
 gtgagccagg aagaccocga ggtccagttc aactggtacg tggatggcgt ggaggtgcat 840
 aatgccaa ga caaagcccg ggaggagcag ttcaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 900
 ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 960
 aaaggcctcc cgtcctccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagag 1020
 ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1080
 acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga aagcaatggg 1140
 cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttct 1200
 ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc aggtggcagg aggggaatgt cttctcatgc 1260
 tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacacaga agagcctctc cctgtctctg 1320
 ggt 1323

<210> 47

<211> 1323

5 <212> DNA

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 47

caggttcagc tgggtgcagtc tgggtgctgag gtgaagaagc ctggtgcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctgggta cacattcact gactactaca tgactgggt gcgtcaggcc 120
 cctggtcaag gtcttgagtg gatgggtcgt gttaatccta accggagggg tactacctac 180
 aaccagaaat tcgagggccg tgtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
 atggagctgc gtagcctgcg ttctgacgac acggccgtgt attactgtgc gcgtgcgaac 300
 tggcttgact actggggcca gggcaccacc gtcaccgtct cctccgcctc caccaagggc 360
 ccatcggtct tcccgttagc gccctgctcc aggagcacct ccgagagcac agccgcctg 420
 ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc 480

10

ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggt gtccctacagt cctcaggact ctactccctc 540
 agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcacga agacctacac ctgcaacgta 600
 gatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagttg agtccaaata tgggtcccca 660
 tgcccaccct gccagcacc tgaggccgcc gggggaccat cagtcttct gtcccccca 720
 aaaccaagg acactctcat gatctcccg accctgagg tcacgtgct ggtggtggac 780
 gtgagccagg aagacccga ggtccagttc aactggtacg tggatggct ggaggtgcat 840
 aatgccaaaga caaagccgc ggaggagcag ttcaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 900
 ctaccgtcc tgcaccagga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtcaa ggtctccaac 960
 aaaggcctcc cgtcctccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaaggga gcccgagag 1020
 ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1080
 acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga aagcaatggg 1140
 cagccggaga acaactaaa gaccacgct cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttc 1200
 ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc aggtggcagg aggggaatgt cttctcatgc 1260
 tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacacaga agagcctct cctgtctctg 1320
 ggt 1323

<210> 48

<211> 1323

5 <212> DNA

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 48

caggttcagc tgggtgcagtc tgggtgctgag gtgaagaagc ctgggtgcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctgggta cacattcact gactactaca tgcactgggt gcgtcaggcc 120
 cctgggtcaag gtcttgagtg gatgggtcgt gttaatcctt atcggggtag tactacctac 180
 aaccagaaat tcgagggcgc tgtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
 atggagctgc gtagcctgcg ttctgacgac acggccgtgt attactgtgc gcgtgcgaac 300
 attcttgact actggggcca gggcaccacc gtcaccgtct cctccgcctc caccaagggc 360
 ccatcgggtct tcccgttagc gccctgctcc aggagcacct ccgagagcac agccgcctg 420
 ggctgcctgg tcaaggacta cttcccgaa ccgggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc 480
 ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggt gtccctacagt cctcaggact ctactccctc 540
 agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcacga agacctacac ctgcaacgta 600
 gatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagttg agtccaaata tgggtcccca 660
 tgcccaccct gccagcacc tgaggccgcc gggggaccat cagtcttct gtcccccca 720

10

aaacccaagg acactctcat gatctcccg acccctgagg tcacgtgcgt ggtggtggac 780
 gtgagccagg aagaccccg ggtccagttc aactggtacg tggatggcgt ggaggtgcat 840
 aatgccaaaga caaagcccg ggaggagcag ttcaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 900
 ctcaccgtcc tgcaccagga ctggtgaac ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 960
 aaaggcctcc cgtcctccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagag 1020
 ccacaggtgt acacctgcc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1080
 acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga aagcaatggg 1140
 cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc 1200
 ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc aggtggcagg aggggaatgt cttctcatgc 1260
 tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacacaga agagcctctc cctgtctctg 1320
 ggt 1323

<210> 49

<211> 12

5 <212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 49

10 Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Thr Asn Leu His
 1 5 10

<210> 50

<211> 7

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

15 <220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 50

Gly Thr Ser Tyr Leu Ala Ser
 1 5

<210> 51

20 <211> 9

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 51

Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Tyr Ser

5

1

5

<210> 52

<211> 7

<212> PRT

10 <213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 52

Gly Thr Ser Arg Leu Arg Ser

1

5

15 <210> 53

<211> 12

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

20 <223> Sentetik Oluşum

<400> 53

Ser Val Ser Ser Ser Val Ser Ser Ile Tyr Leu His

1

5

10

<210> 54

<211> 7

25 <212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 54

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 55

<211> 9

5 <212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 55

10 Ile Gln Tyr Ser Gly Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

15 <220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 56

Gln Val Tyr Ser Gly Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 57

20 <211> 12

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

25 <400> 57

Ser Val Ser Ser Ser Val Arg Ser Ile Tyr Leu His
1 5 10

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

5 <400> 58

Gln Val Tyr Arg Gly Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 59

<211> 10

<212> PRT

10 <213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 59

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Arg Tyr Ile His
1 5 10

15 <210> 60

<211> 17

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

20 <223> Sentetik Oluşum

<400> 60

Trp Ile Tyr Pro Val Thr Gly Asp Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

25 <210> 61

<211> 7

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 61

Gly	Tyr	Gly	Ala	Phe	Tyr	Tyr
1				5		

5 <210> 62

<211> 17

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

10 <223> Sentetik Oluşum

<400> 62

Trp	Ile	Tyr	Pro	Val	Thr	Gly	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Ile	Glu	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 63

<211> 7

15 <212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 63

Gly	Tyr	Gly	Ala	Phe	Phe	Tyr
1				5		

20

<210> 64

<211> 17

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

25 <220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 64

Trp Ile Tyr Pro Val Thr Gly Asp Thr Tyr Tyr Arg Glu Pro Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 65

<211> 10

5 <212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 65

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His
 1 5 10

<210> 66

<211> 17

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

15 <220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 66

Arg Val Asn Pro Asn Arg Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Glu
 1 5 10 15

Gly

<210> 67

20 <211> 6

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

25 <400> 67

Thr Asn Trp Leu Asp Tyr
 1 5

<210> 68

<211> 17

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

5 <220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 68

Arg	Val	Asn	Pro	Asn	Arg	Arg	Gly	Thr	Thr	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe	Glu
1				5					10					15	

Gly

<210> 69

10 <211> 6

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

15 <400> 69

Ala	Asn	Trp	Leu	Asp	Tyr
1				5	

<210> 70

<211> 17

<212> PRT

20 <213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<400> 70

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

Gly

25 <210> 71

<211> 6

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

5 <400> 71

Ala Asn Ile Leu Asp Tyr
1 5

<210> 72

<211> 1192

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 72

Met Lys Ala Pro Ala Val Leu Ala Pro Gly Ile Leu Val Leu Leu Phe

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

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

Ile Pro Leu Asn Gly Leu Gly Cys Arg His Phe Gln Ser Cys Ser Gln
 515 520 525
 Cys Leu Ser Ala Pro Pro Phe Val Gln Cys Gly Trp Cys His Asp Lys
 530 535 540
 Cys Val Arg Ser Glu Glu Cys Leu Ser Gly Thr Trp Thr Gln Gln Ile
 545 550 555 560
 Cys Leu Pro Ala Ile Tyr Lys Val Phe Pro Asn Ser Ala Pro Leu Glu
 565 570 575
 Gly Gly Thr Arg Leu Thr Ile Cys Gly Trp Asp Phe Gly Phe Arg Arg
 580 585 590
 Asn Asn Lys Phe Asp Leu Lys Lys Thr Arg Val Leu Leu Gly Asn Glu
 595 600 605
 Ser Cys Thr Leu Thr Leu Ser Glu Ser Thr Met Asn Thr Leu Lys Cys
 610 615 620
 Thr Val Gly Pro Ala Met Asn Lys His Phe Asn Met Ser Ile Ile Ile
 625 630 635 640
 Ser Asn Gly His Gly Thr Thr Gln Tyr Ser Thr Phe Ser Tyr Val Asp
 645 650 655
 Pro Val Ile Thr Ser Ile Ser Pro Lys Tyr Gly Pro Met Ala Gly Gly
 660 665 670
 Thr Leu Leu Thr Leu Thr Gly Asn Tyr Leu Asn Ser Gly Asn Ser Arg
 675 680 685
 His Ile Ser Ile Gly Gly Lys Thr Cys Thr Leu Lys Ser Val Ser Asn
 690 695 700
 Ser Ile Leu Glu Cys Tyr Thr Pro Ala Gln Thr Ile Ser Thr Glu Phe
 705 710 715 720
 Ala Val Lys Leu Lys Ile Asp Leu Ala Asn Arg Glu Thr Ser Ile Phe
 725 730 735
 Ser Tyr Arg Glu Asp Pro Ile Val Tyr Glu Ile His Pro Thr Lys Ser
 740 745 750
 Phe Ile Ser Gly Gly Ser Thr Ile Thr Gly Val Gly Lys Asn Leu Asn
 755 760 765

Ser Val Ser Val Pro Arg Met Val Ile Asn Val His Glu Ala Gly Arg
 770 775 780

Asn Phe Thr Val Ala Cys Gln His Arg Ser Asn Ser Glu Ile Ile Cys
 785 790 795 800

Cys Thr Thr Pro Ser Leu Gln Gln Leu Asn Leu Gln Leu Pro Leu Lys
 805 810 815

Thr Lys Ala Phe Phe Met Leu Asp Gly Ile Leu Ser Lys Tyr Phe Asp
 820 825 830

Leu Ile Tyr Val His Asn Pro Val Phe Lys Pro Phe Glu Lys Pro Val
 835 840 845

Met Ile Ser Met Gly Asn Glu Asn Val Leu Glu Ile Lys Gly Asn Asp
 850 855 860

Ile Asp Pro Glu Ala Val Lys Gly Glu Val Leu Lys Val Gly Asn Lys
 865 870 875 880

Ser Cys Glu Asn Ile His Leu His Ser Glu Ala Val Leu Cys Thr Val
 885 890 895

Pro Asn Asp Leu Leu Lys Leu Asn Ser Glu Leu Asn Ile Glu Trp Lys
 900 905 910

Gln Ala Ile Ser Ser Thr Val Leu Gly Lys Val Ile Val Gln Pro Asp
 915 920 925

Gln Asn Phe Thr Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Asp Ile Glu Pro
 930 935 940

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 945 950 955 960

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 965 970 975

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 980 985 990

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 995 1000 1005

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

1010						1015						1020					
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln			
1025						1030						1035					
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys			
1040						1045						1050					
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly			
1055						1060						1065					
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Glu	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu			
1070						1075						1080					
Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly			
1085						1090						1095					
Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln			
1100						1105						1110					
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp			
1115						1120						1125					
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg			
1130						1135						1140					
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala			
1145						1150						1155					
Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly			
1160						1165						1170					
Lys	Arg	Ile	Asp	Tyr	Lys	Asp	Asp	Asp	Asp	Lys	His	Val	His	His			
1175						1180						1185					
His	His	His	His														
1190																	

<210> 73

<211> 1192

<212> PRT

5 <213> *Macaca mulatta*

<400> 73

Met Lys Ala Pro Ala Val Leu Val Pro Gly Ile Leu Val Leu Leu Phe
1 5 10 15

Thr Leu Val Gln Arg Ser Asn Gly Glu Cys Lys Glu Ala Leu Ala Lys

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

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

Cys Leu Ser Ala Pro Pro Phe Val Gln Cys Gly Trp Cys His Asp Lys
 530 535 540

Cys Val Arg Ser Glu Glu Cys Pro Ser Gly Thr Trp Thr Gln Gln Ile
 545 550 555 560

Cys Leu Pro Ala Ile Tyr Lys Val Phe Pro Thr Ser Ala Pro Leu Glu
 565 570 575

Gly Gly Thr Arg Leu Thr Ile Cys Gly Trp Asp Phe Gly Phe Arg Arg
 580 585 590

Asn Asn Lys Phe Asp Leu Lys Lys Thr Arg Val Leu Leu Gly Asn Glu
 595 600 605

Ser Cys Thr Leu Thr Leu Ser Glu Ser Thr Met Asn Thr Leu Lys Cys
 610 615 620

Thr Val Gly Pro Ala Met Asn Lys His Phe Asn Met Ser Ile Ile Ile
 625 630 635 640

Ser Asn Gly His Gly Thr Thr Gln Tyr Ser Thr Phe Ser Tyr Val Asp
 645 650 655

Pro Ile Ile Thr Ser Ile Ser Pro Lys Tyr Gly Pro Met Ala Gly Gly
 660 665 670

Thr Leu Leu Thr Leu Thr Gly Asn Tyr Leu Asn Ser Gly Asn Ser Arg
 675 680 685

His Ile Ser Ile Gly Gly Lys Thr Cys Thr Leu Lys Ser Val Ser Asn
 690 695 700

Ser Ile Leu Glu Cys Tyr Thr Pro Ala Gln Thr Ile Ser Thr Glu Phe
 705 710 715 720

Ala Val Lys Leu Lys Ile Asp Leu Ala Asn Arg Glu Thr Ser Ile Phe
 725 730 735

Ser Tyr Arg Glu Asp Pro Ile Val Tyr Glu Ile His Pro Thr Lys Ser
 740 745 750

Phe Ile Ser Gly Gly Ser Thr Ile Thr Gly Val Gly Lys Asn Leu His
 755 760 765

Ser Val Ser Val Pro Arg Met Val Ile Asn Val His Glu Ala Gly Arg
 770 775 780

Asn Phe Thr Val Ala Cys Gln His Arg Ser Asn Ser Glu Ile Ile Cys
 785 790 795 800
 Cys Thr Thr Pro Ser Leu Gln Gln Leu Asn Leu Gln Leu Pro Leu Lys
 805 810 815
 Thr Lys Ala Phe Phe Met Leu Asp Gly Ile Leu Ser Lys Tyr Phe Asp
 820 825 830
 Leu Ile Tyr Val His Asn Pro Val Phe Lys Pro Phe Glu Lys Pro Val
 835 840 845
 Met Ile Ser Met Gly Asn Glu Asn Val Leu Glu Ile Lys Gly Asn Asp
 850 855 860
 Ile Asp Pro Glu Ala Val Lys Gly Glu Val Leu Lys Val Gly Asn Lys
 865 870 875 880
 Ser Cys Glu Asn Ile His Leu His Ser Glu Ala Val Leu Cys Thr Val
 885 890 895
 Pro Asn Asp Leu Leu Lys Leu Asn Ser Glu Leu Asn Ile Glu Trp Lys
 900 905 910
 Gln Ala Ile Ser Ser Thr Val Leu Gly Lys Val Ile Val Gln Pro Asp
 915 920 925
 Gln Asn Phe Thr Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Asp Ile Glu Pro
 930 935 940
 Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 945 950 955 960
 Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 965 970 975
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 980 985 990
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 995 1000 1005
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 1010 1015 1020
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

1025											1030											1035			
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys											
1040							1045							1050											
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly											
1055							1060							1065											
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Glu	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu											
1070							1075							1080											
Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly											
1085							1090							1095											
Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln											
1100							1105							1110											
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp											
1115							1120							1125											
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg											
1130							1135							1140											
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala											
1145							1150							1155											
Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly											
1160							1165							1170											
Lys	Arg	Ile	Asp	Tyr	Lys	Asp	Asp	Asp	Asp	Lys	His	Val	His	His											
1175							1180							1185											
His	His	His	His																						
1190																									

<210> 74

<211> 1194

<212> PRT

5 <213> Rattus rattus

<400> 74

Met Lys Ala Pro Thr Ala Leu Ala Pro Gly Ile Leu Leu Leu Leu Leu
1 5 10 15

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

Ser Glu Met Asn Val Asn Met Lys Tyr Gln Leu Pro Asn Phe Thr Ala

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

Leu His Ser Tyr Met Glu Met Pro Leu Glu Cys Ile Leu Thr Glu Lys
 290 295 300
 Arg Arg Lys Arg Ser Thr Arg Glu Glu Val Phe Asn Ile Leu Gln Ala
 305 310 315 320
 Ala Tyr Val Ser Lys Pro Gly Ala Asn Leu Ala Lys Gln Ile Gly Ala
 325 330 335
 Ser Pro Tyr Asp Asp Ile Leu Tyr Gly Val Phe Ala Gln Ser Lys Pro
 340 345 350
 Asp Ser Ala Glu Pro Met Asn Arg Ser Ala Val Cys Ala Phe Pro Ile
 355 360 365
 Lys Tyr Val Asn Asp Phe Phe Asn Lys Ile Val Asn Lys Asn Asn Val
 370 375 380
 Arg Cys Leu Gln His Phe Tyr Gly Pro Asn His Glu His Cys Phe Asn
 385 390 395 400
 Arg Thr Leu Leu Arg Asn Ser Ser Gly Cys Glu Val Arg Ser Asp Glu
 405 410 415
 Tyr Arg Thr Glu Phe Thr Thr Ala Leu Gln Arg Val Asp Leu Phe Met
 420 425 430
 Gly Arg Leu Asn His Val Leu Leu Thr Ser Ile Ser Thr Phe Ile Lys
 435 440 445
 Gly Asp Leu Thr Ile Ala Asn Leu Gly Thr Ser Glu Gly Arg Phe Met
 450 455 460
 Gln Val Val Leu Ser Arg Thr Ala His Phe Thr Pro His Val Asn Phe
 465 470 475 480
 Leu Leu Asp Ser Tyr Pro Val Ser Pro Glu Val Ile Val Glu His Pro
 485 490 495
 Ser Asn Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Val Val Thr Gly Lys Lys Ile Thr
 500 505 510
 Lys Ile Pro Leu Asn Gly Leu Gly Cys Gly His Phe Gln Ser Cys Ser
 515 520 525
 Gln Cys Leu Ser Ala Pro Tyr Phe Ile Gln Cys Gly Trp Cys His Asn
 530 535 540

Arg Cys Val His Ser Asn Glu Cys Pro Ser Gly Thr Trp Thr Gln Glu
 545 550 555 560
 Ile Cys Leu Pro Ala Val Tyr Lys Val Phe Pro Thr Ser Ala Pro Leu
 565 570 575
 Glu Gly Gly Thr Met Leu Thr Ile Cys Gly Trp Asp Phe Gly Phe Lys
 580 585 590
 Lys Asn Asn Lys Phe Asp Leu Arg Lys Thr Lys Val Leu Leu Gly Asn
 595 600 605
 Glu Ser Cys Thr Leu Thr Leu Ser Glu Ser Thr Thr Asn Thr Leu Lys
 610 615 620
 Cys Thr Val Gly Pro Ala Met Ser Glu His Phe Asn Val Ser Val Ile
 625 630 635 640
 Val Ser Asn Ser Arg Glu Thr Thr Gln Tyr Ser Ala Phe Ser Tyr Val
 645 650 655
 Asp Pro Val Ile Thr Ser Ile Ser Pro Arg Tyr Gly Pro His Ala Gly
 660 665 670
 Gly Thr Leu Leu Thr Leu Thr Gly Lys Tyr Leu Asn Ser Gly Asn Ser
 675 680 685
 Arg His Ile Ser Ile Gly Gly Lys Thr Cys Thr Leu Lys Ser Val Ser
 690 695 700
 Asp Ser Ile Leu Glu Cys Tyr Thr Pro Gly His Thr Val Ser Ala Glu
 705 710 715 720
 Phe Pro Val Lys Leu Lys Ile Asp Leu Ala Asp Arg Val Thr Ser Ser
 725 730 735
 Phe Ser Tyr Arg Glu Asp Pro Val Val Ser Glu Ile His Pro Thr Lys
 740 745 750
 Ser Phe Ile Ser Gly Gly Ser Thr Ile Thr Gly Ile Gly Lys Asn Leu
 755 760 765
 Asn Ser Val Ser Thr Pro Lys Leu Val Ile Glu Val His Asp Val Gly
 770 775 780
 Val Asn Tyr Thr Val Ala Cys Gln His Arg Ser Ser Ser Glu Ile Ile
 785 790 795 800

Cys Cys Thr Thr Pro Ser Leu Gln Gln Leu Asp Leu Gln Leu Pro Leu
 805 810 815

Lys Thr Lys Ala Phe Phe Leu Leu Asp Gly Ile Leu Ser Lys His Phe
 820 825 830

Asp Leu Thr Tyr Val His Asp Pro Met Phe Lys Pro Phe Glu Lys Pro
 835 840 845

Val Met Ile Ser Met Gly Asn Glu Asn Val Val Glu Ile Lys Gly Asp
 850 855 860

Asp Ile Asp Pro Glu Ala Val Lys Gly Glu Val Leu Lys Val Gly Asn
 865 870 875 880

Lys Ser Cys Glu Asn Leu His Trp His Ser Glu Ala Leu Leu Cys Thr
 885 890 895

Val Pro Ser Asp Leu Leu Lys Leu Asn Gly Gly Glu Leu Asn Ile Glu
 900 905 910

Trp Lys Gln Ala Val Ser Ser Thr Val Leu Gly Lys Val Ile Val Gln
 915 920 925

Pro Asp Gln Asn Phe Ala Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Asp Ile
 930 935 940

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 945 950 955 960

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 965 970 975

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 980 985 990

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 995 1000 1005

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 1010 1015 1020

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 1025 1030 1035

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

1040	1045	1050
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala		
1055	1060	1065
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Glu Tyr Thr Leu Pro Pro Ser		
1070	1075	1080
Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val		
1085	1090	1095
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		
1100	1105	1110
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		
1115	1120	1125
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys		
1130	1135	1140
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		
1145	1150	1155
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
1160	1165	1170
Pro Gly Lys Arg Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys His Val		
1175	1180	1185
His His His His His His		
1190		

<210> 75

<211> 932

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 75

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

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

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

Cys Leu Pro Ala Ile Tyr Lys Val Phe Pro Asn Ser Ala Pro Leu Glu
 565 570 575
 Gly Gly Thr Arg Leu Thr Ile Cys Gly Trp Asp Phe Gly Phe Arg Arg
 580 585 590
 Asn Asn Lys Phe Asp Leu Lys Lys Thr Arg Val Leu Leu Gly Asn Glu
 595 600 605
 Ser Cys Thr Leu Thr Leu Ser Glu Ser Thr Met Asn Thr Leu Lys Cys
 610 615 620
 Thr Val Gly Pro Ala Met Asn Lys His Phe Asn Met Ser Ile Ile Ile
 625 630 635 640
 Ser Asn Gly His Gly Thr Thr Gln Tyr Ser Thr Phe Ser Tyr Val Asp
 645 650 655
 Pro Val Ile Thr Ser Ile Ser Pro Lys Tyr Gly Pro Met Ala Gly Gly
 660 665 670
 Thr Leu Leu Thr Leu Thr Gly Asn Tyr Leu Asn Ser Gly Asn Ser Arg
 675 680 685
 His Ile Ser Ile Gly Gly Lys Thr Cys Thr Leu Lys Ser Val Ser Asn
 690 695 700
 Ser Ile Leu Glu Cys Tyr Thr Pro Ala Gln Thr Ile Ser Thr Glu Phe
 705 710 715 720
 Ala Val Lys Leu Lys Ile Asp Leu Ala Asn Arg Glu Thr Ser Ile Phe
 725 730 735
 Ser Tyr Arg Glu Asp Pro Ile Val Tyr Glu Ile His Pro Thr Lys Ser
 740 745 750
 Phe Ile Ser Gly Gly Ser Thr Ile Thr Gly Val Gly Lys Asn Leu Asn
 755 760 765
 Ser Val Ser Val Pro Arg Met Val Ile Asn Val His Glu Ala Gly Arg
 770 775 780
 Asn Phe Thr Val Ala Cys Gln His Arg Ser Asn Ser Glu Ile Ile Cys
 785 790 795 800
 Cys Thr Thr Pro Ser Leu Gln Gln Leu Asn Leu Gln Leu Pro Leu Lys
 805 810 815

Thr Lys Ala Phe Phe Met Leu Asp Gly Ile Leu Ser Lys Tyr Phe Asp
 820 825 830

Leu Ile Tyr Val His Asn Pro Val Phe Lys Pro Phe Glu Lys Pro Val
 835 840 845

Met Ile Ser Met Gly Asn Glu Asn Val Leu Glu Ile Lys Gly Asn Asp
 850 855 860

Ile Asp Pro Glu Ala Val Lys Gly Glu Val Leu Lys Val Gly Asn Lys
 865 870 875 880

Ser Cys Glu Asn Ile His Leu His Ser Glu Ala Val Leu Cys Thr Val
 885 890 895

Pro Asn Asp Leu Leu Lys Leu Asn Ser Glu Leu Asn Ile Glu Trp Lys
 900 905 910

Gln Ala Ile Ser Ser Thr Val Leu Gly Lys Val Ile Val Gln Pro Asp
 915 920 925

Gln Asn Phe Thr
 930

<210> 76

<211> 578

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 76

Met Lys Ala Pro Ala Val Leu Ala Pro Gly Ile Leu Val Leu Leu Phe
 1 5 10 15

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

Ser Glu Met Asn Val Asn Met Lys Tyr Gln Leu Pro Asn Phe Thr Ala
 35 40 45

Glu Thr Pro Ile Gln Asn Val Ile Leu His Glu His His Ile Phe Leu
 50 55 60

Gly Ala Thr Asn Tyr Ile Tyr Val Leu Asn Glu Glu Asp Leu Gln Lys
 65 70 75 80

Val Ala Glu Tyr Lys Thr Gly Pro Val Leu Glu His Pro Asp Cys Phe
 85 90 95

Pro Cys Gln Asp Cys Ser Ser Lys Ala Asn Leu Ser Gly Gly Val Trp
 100 105 110

Lys Asp Asn Ile Asn Met Ala Leu Val Val Asp Thr Tyr Tyr Asp Asp
 115 120 125

Gln Leu Ile Ser Cys Gly Ser Val Asn Arg Gly Thr Cys Gln Arg His
 130 135 140

Val Phe Pro His Asn His Thr Ala Asp Ile Gln Ser Glu Val His Cys
 145 150 155 160

Ile Phe Ser Pro Gln Ile Glu Glu Pro Ser Gln Cys Pro Asp Cys Val
 165 170 175

Val Ser Ala Leu Gly Ala Lys Val Leu Ser Ser Val Lys Asp Arg Phe
 180 185 190

Ile Asn Phe Phe Val Gly Asn Thr Ile Asn Ser Ser Tyr Phe Pro Asp
 195 200 205

His Pro Leu His Ser Ile Ser Val Arg Arg Leu Lys Glu Thr Lys Asp
 210 215 220

Gly Phe Met Phe Leu Thr Asp Gln Ser Tyr Ile Asp Val Leu Pro Glu
 225 230 235 240

Phe Arg Asp Ser Tyr Pro Ile Lys Tyr Val His Ala Phe Glu Ser Asn
 245 250 255

Asn Phe Ile Tyr Phe Leu Thr Val Gln Arg Glu Thr Leu Asp Ala Gln
 260 265 270

Thr Phe His Thr Arg Ile Ile Arg Phe Cys Ser Ile Asn Ser Gly Leu
 275 280 285

His Ser Tyr Met Glu Met Pro Leu Glu Cys Ile Leu Thr Glu Lys Arg
 290 295 300

Lys Lys Arg Ser Thr Lys Lys Glu Val Phe Asn Ile Leu Gln Ala Ala
 305 310 315 320

Tyr Val Ser Lys Pro Gly Ala Gln Leu Ala Arg Gln Ile Gly Ala Ser
 325 330 335

Leu Asn Asp Asp Ile Leu Phe Gly Val Phe Ala Gln Ser Lys Pro Asp

340 345 350
 Ser Ala Glu Pro Met Asp Arg Ser Ala Met Cys Ala Phe Pro Ile Lys
 355 360 365
 Tyr Val Asn Asp Phe Phe Asn Lys Ile Val Asn Lys Asn Asn Val Arg
 370 375 380
 Cys Leu Gln His Phe Tyr Gly Pro Asn His Glu His Cys Phe Asn Arg
 385 390 395 400
 Thr Leu Leu Arg Asn Ser Ser Gly Cys Glu Ala Arg Arg Asp Glu Tyr
 405 410 415
 Arg Thr Glu Phe Thr Thr Ala Leu Gln Arg Val Asp Leu Phe Met Gly
 420 425 430
 Gln Phe Ser Glu Val Leu Leu Thr Ser Ile Ser Thr Phe Ile Lys Gly
 435 440 445
 Asp Leu Thr Ile Ala Asn Leu Gly Thr Ser Glu Gly Arg Phe Met Gln
 450 455 460
 Val Val Val Ser Arg Ser Gly Pro Ser Thr Pro His Val Asn Phe Leu
 465 470 475 480
 Leu Asp Ser His Pro Val Ser Pro Glu Val Ile Val Glu His Thr Leu
 485 490 495
 Asn Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Val Ile Thr Gly Lys Lys Ile Thr Lys
 500 505 510
 Ile Pro Leu Asn Gly Leu Gly Cys Arg His Phe Gln Ser Cys Ser Gln
 515 520 525
 Cys Leu Ser Ala Pro Pro Phe Val Gln Cys Gly Trp Cys His Asp Lys
 530 535 540
 Cys Val Arg Ser Glu Glu Cys Leu Ser Gly Thr Trp Thr Gln Gln Ile
 545 550 555 560
 Cys Leu Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys His Val His His His His
 565 570 575

His His

<210> 77

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 77

Val	Val	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Asp	Asp	Gln	Leu
1				5					10

<210> 78

<211> 25

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 78

Ile	Ser	Cys	Gly	Ser	Val	Asn	Arg	Gly	Thr	Cys	Gln	Arg	His	Val	Phe
1				5					10					15	

Pro	His	Asn	His	Thr	Ala	Asp	Ile	Gln
			20					25

<210> 79

10 <211> 18

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 79

Ala	Leu	Gly	Ala	Lys	Val	Leu	Ser	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Ile	Asn
1				5					10					15	

Phe Phe

15 <210> 80

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 80

Val	Arg	Arg	Leu	Lys	Glu	Thr	Lys	Asp	Gly	Phe	Met
1				5					10		

<210> 81

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

25 <400> 81

Asp	Thr	Tyr	Tyr	Asp	Asp
1				5	

<210> 82

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

5 <400> 82

His Val Phe Pro His Asn His Thr Ala Asp Ile Gln Ser
1 5 10

<210> 83

<211> 4

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 83

Phe Ile Asn Phe
1

<210> 84

<211> 8

15 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 84

Lys Glu Thr Lys Asp Gly Phe Met
1 5

<210> 85

20 <211> 24

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 85

Tyr Lys Thr Gly Pro Val Leu Glu His Pro Asp Cys Phe Pro Cys Gln
1 5 10 15

Asp Cys Ser Ser Lys Ala Asn Leu
20

25 <210> 86

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 86

Cys Phe Pro Cys Gln Asp Cys Ser Ser Lys Ala
1 5 10

<210> 87

<211> 7

5 <212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<220>

10 <221> çeşitli_özellikler

<222> (4)..(4)

<223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir

<220>

<221> çeşitli_özellikler

15 <222> (6)..(6)

<223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir

<400> 87

Gly Thr Ser Xaa Leu Xaa Ser
1 5

<210> 88

20 <211> 12

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

25 <220>

<221> çeşitli_özellikler

<222> (7)..(7)

<223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir

<400> 88

Ser Val Ser Ser Ser Val Xaa Ser Ile Tyr Leu His
1 5 10

30

- <210> 89
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Yapay Dizi
- 5 <220>
 <223> Sentetik Oluşum
 <220>
 <221> çeşitli_özellikler
 <222> (1)..(2)
- 10 <223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir
 <220>
 <221> çeşitli_özellikler
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir
- 15 <400> 89
 Xaa Xaa Tyr Xaa Gly Tyr Pro Leu Thr
- 1 5
 <210> 90
- 20 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Yapay Dizi
 <220>
 <223> Sentetik Oluşum
- 25 <220>
 <221> çeşitli_özellikler
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir
 <220>
- 30 <221> çeşitli_özellikler

<222> (14)..(14)

<223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir

<400> 90

Trp	Ile	Tyr	Pro	Val	Thr	Gly	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Xaa	Glu	Xaa	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

5 <210> 91

<211> 7

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

10 <223> Sentetik Oluşum

<220>

<221> çeşitli_özellikler

<222> (6)..(6)

<223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir

15 <400> 91

Gly	Tyr	Gly	Ala	Phe	Xaa	Tyr
1				5		

<210> 92

<211> 17

<212> PRT

20 <213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<220>

<221> çeşitli_özellikler

25 <222> (5)..(5)

<223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir

<220>

<221> çeşitli_özellikler

<222> (7)..(8)

<223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir

<400> 92

Arg	Val	Asn	Pro	Xaa	Arg	Xaa	Xaa	Thr	Thr	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe	Glu
1				5					10					15	

Gly

5 <210> 93

<211> 6

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

10 <223> Sentetik Oluşum

<220>

<221> çeşitli_özellikler

<222> (1)..(1)

<223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir

15 <220>

<221> çeşitli_özellikler

<222> (3)..(3)

<223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir

<400> 93

Xaa	Asn	Xaa	Leu	Asp	Tyr
1			5		

<210> 94

<211> 108

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

25 <220>

<223> Sentetik Oluşum

<220>

<221> çeşitli_özellikler

<222> (54)..(54)

<223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir

<220>

<221> çeşitli_özellikler

5 <222> (56)..(56)

<223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir

<400> 94

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

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

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

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

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

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

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

<210> 95

10 <211> 108

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

<220>

<223> Sentetik Oluşum

15 <220>

<221> çeşitli_özellikler

<222> (30)..(30)

<223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir

<220>

20 <221> çeşitli_özellikler

<222> (90)..(91)

<223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir

<220>

<221> çeşitli_özellikler

5 <222> (93)..(93)

<223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir

<400> 95

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Val Xaa Ser Ile
20 25 30

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

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Xaa Xaa Tyr Xaa Gly Tyr Pro
85 90 95

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

<210> 96

<211> 115

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

15 <220>

<223> Sentetik Oluşum

<220>

<221> çeşitli_özellikler

<222> (61)..(61)

20 <223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir

<220>

<221> çeşitli_özellikler

<222> (63)..(63)

<223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir

<220>

<221> çeşitli_özellikler

5 <222> (104)..(104)

<223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir

<400> 96

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

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

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

Gly Trp Ile Tyr Pro Val Thr Gly Asp Thr Tyr Tyr Xaa Glu Xaa Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Tyr Gly Ala Phe Xaa Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser
115

10

<210> 97

<211> 114

<212> PRT

<213> Yapay Dizi

15

<220>

<223> Sentetik Oluşum

<220>

<221> çeşitli_özellikler

<222> (54)..(54)

<223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir

<220>

<221> çeşitli_özellikler

5 <222> (56)..(57)

<223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir

<220>

<221> çeşitli_özellikler

<222> (99)..(99)

10 <223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir

<220>

<221> çeşitli_özellikler

<222> (101)..(101)

<223> Xaa doğal olarak oluşan herhangi bir amino asit olabilir

15 <400> 97

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

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

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

Gly Arg Val Asn Pro Xaa Arg Xaa Xaa Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

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

Val Ser