



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI 0712222-5 A2**

(22) Data de Depósito: 01/06/2007
(43) Data da Publicação: 10/01/2012
(RPI 2140)



(51) *Int.Cl.:*
C07K 16/22
A61K 39/395
A61P 35/00

(54) Título: PROTEÍNAS DE LIGAÇÃO ISOLADA QUE SE LIGA AO FATOR DE CRESCIMENTO DE HEPATÓCITO HUMANO (HGF), ÁCIDO NUCLÉICO ISOLADO, VETOR DE EXPRESSÃO, CÉLULA HOSPEDEIRA E MÉTODO DE PRODUZIR UMA PROTEÍNA DE LIGAÇÃO

(30) Prioridade Unionista: 02/06/2006 US 60/810,714, 21/11/2006 US 60/860,509

(73) Titular(es): Aveo Pharmaceuticals, INC., Xoma Technology LTD.

(72) Inventor(es): Arnold Horwitz, Bijan Etemad-Gilbertson, Christine Knuehl, Jeno Gyuris, Jie Lin, Lyne Breault, May Han, S. Kirk Wright, William M. Winston

(74) Procurador(es): Dannemann, Siemsen & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT US2007012939 de 01/06/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2007/143090 de 13/12/2007

(57) Resumo: PROTEÍNA DE LIGAÇÃO ISOLADA QUE SE LIGA AO FATOR DE CRESCIMENTO DE HEPATOCITO HUMANO (HGF), ÁCIDO NUCLÉICO ISOLADO, VETOR DE EXPRESSÃO, CÉLULA HOSPEDEIRA E MÉTODO DE PRODUZIR UMA PROTEÍNA DE LIGAÇÃO. A presente invenção refere-se uma família de proteínas de ligação que se ligam e neutralizam a atividade do fator de crescimento de hepatócito (HGF), em particular, HGF humano. As proteínas de ligação podem ser usadas como agentes de diagnóstico ou terapêuticos. Com relação a sua atividade terapêutica, as proteínas de ligação podem ser usadas para tratar certas desordens responsivas a HGF, por exemplo, certos tumores responsivos a HGF.

Cópia

Pet mº 0200900106341 RJ
(02/02/09)

PI 0710222-5

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**PROTEÍNA DE LIGAÇÃO ISOLADA QUE SE LIGA AO FATOR DE CRESCIMENTO DE HEPATÓCITO HUMANO (HGF), ÁCIDO NUCLEÍCO ISOLADO, VETOR DE EXPRESSÃO, CÉLULA HOSPEDEIRA E MÉTODO DE PRODUZIR**
5 **UMA PROTEÍNA DE LIGAÇÃO**".

PEDIDOS RELACIONADOS

Esse pedido reivindica o benefício e prioridade dos Pedidos Provisórios U.S. Nºs 60/810.714, depositado em 2 de junho de 2006 e 60/860.509, depositado em 21 de novembro de 2006, cujas descrições estão
10 incorporadas aqui por referência.

CAMPO DA INVENÇÃO

O campo da invenção é de biologia molecular, imunologia e oncologia. Mais particularmente, o campo é de proteínas ligantes baseadas em anticorpo que se ligam ao fator de crescimento do hepatócito humano
15 (HGF).

ANTECEDENTES

O Fator de Crescimento de Hepatócito (HGF), também conhecido como Fator de Dispersão (SF), é uma proteína heterodimérica multifuncional produzida predominantemente por células mesenquimais e é um efetor de células que expressam o receptor Met de tirosina quinase (Bottaro *et al.* (1991) SCIENCE 251: 802-804, Rubin *et al.* (1993) BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA 1155: 357-371). O receptor Met humano também é conhecido como "c-Met". HGF maduro contém duas cadeias de polipeptídeos, a cadeia α e a cadeia β . Estudos publicados sugerem que é a cadeia α que contém o domínio de
20 ligação do receptor c-Met de HGF.

Quando se liga ao seu receptor cognato, HGF medeia várias atividades celulares. A via de sinalização HGF-Met desempenha um papel na regeneração hepática, cicatrização de lesão, regeneração neural, angiogênese e malignidades. Veja, por exemplo, Cao *et al.* (2001) PROC. NATL. ACAD. SCI. USA 98: 7443-7448, Burgess *et al.* (2006) CANCER RES. 66: 1721-1729, e Patentes U.S. Nºs 5.997.868 e 5.707.624. Pesquisadores têm desenvolvido vários moduladores de HGF, incluindo anticorpos para tratar vá-
30

rias desordens que envolvem atividade de HGF, por exemplo, certos cânceres responsivos a HGF. Veja, por exemplo, Publicação de Pedido Internacional N° WO 2005/017107.

5 A estrutura básica comum para todos os anticorpos é mostrada esquematicamente na Figura 1. Anticorpos são proteínas multiméricas que contêm quatro cadeias de polipeptídeos. Duas das cadeias de polipeptídeo são chamadas de cadeias pesadas ou H e duas das cadeias de polipeptídeos são chamadas de cadeias leves ou L. As cadeias pesada e leve de imunoglobulina são conectadas por uma ligação de dissulfeto entre as ca-
10 deias. As cadeias pesadas de imunoglobulina são conectadas por várias pontes de dissulfeto entre as cadeias. Uma cadeia leve é composta de uma região variável (V_L na Figura 1) e uma região constante (C_L na Figura 1), enquanto que a cadeia pesada é composta de uma região variável (V_H na Figura 1) e pelo menos três regiões constantes (CH_1 , CH_2 e CH_3 na Figura 1). As
15 regiões variáveis determinam a especificidade do anticorpo e as regiões constantes têm outras funções.

A informação estrutural e dos aminoácidos indica que cada região variável compreende três regiões hipervariáveis (também conhecidas como regiões de determinação de complementaridade ou CDRs) flanquea-
20 das por quatro regiões de arcabouço relativamente conservadas ou FRs. As três CDRs, referidas como CDR_1 , CDR_2 , e CDR_3 , são responsáveis pela especificidade de ligação de anticorpos individuais. Quando os anticorpos são para serem usados como agentes de diagnóstico e terapêuticos, tipicamente é desejável criar anticorpos que tem a maior especificidade de ligação e afi-
25 nidade com a molécula alvo. Acredita-se que diferenças nas regiões variáveis possam ter efeitos profundos sobre a especificidade e a afinidade do anticorpo.

Patente U.S. N° 5.707.624 descreve o uso de anticorpos anti-HGF no tratamento do sarcoma de Kaposi. Similarmente, a Patente U.S. N°
30 5.997.868 descreve o tratamento de um tumor pela administração de um anticorpo anti-HGF ao paciente a ser tratado a fim de bloquear a habilidade de HGF endógeno de promover angiogênese no tumor. Mais recentemente,

pesquisadores propuseram que anticorpos que se ligam a cadeia β de HGF podem ter potencial como agentes terapêuticos em pacientes com tumores dependentes de HGF (Burgess (2006) *supra*).

Apesar disso, ainda há uma necessidade de moduladores adicionais de HGF que possam ser usados como agente terapêutico e diagnóstico.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A invenção é baseada, em parte, na descoberta de uma família de proteínas de ligação que se ligam especificamente a HGF, em particular, a HGF humano. As proteínas de ligação são baseadas em anticorpo à medida que elas contêm sítios de ligação de antígeno (isto é, HGF) baseados nas CDRs de uma família de anticorpos que se ligam especificamente a HGF. As proteínas de ligação podem ser usadas como agentes de diagnóstico e terapêuticos. Quando usadas como agente terapêutico, as proteínas de ligação são manipuladas (por exemplo, humanizadas) a fim de reduzir ou eliminar o risco de indução de resposta imune contra a proteína de ligação quando administrada ao receptor (por exemplo, um ser humano).

As proteínas de ligação neutralizam a atividade de HGF e, portanto, podem ser usadas como um agente terapêutico. Em certas modalidades, as proteínas de ligação impedem que HGF se ligue ao seu receptor cognato, c-Met, neutralizando dessa forma a atividade de HGF. Em outras modalidades, as proteínas de ligação se ligam a HGF e neutralizam sua atividade biológica, mas sem evitar que HGF se ligue ao receptor c-Met. Como HGF tem sido implicado no crescimento e proliferação de células cancerosas, as proteínas de ligação podem ser usadas para inibir a proliferação de células cancerosas. Além disso, quando administradas a um mamífero, as proteínas de ligação podem inibir ou reduzir o crescimento do tumor no mamífero.

Esses e outros aspectos e vantagens da invenção se tornarão claros após a consideração das seguintes figuras, descrição detalhada e reivindicações.

DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A invenção pode ser mais completamente compreendida com referência as seguintes figuras.

Figura 1 é uma representação esquemática de um anticorpo típico.

5 Figura 2 é um diagrama esquemático mostrando a sequência de aminoácidos que define a região variável da cadeia pesada da imunoglobulina completa dos anticorpos indicados como 1A3, 1D3, 1F3, 2B8, 2F8, 3A12, 3B6 e 3D11. As sequências de aminoácidos de cada anticorpo estão alinhadas uma contra outra e as regiões que definem o peptídeo de sinal, CDR₁,
10 CDR₂, e CDR₃ estão identificadas em retângulos. As sequências fora dos retângulos representam sequências de FR.

Figura 3 é um diagrama esquemático que mostra as sequências de CDR₁, CDR₂, e CDR₃ de cada uma das sequências da região variável da cadeia pesada de imunoglobulina apresentadas na Figura 2.

15 Figura 4 é um diagrama esquemático que mostra a sequência de aminoácidos que define a região variável da cadeia leve de imunoglobulina completa dos anticorpos 1A3, 1D3, 1F3, 2B8, 2F8, 3A12, 3B6, e 3D11. As sequências de aminoácidos de cada anticorpo estão alinhadas uma contra outra e as regiões que definem o peptídeo de sinal, CDR₁, CDR₂, e CDR₃
20 estão identificadas em retângulos. As sequências fora dos retângulos representam sequências FR.

Figura 5 é um diagrama esquemático que mostra as sequências de CDR₁, CDR₂, e CDR₃ de cada uma das sequências da região variável da cadeia leve de imunoglobulina apresentadas na Figura 4.

25 Figura 6 é um gráfico que resume os resultados de um experimento para medir a atividade inibitória de tumor de anticorpos anti-HGF 1D3, 1F3, 1A3 e 2B8 em um modelo de xenoenxerto de U87MG. Losangos correspondem a PBS; triângulos correspondem ao anticorpo 1A3 anti-HGF; X corresponde ao anticorpo 1D3 anti-HGF; quadrados correspondem ao anticorpo 1F3 anti-HGF e círculos correspondem ao anticorpo 2B8 anti-HGF.
30

Figura 7 é um gráfico que resume os resultados de um experimento para medir a atividade inibitória de tumor de anticorpos anti-HGF 1D3,

1F3, 1A3 e 2B8 em um modelo de xenoenxerto de U118. Losangos correspondem a IgG; quadrados correspondem ao anticorpo 1F3 anti-HGF, triângulos ao anticorpo 1D3 anti-HGF; X corresponde ao anticorpo 1A3 anti-HGF; e círculos correspondem ao anticorpo 2B8 anti-HGF.

5 Figura 8 é uma tabela que resume os dados de ressonância de plásmon de superfície sobre a afinidade de ligação ao antígeno e a cinética de interação entre HGF humano e anticorpos 2B8 quimérico, quimérico/humanizado ou humanizado. A tabela lista os pares de cadeia leve Capa e cadeia pesada de IgG1 testados. Aqueles anticorpos com desvios-padrão (STDEV) listados foram analisados em três experimentos independentes.

10 Figura 9 é um gráfico de barras que resume dados experimentais que indicam que Hu2B8 se liga a um epítipo mutuamente exclusivo para o anticorpo monoclonal 2B8 de murino. 2B8 humanizado ou quimérico foi capturado sobre um chip de Fc anti-humano. Então, HGF estava ligado a 2B8 quimérico ou humanizado. A habilidade de 2B8 de camundongo ou do anticorpo de controle (anticorpo policlonal anti-HGF de cabra) se ligar a HGF capturado foi medida. Ambos os anticorpos 2B8 humanizado e 2B8 quimérico impedem que 2B8 de murino se ligue a HGF. As barras brancas correspondem ao anticorpo 2B8 quimérico; as barras cinzas correspondem ao anticorpo Hu2B8 humanizado (região variável capa Kv 1-39.1 e região variável de cadeia pesada Hv5-51.1); as barras pretas correspondem ao anticorpo Hu2B8 humanizado (região variável capa Kv 3-15.1 e região variável de cadeia pesada Hv5-51.1).

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

25 A invenção é baseada, em parte, na descoberta de uma família de proteínas de ligação que se ligam especificamente e neutralizam a atividade de HGF, em particular, HGF humano. As proteínas de ligação podem ser usadas em uma variedade de aplicações de diagnóstico e terapêuticas. As proteínas de ligação são baseadas nos sítios de ligação a antígeno de certos anticorpos monoclonais que foram selecionados por sua habilidade de se ligar e neutralizar a atividade de HGF. Em particular, as proteínas de ligação contêm sequências de região variável de CDR de imunoglobulina que

30

juntas definem um sítio de ligação para HGF.

Em vista da atividade neutralizante desses anticorpos, eles são particularmente úteis em modular o crescimento e/ou proliferação de células responsivas a HGF, por exemplo, células cancerosas. Quando usadas como

5 um agente terapêutico, as proteínas de ligação podem ser manipuladas a fim de minimizar ou eliminar o risco de indução de resposta imune contra a proteína de ligação quando administrada ao receptor. Além disso, dependendo da aplicação particular, considera-se que as proteínas de ligação podem ser

10 conjugadas com outras porções, por exemplo, marcadores detectáveis, por exemplo, radiomarcadores e moléculas efetoras, por exemplo, outra proteína e terapêuticos baseados em moléculas pequenas. Cada uma dessas características e aspectos da invenção é discutida em mais detalhes abaixo.

I – Proteínas de Ligação que se Ligam a HGF

Em um aspecto, a invenção fornece uma proteína de ligação

15 isolada que se liga a HGF humano. A proteína de ligação compreende (i) uma região variável de cadeia leve de imunoglobulina que compreende a estrutura CDR_{L1}-CDR_{L2}-CDR_{L3} e (ii) uma região variável de cadeia pesada de imunoglobulina que compreende três regiões de determinação de complementaridade (CDRs), em que a região variável de cadeia leve de imunoglobulina e a região variável de cadeia pesada de imunoglobulina juntas de-

20 finem um sítio de ligação único para a ligação de HGF humano. CDR_{L1} compreende a sequência de aminoácidos X₁ X₂ Ser X₄ X₅ X₆ X₇ X₈ X₉ X₁₀ X₁₁ X₁₂ X₁₃ X₁₄ X₁₅, em que o aminoácido X₁ é Arg, Lys, ou Ser, X₂ é Ala ou Thr, X₄ é Glu, Gln, ou Ser, X₅ é Asn, Asp, ou Ser, X₆ é Ile ou Val, X₇ é Asp, Lys, Ser,

25 Val, ou Tyr, X₈ é uma ligação peptídica ou Tyr, X₉ é uma ligação peptídica ou Asp, X₁₀ é uma ligação peptídica ou Gly, X₁₁ é uma ligação peptídica ou Asn, X₁₂ é uma ligação peptídica, Ile, ou Ser, X₁₃ é Asn ou Tyr, X₁₄ é Ile, Leu, Met, ou Val, X₁₅ é Ala, Asn, His, ou Ser. CDR_{L2} compreende a sequência de aminoácidos X₁₆ X₁₇ X₁₈ X₁₉ X₂₀ X₂₁ X₂₂, em que o aminoácido X₁₆ é Ala, Asp,

30 Arg, Gly, ou Val, X₁₇ é Ala, Thr, ou Val, X₁₈ é Asn, Ser, ou Thr, X₁₉ é Arg, Asn, Lys, ou He, X₂₀ é Leu ou Arg, X₂₁ é Ala, Asn, Glu, Val, ou Pro, X₂₂ é Asp, Ser, ou Thr. CDR_{L3} compreende a sequência de aminoácidos X₂₃ X₂₄

X_{25} X_{26} X_{27} X_{28} Pro X_{30} Thr, em que o aminoácido X_{23} é Leu, Gly, ou Gln, X_{24} é His ou Gln, X_{25} é Phe, Ser, Trp, ou Tyr, X_{26} é Asp, Ile, Ser, Trp, ou Tyr, X_{27} é Gly, Glu, Asn, ou Ser, X_{28} é Asp, Asn, Phe, Thr, ou Tyr, X_{30} é Leu, Phe, Pro, ou Tyr.

5 Em outro aspecto, a invenção fornece uma proteína de ligação isolada que se liga a HGF humano que compreende (i) uma região variável de cadeia pesada de imunoglobulina que compreende a estrutura CDR_{H1}-CDR_{H2}-CDR_{H3} e (ii) uma região variável de cadeia leve de imunoglobulina que compreende três regiões de determinação de complementaridade (C-
10 DRs), em que a região variável de cadeia pesada de imunoglobulina e a região variável de cadeia leve de imunoglobulina juntas definem um sítio de ligação único para a ligação de HGF humano. CDR_{H1} compreende a sequência de aminoácidos X_1 Tyr X_3 X_4 X_5 em que o aminoácido X_1 é Asp, Asn, Ser, ou Thr, X_3 é Phe, Ser, Trp, ou Tyr, X_4 é Ile, Leu, ou Met, X_5 é Asn,
15 His, ou Ser. CDR_{H2} compreende a sequência de aminoácidos X_6 Ile X_8 X_9 X_{10} X_{11} Gly X_{13} X_{14} X_{15} Tyr X_{17} X_{18} X_{19} X_{20} X_{21} X_{22} , em que o aminoácido X_6 é Lys, Gln, Glu, Val, ou Tyr, X_8 é Asn, Gly, Ser, Trp, ou Tyr, X_9 é Ala, Pro ou Ser, X_{10} é Gly ou Thr, X_{11} é uma ligação peptídica, Asp, Asn, Gly, ou Ser, X_{13} é Asp, Asn, His, ou Ser, X_{14} é Ser ou Thr, X_{15} é Asn ou Tyr, X_{17} é Asn ou
20 Pro, X_{18} é Ala, Asp, Gly, Gln, Glu, Pro, ou Ser, X_{19} é Asn, Lys, Met, ou Ser, X_{20} é Leu, Phe ou Val, X_{21} é Lys, Met, ou Gln, X_{22} is Asp, Gly ou Ser. CDR_{H3} compreende a sequência de aminoácidos X_{23} X_{24} X_{25} X_{26} X_{27} X_{28} X_{29} X_{30} X_{31} X_{32} X_{33} X_{34} Tyr, em que o aminoácido X_{23} é Arg, Asn, Gln, ou Glu, X_{24} é Gly, Leu, Arg, ou Tyr, X_{25} é uma ligação peptídica, Asp, ou Gly, X_{26} é uma ligação
25 peptídica ou Gly, X_{27} é uma ligação peptídica ou Tyr, X_{28} é uma ligação peptídica, Leu, ou Tyr, X_{29} é uma ligação peptídica, Gly, Leu, Arg, ou Val, X_{30} é uma ligação peptídica, Asp, Gly, ou Glu, X_{31} é uma ligação peptídica, Asn, Arg, Ser, ou Tyr, X_{32} é uma ligação peptídica, Ala, Gly, Ile, ou Tyr, X_{33} is Met ou Phe, X_{34} é Ala ou Asp.

30 Compreende-se que a proteína de ligação pode compreender tanto a sequências da cadeia leve de imunoglobulina quanto a cadeia pesada da imunoglobulina ou fragmentos destas, registrados acima. Além disso,

compreende-se que a proteína de ligação pode ser um anticorpo intacto ou um fragmento de ligação ao antígeno deste ou um sítio de anticorpo biossintético.

Em certas modalidades, as sequências de CDR da cadeia leve de imunoglobulina e da cadeia pesada de imunoglobulina são interpostas com regiões de arcabouço (FR).

Em certas outras modalidades, as sequências de CDR da cadeia leve de imunoglobulina e da cadeia pesada de imunoglobulina são interpostas entre regiões de arcabouço humanas ou humanizadas.

Em outro aspecto, a invenção fornece uma proteína de ligação isolada que se liga especificamente a HGF humano. A proteína de ligação compreende: (a) uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina que compreende a estrutura CDR_{L1}-CDR_{L2}-CDR_{L3} e (b) uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina, em que a região variável da cadeia leve de imunoglobulina e a região variável da cadeia pesada de imunoglobulina juntas definem um sítio de ligação único para a ligação de HGF humano. A CDR_{L1} compreende uma sequência selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NO. 8 (**1A3**), SEQ ID NO. 18 (**2B8**), SEQ ID NO. 28 (**2F8**), SEQ ID NO. 38 (**3B6**), SEQ ID NO. 48 (**3D11**), SEQ ID NO. 58 (**1D3**), SEQ ID NO. 68 (**1F3**), e SEQ ID NO. 78 (**3A12**). A CDR_{L2} compreende uma sequência selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NO. 9 (**1A3**), SEQ ID NO. 19 (**2B8**), SEQ ID NO. 29 (**2F8**), SEQ ID NO. 39 (**3B6**), SEQ ID NO. 49 (**3D11**), SEQ ID NO. 59 (**1D3**), SEQ ID NO. 69 (**1F3**), SEQ ID NO. 79 (**3A12**) e SEQ ID NO. 206 (**LRMR2B8LC**). A CDR_{L3} compreende uma sequência selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NO. 10 (**1A3**), SEQ ID NO. 20 (**2B8**), SEQ ID NO. 30 (**2F8**), SEQ ID NO. 40 (**3B6**), SEQ ID NO. 50 (**3D11**), SEQ ID NO. 60 (**1D3**), SEQ ID NO. 70 (**1F3**), e SEQ ID NO. 80 (**3A12**). Ao longo do pedido e das reivindicações, as sequências caracterizadas por uma SEQ ID NO. particular, são acompanhadas em parênteses pelo anticorpo que foi a origem da sequência particular. Como exemplo, SEQ ID NO. 8 (**1A3**) indica que a SEQ ID NO: 8 é baseada na sequência presente no anticorpo 1A3.

Em uma modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina que compreende uma C-DR_{L1} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 8 (**1A3**), uma CDR_{L2} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 9 (**1A3**) e uma CDR_{L3} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 10 (**1A3**).

Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina que compreende uma C-DR_{L1} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 18 (**2B8**), uma CDR_{L2} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 19 (**2B8**) ou SEQ ID NO. 206 (**LRMR2B8LC**) e uma CDR_{L3} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 20 (**2B8**).

Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina que compreende uma C-DR_{L1} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 28 (**2F8**), uma CDR_{L2} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 29 (**2F8**) e uma CDR_{L3} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 30 (**2F8**).

Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina que compreende uma C-DR_{L1} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 38 (**3B6**), uma CDR_{L2} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 39 (**3B6**) e uma CDR_{L3} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 40 (**3B6**).

Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina que compreende uma C-DR_{L1} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 48 (**3D11**), uma CDR_{L2} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 49 (**3D11**) e uma CDR_{L3} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 50 (**3D11**).

Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina que compreende uma C-DR_{L1} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 58 (**1D3**), uma CDR_{L2} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 59 (**1D3**) e uma CDR_{L3} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 60 (**1D3**).

Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma

região variável da cadeia leve de imunoglobulina que compreende uma C-DR_{L1} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 68 (**1F3**), uma CDR_{L2} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 69 (**1F3**) e uma CDR_{L3} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 70 (**1F3**).

5 Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável de cadeia leve de imunoglobulina que compreende uma C-DR_{L1} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 78 (**3A12**), uma CDR_{L2} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 79 (**3A12**) e uma CDR_{L3} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 80 (**3A12**).

10 Em cada uma das modalidades anteriores, as sequências de CDR_{L1}, CDR_{L2}, e CDR_{L3} preferivelmente são interpostas entre FRs de imunoglobulina humanas ou humanizadas. É compreendido que a proteína de ligação pode ser um anticorpo intacto, um fragmento deste que se liga a antígeno ou um sítio de anticorpo biossintético.

15 Em outro aspecto, a invenção fornece uma proteína de ligação isolada que se liga a HGF humano. A proteína de ligação compreende: (a) uma região variável de cadeia pesada de imunoglobulina que compreende a estrutura CDR_{H1}-CDR_{H2}-CDR_{H3}e (b) uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina, em que a região variável da cadeia pesada de imunoglobulina e a região variável da cadeia leve de imunoglobulina juntas definem um

20 sítio de ligação único para a ligação de HGF humano. A CDR_{H1} compreende uma sequência selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NO. 5 (**1A3**), SEQ ID NO. 15 (**2B8**), SEQ ID NO. 25 (**2F8**), SEQ ID NO. 35 (**3B6**), SEQ ID NO. 45 (**3D11**), SEQ ID NO. 55 (**1D3**), SEQ ID NO. 65 (**1F3**), e SEQ ID NO.

25 75 (**3A12**); a CDR_{H2} compreende uma sequência selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NO. 6 (**1A3**), SEQ ID NO. 16 (**2B8**), SEQ ID NO. 26 (**2F8**), SEQ ID NO. 36 (**3B6**), SEQ ID NO. 46 (**3D11**), SEQ ID NO. 56 (**1D3**), SEQ ID NO. 66 (**1F3**), SEQ ID NO. 76 (**3A12**), SEQ ID NO. 202 (**Hu2B8 Hv1f.1**), SEQ ID NO. 203 (**Hu2B8 Hv5a.1** ou **Hu2B8 Hv5-51.1**), SEQ ID NO.

30 204 (**LR2B8HC**) e SEQ ID NO. 205 (**LRMR2B8HC**); a CDR_{H3} compreende uma sequência selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NO. 7 (**1A3**), SEQ ID NO. 17 (**2B8**), SEQ ID NO. 27 (**2F8**), SEQ ID NO. 37 (**3B6**), SEQ ID

NO. 47 (**3D11**), SEQ ID NO. 57 (**1D3**), SEQ ID NO. 67 (**1F3**), e SEQ ID NO. 77 (**3A12**).

Em uma modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina que compreende: uma
 5 CDR_{H1} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 5 (**1A3**); uma CDR_{H2} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 6 (**1A3**); e uma CDR_{H3} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 7 (**1A3**).

Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina que compreende: uma
 10 CDR_{H1} que compreende a sequência de SEQ ID NO.15 (**2B8**); uma CDR_{H2} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 16 (**2B8**), SEQ ID NO. 202 (**Hu2B8 Hv1f.1**), SEQ ID NO. 203 (**Hu2B8 Hv5a.1** ou **Hu2B8 Hv5-51.1**), SEQ ID NO. 204 (**LR2B8HC**) ou SEQ ID NO. 205 (**LRMR2B8HC**); e uma CDR_{H3} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 17 (**2B8**).

15 Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina que compreende: uma CDR_{H1} que compreende a sequência de SEQ ID NO.25 (**2F8**); uma CDR_{H2} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 26 (**2B8**), e uma CDR_{H3} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 27 (**2F8**).

20 Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina que compreende: uma CDR_{H1} que compreende a sequência de SEQ ID NO.35 (**3B6**); uma CDR_{H2} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 36 (**3B6**), e uma CDR_{H3} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 37 (**3B6**).

25 Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina que compreende: uma CDR_{H1} que compreende a sequência de SEQ ID NO.45 (**3D11**); uma CDR_{H2} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 46 (**3D11**), e uma CDR_{H3} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 47 (**3D11**).

30 Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina que compreende: uma CDR_{H1} que compreende a sequência de SEQ ID NO.55 (**1D3**); uma CDR_{H2}

que compreende a sequência de SEQ ID NO. 56 (**1D3**), e uma CDR_{H3} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 57 (**1D3**).

Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina que compreende: uma
5 CDR_{H1} que compreende a sequência de SEQ ID NO.65 (**1F3**); uma CDR_{H2} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 66 (**1F3**), e uma CDR_{H3} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 67 (**1F3**).

Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina que compreende: uma
10 CDR_{H1} que compreende a sequência de SEQ ID NO.75 (**3A12**); uma CDR_{H2} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 76 (**3A12**), e uma CDR_{H3} que compreende a sequência de SEQ ID NO. 77 (**3A12**).

Em cada uma das modalidades anteriores, as sequências de CDR_{H1}, CDR_{H2}, e CDR_{H3} preferivelmente são interpostas entre FRs de imunoglobulina humanas ou humanizadas. É compreendido que a proteína de
15 ligação pode ser um anticorpo intacto, um fragmento de ligação ao antígeno deste ou um sítio de anticorpo biossintético.

Em outro aspecto, a invenção fornece uma proteína de ligação isolada que se liga a HGF humano. A proteína de ligação compreende uma
20 região variável de cadeia pesada selecionada do grupo que consiste nos resíduos 20-141 de SEQ ID NO. 2 (**1A3**), resíduos 20-137 de SEQ ID NO. 12 (**2B8**), resíduos 20-137 de SEQ ID NO. 22 (**2F8**), resíduos 20-139 de SEQ ID NO. 32 (**3B6**), resíduos 20-132 de SEQ ID NO. 42 (**3D11**), resíduos 20-141 de SEQ ID NO. 52 (**1D3**), resíduos 20-141 de SEQ ID NO. 62 (**1F3**), e
25 resíduos 20-141 de SEQ ID NO. 72 (**3A12**) e uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina selecionada do grupo que consiste nos resíduos 21-127 de SEQ ID NO. 4 (**1A3**), resíduos 21-127 de SEQ ID NO. 14 (**2B8**), resíduos 20-131 de SEQ ID NO. 24 (**2F8**), resíduos 23-129 de SEQ ID NO. 34 (**3B6**), resíduos 23-128 de SEQ ID NO. 44 (**3D11**), resíduos 21-127 de SEQ
30 ID NO. 54 (**1D3**), resíduos 21-127 de SEQ ID NO. 64 (**1F3**), e resíduos 21-127 de SEQ ID NO. 74 (**3A12**).

Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma

região variável de cadeia pesada de imunoglobulina que compreende a sequência de aminoácidos dos resíduos 20-141 de SEQ ID NO: 2 (**1A3**) e uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina que compreende a sequência de aminoácidos dos resíduos 21-127 de SEQ ID NO: 4 (**1A3**).

5 Em uma modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina que compreende a sequência de aminoácidos dos resíduos 20-137 de SEQ ID NO: 12 (**2B8**) e uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina que compreende a sequência de aminoácidos dos resíduos 21-127 de SEQ ID NO: 4 (**2B8**).

10 Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina que compreende a sequência de aminoácidos dos resíduos 20-137 de SEQ ID NO: 22 (**2F8**) e uma região variável de cadeia leve de imunoglobulina que compreende a sequência de aminoácidos dos resíduos 20-131 de SEQ ID NO: 24 (**2F8**).

15 Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina que compreende a sequência de aminoácidos dos resíduos 20-139 de SEQ ID NO: 32 (**3B6**) e uma região variável de cadeia leve de imunoglobulina que compreende a sequência de aminoácidos dos resíduos 23-129 de SEQ ID NO: 34 (**3B6**).

20 Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina que compreende a sequência de aminoácidos dos resíduos 20-132 de SEQ ID NO: 42 (**3D11**) e uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina que compreende a sequência de aminoácidos dos resíduos 23-128 de SEQ ID NO: 44 (**3D11**).

25 Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina que compreende a sequência de aminoácidos dos resíduos 20-141 de SEQ ID NO: 52 (**1D3**) e uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina que compreende a sequência de aminoácidos dos resíduos 21-127 de SEQ ID NO: 54 (**1D3**).

30 Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável de cadeia pesada de imunoglobulina que compreende a sequência de aminoácidos dos resíduos 20-141 de SEQ ID NO: 62 (**1F3**) e

uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina que compreende a sequência de aminoácidos dos resíduos 21-127 de SEQ ID NO: 64 (**1F3**).

Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina que compreende a sequência de aminoácidos dos resíduos 20-141 de SEQ ID NO: 72 (**3A12**) e uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina que compreende a sequência de aminoácidos dos resíduos 21-127 de SEQ ID NO: 74 (**3A12**).

Em qualquer uma das modalidades anteriores, a proteína de ligação pode ser um anticorpo intacto, um fragmento deste que se liga a antígeno ou um sítio de anticorpo biossintético.

Em outro aspecto, a invenção fornece uma proteína de ligação isolada que se liga a HGF humano. A proteína de ligação compreende (i) uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NO. 173 (**região variável da cadeia leve de Hu2B8 Kv1-39.1**), SEQ ID NO. 179 (**região variável da cadeia leve de Hu2B8 Kv3-15.1**), SEQ ID NO. 193 (**região variável da cadeia leve de LR2B8LC**), e SEQ ID NO. 199 (**região variável da cadeia leve de LRMR2B8LC**); e (ii) uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina que selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NO. 159 (**região variável da cadeia pesada de Hu2B8 Hv1f.1**), SEQ ID NO. 165 (**região variável da cadeia pesada de Hu2B8 Hv5a.1**), SEQ ID NO. 169 (**região variável da cadeia pesada de Hu2B8 Hv5-51.1**), SEQ ID NO. 183 (**região variável da cadeia pesada de LR2B8HC**), e SEQ ID NO. 189 (**região variável da cadeia pesada de LRMR2B8LC**). A proteína de ligação pode ser um anticorpo intacto, um fragmento de ligação ao antígeno deste ou um sítio de anticorpo biossintético.

Em outro aspecto, a invenção fornece uma proteína de ligação isolada que se liga a HGF humano. A proteína de ligação compreende (i) uma cadeia leve de imunoglobulina selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NO. 177 (**Hu2B8 Kv1-39.1 + constante capa (alótipo Km(3) (alelo 2))**), SEQ ID NO. 181 (**Hu2B8 Kv3-15.1 + constante Capa (alótipo Km(3) (alelo 2))**), SEQ ID NO. 197 (**LR2B8LC + constante Capa (alótipo Km(3)**

(alelo 1)), e SEQ ID NO. 201 (LRMR2B8LC + constante Capa (alótipo Km(3) (alelo 1))); e (ii) uma imunoglobulina da cadeia pesada selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NO. 163 (Hu2B8 Hv1f.1 + constante de IgG1 (alótipo G1m(17,1))), SEQ ID NO. 167 (Hu2B8 Hv5a.1 + constante de IgG1 (alótipo G1m(17,1))), SEQ ID NO. 171 (Hu2B8 Hv5-51.1 + Constante de IgG1 (alótipo G1m(17,1))), SEQ ID NO. 187 (LR2B8HC + constante de IgG1 (alótipo G1m(3)) (alelo 1)), e SEQ ID NO. 191 (LRMR2B8HC + constante de IgG1 (alótipo G1m(3)) (alelo 1)). A proteína de ligação pode ser um anticorpo intacto, um fragmento de ligação ao antígeno deste ou um sítio de anticorpo biossintético.

Em outro aspecto, a invenção fornece uma proteína de ligação isolada que se liga a HGF humano reduzido. A proteína de ligação compreende (i) uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina que compreende três CDRs e (ii) uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina que compreende três CDRs. As CDRs estão tipicamente interpostas entre FRs. As CDRs da cadeia leve de imunoglobulina e da cadeia pesada de imunoglobulina juntas definem um sítio de ligação que se liga a HGF humano reduzido, por exemplo, a cadeia α de HGF reduzido. HGF reduzido refere-se a HGF tratado com uma quantidade de agente redutor, por exemplo, ditioneitol (DTT), 2-mercaptoetanol ou glutathione suficiente para reduzir a ligação dissulfeto entre a cadeia α e a cadeia β . Concentrações exemplares incluem, por exemplo, DTT 100 mM e 2-mercaptoetanol 5%.

Em certas modalidades, a proteína de ligação compreende uma região variável de cadeia leve de imunoglobulina que compreende pelo menos uma CDR selecionada do grupo que consiste em CDR_{L1}, CDR_{L2} e CDR_{L3}. Opcionalmente, a proteína de ligação compreende duas CDRs, por exemplo, CDR_{L1} e CDR_{L2}, ou CDR_{L1} e CDR_{L3}, ou CDR_{L1} e CDR_{L3}. Opcionalmente, a proteína de ligação compreende todas as três CDRs, isto é, CDR_{L1}, CDR_{L2} e CDR_{L3}. CDR_{L1} compreende a sequência de aminoácidos X₁ X₂ Ser X₄ X₅ X₆ X₇ X₈ X₉ X₁₀ X₁₁ X₁₂ X₁₃ X₁₄ X₁₅, em que o aminoácido X₁ é Arg ou Lys, X₂ é Ala ou Thr, X₄ é Glu ou Gln, X₅ é Asn, Ser, ou Asp, X₆ é Ile ou Val, X₇ é Tyr, Asp, ou Lys, X₈ é uma ligação peptídica ou Tyr, X₉ é uma

- ligação peptídica ou Asp, X_{10} é uma ligação peptídica ou Gly, X_{11} é uma ligação peptídica ou Asn, X_{12} é uma ligação peptídica ou Ser, X_{13} é Asn ou Tyr, X_{14} é Ile ou Leu, X_{15} é Ala, Asn, ou Ser. CDR_{L2} compreende a sequência de aminoácidos X_{16} X_{17} X_{18} X_{19} Leu X_{21} X_{22} , em que o aminoácido X_{16} é Ala, Asp, Val, ou Arg, X_{17} é Ala ou Val, X_{18} é Asn, Ser, ou Thr, X_{19} é Arg, Asn, ou He, X_{21} é Ala, Glu, Val, ou Pro, X_{22} é Asp ou Ser. CDR_{L3} compreende a sequência de aminoácidos X_{23} X_{24} X_{25} X_{26} X_{27} X_{28} Pro X_{30} Thr, em que o aminoácido X_{23} é Leu ou Gln, X_{24} é H ou Gln, X_{25} é Phe, Ser, ou Tyr, X_{26} é Asp, Ile, ou Trp, X_{27} é Gly ou Glu, X_{28} é Asp, Phe, ou Thr, X_{30} é Phe, Pro, ou Tyr.
- Em outra modalidade, a proteína de ligação compreende uma região variável de cadeia leve de imunoglobulina que compreende pelo menos uma CDR selecionada do grupo que consiste em CDR_{H1}, CDR_{H2}, e CDR_{H3}. Opcionalmente, a proteína de ligação compreende duas CDRs, por exemplo, CDR_{H1} e CDR_{H2}, ou CDR_{H1} e CDR_{H3}, ou CDR_{H1} e CDR_{H3}. Opcionalmente, a proteína de ligação compreende todas as três CDRs, isto é, CDR_{H1}, CDR_{H2} e CDR_{H3}. CDR_{H1} compreende a sequência de aminoácidos X_1 Tyr X_3 X_4 X_5 , em que o aminoácido X_1 é Asp, Asn, Ser, ou Thr, X_3 é Phe, Trp, ou Tyr, X_4 é Ile ou Met, X_5 é Asn, Hé, ou Ser. CDR_{H2} compreende a sequência de aminoácidos X_6 Ile X_8 X_9 Gly X_{11} Gly X_{13} X_{14} X_{15} Tyr X_{17} X_{18} X_{19} X_{20} Lys X_{22} , em que o aminoácido X_6 é Lys, Gln, ou Tyr, X_8 é Gly, Ser, ou Tyr, X_9 é Pro ou Ser, X_{11} é Asp, Gly, ou Ser, X_{13} é Asp ou Ser, X_{14} é Ser ou Thr, X_{15} é Asn ou Tyr, X_{17} é Asn ou Pro, X_{18} é Ala, Asp, Gly, ou Glu, X_{19} é Asn, Met, ou Ser, X_{20} é Phe ou Val, X_{22} é Asp ou Gly. CDR_{H3} compreende a sequência de aminoácidos X_{23} X_{24} X_{25} X_{26} X_{27} X_{28} X_{29} X_{30} X_{31} X_{32} X_{33} Asp Tyr, em que o aminoácido X_{23} é Arg ou Gln, X_{24} é Gly ou Leu, X_{25} é Asp, Gly, ou uma ligação peptídica, X_{26} é Gly ou uma ligação peptídica, X_{27} é uma ligação peptídica ou Tyr, X_{28} é Leu, uma ligação peptídica ou Tyr, X_{29} é a Gly, Arg ou Leu, X_{30} é Asp, Gly ou Glu, X_{31} é a Tyr, Arg ou Asn, X_{32} é Ala, Gly ou Tyr, X_{33} é Met ou Phe.
- Compreende-se que a proteína de ligação pode compreender ambas as sequências de cadeia leve de imunoglobulina e cadeia pesada de imunoglobulina ou fragmentos dessas, registrados acima. Além disso, é

compreendido que a proteína de ligação pode ser um anticorpo intacto ou um fragmento deste que se liga a antígeno ou um sítio de anticorpo biossintético.

Em certas modalidades, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina que compreende (i) uma CDR_{L1} que tem uma sequência selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NO. 8 (**1A3**), SEQ ID NO. 28 (**2F8**), SEQ ID NO. 38 (**3B6**), SEQ ID NO. 58 (**1D3**), e SEQ ID NO. 68 (**1F3**), (ii) uma CDR_{L2} que tem uma sequência selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NO. 9 (**1A3**), SEQ ID NO. 29 (**2F8**), SEQ ID NO. 39 (**3B6**), SEQ ID NO. 59 (**1D3**), e SEQ ID NO. 69 (**1F3**), e (iii) uma CDR_{L3} que tem uma sequência selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NO. 10 (**1A3**), SEQ ID NO. 30 (**2F8**), SEQ ID NO. 40 (**3B6**), SEQ ID NO. 60 (**1D3**), e SEQ ID NO. 70 (**1F3**). As sequências de CDR podem ser interpostas entre FRs humanas ou humanizadas.

Em outras modalidades, a proteína de ligação compreende uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina que compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nos resíduos 21-127 de SEQ ID NO. 4 (**1A3**), resíduos 20-131 de SEQ ID NO. 24 (**2F8**), resíduos 23-129 de SEQ ID NO. 34 (**3B6**), resíduos 21-127 de SEQ ID NO. 54 (**1D3**), e resíduos 21-127 de SEQ ID NO. 64 (**1F3**).

Em certas outras modalidades, a proteína de ligação compreende uma região variável de cadeia pesada de imunoglobulina que compreende (i) uma CDR_{H1} que tem uma sequência selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NO. 5 (**1A3**), SEQ ID NO. 25 (**2F8**), SEQ ID NO. 35 (**3B6**), SEQ ID NO. 55 (**1D3**), e SEQ ID NO. 65 (**1F3**), (ii) uma CDR_{H2} que tem uma sequência selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NO. 6 (**1A3**), SEQ ID NO. 26 (**2F8**), SEQ ID NO. 36 (**3B6**), SEQ ID NO. 56 (**1D3**), e SEQ ID NO. 66 (**1F3**), e (iii) uma CDR_{H3} que tem uma sequência selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NO. 7 (**1A3**), SEQ ID NO. 27 (**2F8**), SEQ ID NO. 37 (**3B6**), SEQ ID NO. 57 (**1D3**), e SEQ ID NO. 67 (**1F3**). As sequências de CDR podem ser interpostas entre FRs humanas ou humanizadas.

Em outra modalidade, a região variável da cadeia pesada de

imunoglobulina compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nos resíduos 20-141 de SEQ ID NO. 2 (**1A3**), resíduos 20-137 de SEQ ID NO. 22 (**2F8**), resíduos 20-139 de SEQ ID NO. 32 (**3B6**), resíduos 20-141 de SEQ ID NO. 52 (**1D3**), e resíduos 20-141 de SEQ ID NO. 62 (**1F3**).

Em outro aspecto, a invenção fornece uma proteína de ligação isolada que se liga a HGF humano e compreende uma região variável de cadeia leve de imunoglobulina e uma região variável de cadeia pesada de imunoglobulina. A proteína de ligação isolada compete pela ligação a HGF com pelo menos um anticorpo de referência selecionado do grupo que consiste em (i) um anticorpo que tem uma região variável de cadeia leve de imunoglobulina com resíduos 20-131 de SEQ ID NO. 24 (**2F8**) e uma região variável de cadeia pesada de imunoglobulina com resíduos 20-137 de SEQ ID NO. 22 (**2F8**), (ii) um anticorpo que tem uma região variável de cadeia leve de imunoglobulina com resíduos 23-129 de SEQ ID NO. 34 (**3B6**), e uma região variável de cadeia pesada de imunoglobulina com resíduos 20-139 de SEQ ID NO. 32 (**3B6**) e (iii) um anticorpo que tem uma região variável de cadeia leve de imunoglobulina com resíduos 23-128 de SEQ ID NO. 44 (**3D11**) e uma região variável de cadeia pesada de imunoglobulina com resíduos 20-132 de SEQ ID NO. 42 (**3D11**). Sob certas circunstâncias, a proteína de ligação se liga ao mesmo epítipo de HGF como um dos anticorpos de referência.

É compreendido que cada uma das proteínas de ligação discutidas acima pode ser um anticorpo intacto, por exemplo, um anticorpo monoclonal. Alternativamente, a proteína de ligação pode ser um fragmento de um anticorpo que se liga a antígeno ou pode ser um sítio de ligação de anticorpo biossintético. Fragmentos de anticorpo incluem fragmentos Fab, Fab', (Fab')₂ ou Fv. Técnicas para fazer tais fragmentos de anticorpo são conhecidas por aqueles versados na técnica. Vários sítios de ligação de anticorpo biossintético são conhecidos na técnica, por exemplo, moléculas de Fv único ou sFv, descritas, por exemplo, na Patente U.S. Nº 5.476.786. Outros sítios de ligação de anticorpo biossintético incluem proteínas de ligação biespecíficas ou

bifuncionais que são anticorpos ou fragmentos de anticorpo que se ligam a pelo menos dois antígenos diferentes. Por exemplo, proteínas de ligação biespecíficas podem se ligar a HGF, por exemplo, HGF humano e outro antígeno de interesse. Métodos para fazer anticorpos biespecíficos são conhecidos na técnica e incluem, por exemplo, a fusão de hibridomas ou ligação de fragmentos Fab'. Veja, por exemplo, Songsivilai *et al.* (1990) CLIN. EXP. IMMUNOL. 79: 315-325; Kostelny *et al.* (1992) J. IMMUNOL. 148: 1547-1553.

As proteínas de ligação da invenção podem se ligar a hHGF que contém uma substituição de cisteína por arginina na posição 561 ou uma substituição de glicina por glutamato na posição 555.

Em outro aspecto, a invenção fornece uma proteína de ligação isolada que se liga a HGF humano com uma k_d de $4,0 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ ou menor, $3,0 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ ou menor, ou $2,0 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ ou menor. As proteínas de ligação isoladas podem se ligar a HGF humano com k_d de $5,0 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ a $0,5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$, ou de $4,0 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ a $1,0 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$, ou de $3,0 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ a $1,5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$. Em outro aspecto, a invenção fornece uma proteína de ligação isolada que se liga a HGF humano com K_d de 100 pM ou menor, ou 20 pM ou menor, ou 10 pM ou menor ou 5 pM ou menor. As proteínas de ligação isoladas podem se ligar a HGF humano com K_D de 100 pM a 5 pM, ou de 20 pM a 5 pM, ou de 15 pM a 10 pM, ou de 20 pM a 10 pM, ou de 15 pM a 5 pM. A menos que especificado de outra maneira, valores de K_D são determinados pelos métodos e sob as condições descritas no Exemplo 6.

Em outro aspecto, a invenção fornece uma proteína de ligação isolada que se liga a HGF humano, em que o anticorpo se liga a HGF humano com K_D menor a 37°C do que a 25°C. A proteína de ligação opcionalmente se liga a HGF humano com K_D menor do que 5 pM a 37°C.

Em outros aspectos e modalidades, as proteínas de ligação podem inibir a ligação de hHGF a c-Met. Por exemplo, as proteínas de ligação podem ter uma IC_{50} (concentração a 50% da inibição máxima) de pelo menos cerca de 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, e 7,0 nM quando testadas usando o protocolo descrito no Exemplo 7(a). Em certas outras modalidades, as proteínas de ligação podem neutralizar a incorporação de BrdU mediada por HGF

em células 4 MBr-5 (ATCC, Nº de catálogo CCL208) usando o método descrito no Exemplo 7(b).

As proteínas de ligação podem ter uma IC_{50} de 50 nM ou menor, preferivelmente 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5, 1, 0.5 nM ou menor, quando ensaiadas usando o protocolo descrito no Exemplo 7(b). Em certas outras modalidades, as proteínas de ligação podem ser usadas para inibir a fosforilação de c-Met estimulada por HGF em células PC-3 (ATCC, Manassus, VA Nº de catálogo. CRL-1435) usando o ensaio descrito no Exemplo 9.

II – Produção de Proteínas de Ligação

Proteínas de ligação da invenção podem ser produzidas de várias maneiras usando abordagens conhecidas na técnica. Por exemplo, moléculas de DNA que codificam regiões variáveis de cadeia leve e regiões variáveis de cadeia pesada podem ser sintetizadas quimicamente, usando um sintetizador comercial e a informação de sequência fornecida nesse. Tais moléculas sintéticas de DNA podem ser ligadas a outras sequências de nucleotídeo apropriadas, incluindo, por exemplo, sequências que codificam região constante e sequências de controle da expressão, para produzir construtos de expressão de gene convencionais que codificam as proteínas de ligação desejadas. A produção de construtos de genes definidos está dentro da técnica de rotina. Alternativamente, as sequências fornecidas aqui podem ser clonadas de hibridomas por técnicas de hibridização convencionais ou técnicas de PCR, usando sondas de ácido nucléico sintético cujas sequências são baseadas na informação de sequência fornecida aqui ou na informação de sequência da técnica anterior com relação a genes que codificam as cadeias pesadas e leves de anticorpos de murino em células de hibridoma. A produção e uso de tais sondas está dentro da técnica ordinária.

Os ácidos nucléicos que codificam as proteínas de ligação desejadas podem ser introduzidos (ligados) em vetores de expressão, que podem ser introduzidos em uma célula hospedeira através de técnicas usuais de transfecção ou de transformação conhecidas na técnica. Células hospedeiras exemplares incluem, por exemplo, células de *E. coli*, células de ovário de hamster chinês (CHO), células de rim de filhote de hamster (BHK), células

de rim de macaco (COS), células de carcinoma hepatocelular humano (por exemplo, Hep G2) e células de mieloma que não produzem proteína imunoglobulina de outra maneira. Células hospedeiras transfectadas podem ser cultivadas sob condições que permitem as células hospedeiras expressar os genes de interesse, por exemplo, os genes que codificam as regiões variáveis de cadeia leve e pesada de imunoglobulina. Os produtos de expressão resultantes podem ser coletados usando técnicas conhecidas.

As condições de expressão e purificação particulares variarão dependendo de qual sistema de expressão é empregado. Por exemplo, se o gene for expresso em *E. coli*, ele é clonado primeiro em um vetor de expressão. Isso é obtido pelo posicionamento do gene manipulado a jusante do promotor bacteriano adequado, por exemplo, TrP ou Tac, e uma sequência de sinal, por exemplo, uma sequência que codifica um fragmento B da proteína A (FB). A proteína de fusão expressa resultante se acumula tipicamente em corpos refrativos ou de inclusão no citoplasma das células e podem ser coletadas após a ruptura das células por prensa francesa ou sonicação. Os corpos refrativos são então solubilizados e as proteínas expressas reenoveladas e clivadas por métodos já estabelecidos para muitas outras proteínas recombinantes.

Se o gene manipulado for expresso em células hospedeiras eucarióticas, por exemplo, células de mieloma ou células CHO, ele é inserido primeiro em um vetor de expressão que contém um promotor eucariótico adequado, um sinal de secreção, intensificadores de imunoglobulina e vários íntrons. Esse vetor de expressão pode conter opcionalmente sequências que codificam toda ou uma parte de uma região constante, possibilitando que uma cadeia pesada ou leve inteira ou uma parte seja expressa. O construto de gene pode ser transfectado em células de mieloma ou células CHO usando protocolos de transfecção estabelecidos. Tais células transfectadas podem expressar fragmentos de V_L ou V_H , heterodímeros de V_L - V_H , polipeptídeos de cadeia simples de V_H - V_L ou V_L - V_H , cadeias pesadas ou leves completas de imunoglobulina ou porções desses, cada um dos quais podendo ser acoplados a um domínio de proteína que tem outra função (por exemplo,

citotoxicidade).

III – Modificações das Proteínas de Ligação

É compreendido que as proteínas de ligação podem ser modificadas para otimizar o desempenho dependendo do uso pretendido das proteínas de ligação. Por exemplo, a proteína de ligação está sendo usada como um agente terapêutico, a proteína de ligação pode ser modificada para reduzir sua imunogenicidade no receptor pretendido. Alternativamente ou, adicionalmente, a proteína de ligação pode ser fundida ou acoplada à outra proteína ou peptídeo, por exemplo, um fator de crescimento, citocina ou citotoxina. Tais modificações podem ser obtidas usando técnicas de manipulação de gene de rotina conhecidas na técnica.

Várias técnicas para reduzir a antigenicidade de anticorpos ou fragmentos de anticorpo são conhecidas na técnica. Essas técnicas podem ser usadas para reduzir ou eliminar a antigenicidade das proteínas de ligação da invenção. Por exemplo, quando as proteínas de ligação são para ser administradas a um ser humano, as proteínas de ligação são preferivelmente manipuladas para reduzir sua antigenicidade em seres humanos. Esse processo é geralmente referido como humanização. Preferivelmente, as proteínas de ligação humanizadas têm a mesma ou substancialmente a mesma afinidade pelo antígeno que a proteína de ligação não humanizada original da qual ela é derivada.

Em uma abordagem de humanização bem conhecida, proteínas quiméricas são criadas nas quais as regiões constantes de imunoglobulina de anticorpos de uma espécie, por exemplo, camundongo, são substituídas por regiões constantes de imunoglobulina de uma segunda espécie diferente, por exemplo, um humano. Nesse exemplo, o anticorpo resultante é uma quimera de camundongo-humano, onde as sequências da região constante humana, em princípio, são menos imunogênicas do que as sequências de murino correspondentes. Esse tipo de manipulação de anticorpo é descrito, por exemplo, em Morrison, *et al.* (1984) PROC. NAT. ACAD. SCI. 81: 6851-6855, Neuberger *et al.* (1984) NATURE 312: 604-608; Patente U.S. Nºs. 6.893.625 (Robinson); 5.500.362 (Robinson); e 4.816.567 (Cabilly).

Em outra abordagem, conhecida como enxerto de CDR, as CDRs das regiões variáveis de cadeia leve e pesada de um anticorpo de interesse são enxertadas em regiões de arcabouço (FRs) de outra espécie. Por exemplo, CDRs de murino podem ser enxertadas em sequências de FR humanas. Em algumas modalidades, as CDRs das regiões variáveis de cadeia leve e pesada de um anticorpo anti-HGF são enxertadas em FRs humanas ou FRs humanas de consenso. A fim de criar FRs humanas de consenso, FRs de várias sequências de aminoácidos de cadeia pesada ou cadeia leve humanas são alinhadas para identificar a sequência de aminoácidos de consenso. O enxerto de CDR está descrito, por exemplo, em Patente U.S. Nº 7.022.500 (Queen); 6.982.321 (Winter); 6.180.370 (Queen); 6.054.297 (Carter); 5.693.762 (Queen); 5.859.205 (Adair); 5.693.761 (Queen); 5.565.332 (Hoogenboom); 5.585.089 (Queen); 5.530.101 (Queen); Jones *et al.* (1986) NATURE 321: 522-525; Riechmann *et al.* (1988) NATURE 332: 323-327; Verhoeyen *et al.* (1988) SCIENCE 239: 1534-1536; e Winter (1998) FEBS LETT 430: 92-94.

Em uma abordagem chamada "super-humanização", anticorpos nos quais a imunogenicidade humana está reduzida ou eliminada são criados por uma forma alternativa de enxerto. Na super-humanização, sequências de FR são escolhidas de um grupo de genes de linhagem germinativa humana com base na similaridade estrutural das CDRs humanas com aquelas do anticorpo de camundongo a ser humanizado. Essa abordagem é descrita, por exemplo, na Patente U.S. Nº 6.881.557 (Foote) e em Tan *et al.* (2002) J. IMMUNOL 169:1119-1125.

Outras abordagens para reduzir a imunogenicidade incluem técnicas que são conhecidas como "transformação", "hiperquimerização" ou "recapeamento/revestimento" para produzir anticorpos humanizados. Veja, por exemplo, Vaswami *et al.* (1998) ANNALS OF ALLERGY, ASTHMA, & IMMUNOL. 81: 105; Roguska *et al.* (1996) PROT. ENGINEER 9: 895-904; e Patente U.S. Nº 6.072.035 (Hardman). Na abordagem de recapeamento/revestimento, os resíduos de aminoácidos de superfície acessível no anticorpo de murino são substituídos por resíduos de aminoácidos mais frequentemente encontrados

nas mesmas posições em um anticorpo humano. Esse tipo de revestimento de anticorpo está descrito, por exemplo, na Patente U.S. Nº 5.639.641 (Pedersen).

5 Uma abordagem exemplar para conversão de um anticorpo de camundongo em uma forma adequada para uso médico em seres humanos é conhecida como tecnologia ACTIVMAB® (Vaccinex, Inc., Rochester, NY), que envolve um vetor baseado no vírus da vacínia para expressar anticorpos em células de mamífero. Altos níveis de diversidade combinatória das cadeias pesadas e leves de imunoglobulina são ditos serem produzidos. Veja, por exemplo, Patente U.S. Nºs 6.706.477 (Zauderer); 6.800.442 (Zauderer); e 10 6.872.518 (Zauderer).

Outra abordagem exemplar para conversão de um anticorpo de camundongo em uma forma adequada para uso em seres humanos é a tecnologia praticada comercialmente por KaloBios Pharmaceuticals, Inc. (Palo Alto, CA). Essa tecnologia envolve o uso de uma biblioteca "acceptora" de 15 propriedade humana para produzir uma biblioteca "focalizada no epítopo" para seleção de anticorpo.

Outra abordagem exemplar para modificação de um anticorpo de camundongo em uma forma adequada para uso médico em humanos é a 20 tecnologia HUMAN ENGINEERING® (HE®), que é praticada comercialmente por XOMA (US) LLC. Veja, por exemplo, Pedido de Publicação Internacional Nº WO 93/11794 e Patente U.S. Nºs 5.766.886; 5.770.196; 5.821.123; e 5.869.619.

Qualquer abordagem adequada, incluindo qualquer uma das 25 abordagens acima, pode ser utilizada para reduzir ou eliminar a imunogenicidade humana de uma proteína de ligação de interesse.

Além disso, é possível criar anticorpos totalmente humanos em camundongos. Nessa abordagem, anticorpos humanos são preparados usando um camundongo transgênico no qual os genes que produzem anti- 30 corpo de camundongo foram substituídos por uma porção substancial de genes que produzem anticorpo humano. Tais camundongos produzem imunoglobulina humana ao invés de moléculas de imunoglobulina de murino.

Veja, por exemplo, WO 98/24893 (Jacobovitz et al.) e Mendez *et al.* (1997) NATURE GENETICS 15: 146-156. Anticorpos monoclonais anti-HGF totalmente humanos podem ser produzidos usando a seguinte abordagem. Camundongos transgênicos que contêm genes de imunoglobulina humana são imunizados com o antígeno de interesse, por exemplo, HGF. Células linfáticas dos camundongos são então obtidas dos camundongos, que são então fundidas com uma linhagem celular de tipo mielóide para preparar linhagens celulares de hibridoma imortalizado. As linhagens celulares de hibridoma são rastreadas e selecionadas para identificar linhagens celulares de hibridoma que produzem anticorpos específicos para HGF.

Proteínas de ligação da invenção podem ser conjugadas com outras moléculas, dependendo do uso pretendido. Por exemplo, se a proteína de ligação for usada como um terapêutico, então a proteína de ligação pode ser conjugada com outro agente, por exemplo, uma molécula efetora que modula ou, promove a terapia de outra forma. À medida que o efector é um agente baseado em uma não proteína, por exemplo, um fármaco de molécula pequena, um radiomarcador ou toxina, então o agente pode ser quimicamente acoplado usando químicas de acoplamento *in vitro* padronizadas. Se, por outro lado, a molécula efetora é uma proteína ou peptídeo, por exemplo, uma enzima, receptor, toxina, fator de crescimento, citocina ou outro imunomodulador, então a proteína de ligação pode ser quimicamente acoplada ao efector usando químicas de acoplamento *in vitro* ou podem ser acopladas ao efector como uma proteína de fusão. Proteínas de fusão podem ser construídas e expressas usando técnicas similares às aquelas discutidas na seção II.

IV – Uso de Proteínas de Ligação

As proteínas de ligação descritas aqui podem ser usadas como um agente de diagnóstico ou um agente terapêutico.

(1) Aplicações Terapêuticas

Como as proteínas de ligação da invenção neutralizam a atividade de HGF, elas podem ser usadas em várias aplicações terapêuticas. Por exemplo, certas proteínas de ligação da invenção são úteis na preven-

ção ou tratamento de doenças ou desordens hiperproliferativas, por exemplo, várias formas de câncer.

As proteínas de ligação podem ser usadas para inibir ou reduzir a proliferação de células tumorais. Em tal abordagem, as células tumorais
5 são expostas a uma quantidade terapeuticamente eficaz da proteína de ligação a fim de inibir ou reduzir a proliferação da célula tumoral. Em certas modalidades, as proteínas de ligação inibem a proliferação de célula tumoral em pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% ou 100%.

Em certas modalidades, a proteína de ligação é usada para inibir
10 ou reduzir a proliferação de uma célula de tumor, na qual a proteína de ligação reduz a habilidade de hHGF de se ligar a c-Met. Em outras modalidades, a proteína de ligação é usada para inibir ou reduzir a proliferação de uma célula de tumor mesmo quando a proteína de ligação se liga a hHGF mas não inibe substancialmente a ligação de hHGF a c-Met, como demonstrado
15 pelo anticorpo 3B6 nas Tabelas 5 e 6.

Além disso, a proteína de ligação pode ser usada para inibir ou reduzir o crescimento ou desenvolvimento do tumor em um mamífero. Em tal método, uma quantidade eficaz de proteína de ligação é administrada ao mamífero a fim de inibir ou reduzir o crescimento do tumor em um mamífero.
20 Consequentemente, as proteínas de ligação podem ser usadas para tratar tumores, por exemplo, em um mamífero. O método compreende administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz da proteína de ligação. A proteína de ligação pode ser administrada sozinha ou em combinação com outra molécula farmacologicamente ativa a fim de tratar o tumor.

25 Considera-se que as proteínas de ligação da invenção podem ser usadas no tratamento de uma variedade de distúrbios responsivos a HGF, incluindo, por exemplo, células tumorais responsivas a HGF no câncer de pulmão, câncer de mama, câncer de colo, câncer de próstata, câncer ovariano, câncer de cabeça e pescoço, câncer ovariano, mieloma múltiplo,
30 câncer de fígado, câncer gástrico, câncer de esôfago, câncer de rim, câncer de nasofaringe, câncer pancreático, mesotelioma, melanoma e glioblastoma.

Conforme usado aqui "tratar", "tratando" e "tratamento" referem-

se ao tratamento de um estado de doença em um mamífero, particularmente em um ser humano, e incluem: (a) impedir que o estado de doença ocorra em um mamífero, em particular quando tal mamífero está predisposto ao estado de doença, mas ainda não foi diagnosticado como o tendo; (b) inibir o estado de doença, isto é, parar seu desenvolvimento; e/ou (c) aliviar o estado de doença, isto é, causar a regressão do estado de doença.

Geralmente, uma quantidade terapeuticamente eficaz do componente ativo estará na faixa entre cerca de 0,1 mg/kg a cerca de 100 mg/kg, opcionalmente de cerca de 1 mg/kg a cerca de 100 mg/kg, opcionalmente de cerca de 1 mg/kg a cerca de 10 mg/kg. A quantidade administrada dependerá de variáveis tais como o tipo e extensão da doença ou indicação a ser tratada, do estado de saúde do paciente em particular, da eficácia biológica relativa da proteína de ligação liberada, da formulação da proteína de ligação, da presença e dos tipos de excipientes na formulação e da via de administração. A dosagem inicial administrada pode ser aumentada além do nível superior a fim de se obter rapidamente o nível sanguíneo ou nível tecidual desejados ou a dosagem inicial pode ser menor do que o ótimo e a dosagem diária pode ser progressivamente aumentada durante o curso do tratamento dependendo da situação particular. A dosagem humana pode ser otimizada, por exemplo, em um estudo de intensificação de dosagem convencional de Fase I planejado para correr entre 0,5 mg/kg a 20 mg/kg. A frequência de dosagem pode variar, dependendo de fatores tais como a via de administração, quantidade dosada e a condição da doença a ser tratada. Frequências de dosagem exemplares são uma vez por dia, uma vez por semana e uma vez a cada duas semanas. A via de administração preferida é parenteral, por exemplo, infusão intravenosa. A formulação de fármacos baseados em anticorpos monoclonais está dentro da técnica comum. Em algumas modalidades da invenção, a proteína de ligação, por exemplo, um anticorpo monoclonal, é liofilizada e reconstituída em salina tamponada no momento da administração.

As proteínas de ligação podem ser administradas tanto sozinhas quanto em combinação com outros ingredientes farmacêuticamente ativos.

Os outros ingredientes ativos, por exemplo, imunomoduladores, podem ser administrados junto com a proteína de ligação ou podem ser administrados antes ou depois da proteína de ligação.

5 Formulações contendo as proteínas de ligação para uso terapêutico, incluem tipicamente as proteínas de ligação combinadas com um veículo farmaceuticamente aceitável. Conforme usado aqui, "veículo farmaceuticamente aceitável" significa tampões, veículos e excipientes que são, dentro do escopo do julgamento clínico, adequados para uso em contato com tecidos de seres humanos e animais sem toxicidade excessiva, irritação, resposta alérgica ou outro problema ou complicação, correspondente a
10 uma proporção benefício/risco razoável. O(s) veículo(s) deve(m) ser "aceitável(eis)" no sentido de serem compatíveis com outros ingredientes das formulações e não deletérios para o receptor. Veículos farmaceuticamente aceitáveis, nesse aspecto, pretendem incluir qualquer um e todos os tampões,
15 solventes, meios de dispersão, revestimentos, agentes isotônicos e prolongadores da absorção e semelhantes, compatíveis com administração farmacêutica. O uso de tais meios e agentes para substâncias farmaceuticamente ativas é conhecido na técnica.

As formulações podem ser convenientemente apresentadas em
20 uma forma de dosagem unitária e podem ser preparadas por qualquer método adequado, incluindo quaisquer métodos bem conhecidos na técnica da farmácia. Uma composição farmacêutica da invenção deve ser formulada para ser compatível com sua via de administração pretendida. Exemplos de vias de administração incluem administração parenteral ou administração
25 não parenteral, por exemplo, intravenosa, intradérmica, inalação, transdérmica (tópica), transmucosa e administração retal. Soluções úteis para administração oral ou parenteral podem ser preparadas por qualquer um dos métodos bem conhecidos na técnica farmacêutica, descritos, por exemplo, em *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18^a d. (Mack Publishing Company,
30 1990).

Formulações adequadas para administração oral podem estar na forma de: unidades individuais tais como injeções, cápsulas, cápsulas

gelatinosas, sachês, comprimidos, pastilhas ou drágeas, cada uma contendo uma quantidade predeterminada da proteína de ligação; uma composição em pó ou granulada; uma solução ou uma suspensão em um líquido aquoso ou um líquido não aquoso; ou uma emulsão de óleo em água ou uma emulsão de água em óleo.

5 Formulações adequadas para administração parenteral incluem, por exemplo, os seguintes componentes: um diluente estéril tal como água para injeção, solução salina, óleos fixos, polietileno glicóis, glicerina, propileno glicol ou outros solventes sintéticos; agentes antibacterianos tais como álcool benzílico ou metil parabenos; antioxidantes tais como ácido ascórbico
10 ou bissulfeto de sódio; agentes quelantes tais como ácido etilenodiaminotetraacético; tampões tais como acetatos, citratos ou fosfatos e agentes para o ajuste da tonicidade tais como ácido clorídrico ou hidróxido de sódio. A preparação parenteral pode ser acondicionada em ampolas, seringas descartáveis ou frascos de doses múltiplas feitos de vidro ou plástico.
15

 Em geral, composições adequadas para uso injetável incluem soluções aquosas (quando solúveis em água) ou dispersões e pós para preparação extemporânea de soluções injetáveis estéreis ou dispersão. Para administração intravenosa, veículos adequados incluem salina fisiológica,
20 água bacteriostática, Cremophor ELTM (BASF, Parsippany, NJ) ou salina tamponada com fosfato (PBS). Ela deve ser estável sob as condições de produção e armazenamento e deve ser preservada contra a ação contaminante de microorganismos tais como bactérias e fungos. O veículo pode ser um solvente ou um meio de dispersão que contém, por exemplo, água, etanol, poliol (por exemplo, glicerol, propileno glicol e polietileno glicol líquido) e
25 misturas adequadas desses.

 As formulações farmacêuticas preferivelmente são estéreis, A esterilização pode ser obtida, por exemplo, por filtração através de membranas de filtração estéreis. Onde as composições são liofilizadas, a esterilização usando esse método pode ser conduzida antes ou após a liofilização e
30 reconstituição. Uma vez que a composição farmacêutica tenha sido formulada, ela pode ser armazenada, por exemplo, em frascos como uma solução,

suspensão, gel, emulsão, sólido ou como um pó desidratado ou liofilizado.

(2) Aplicações Diagnósticas

Sempre que as proteínas de ligação forem usadas com propósitos de diagnóstico, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, as proteínas de ligação são marcadas tanto diretamente quanto indiretamente com uma porção detectável. A porção detectável pode ser qualquer porção que é capaz de produzir, tanto diretamente quanto indiretamente, um sinal detectável. Por exemplo, a porção detectável pode ser um radioisótopo, tal como ³Hidrogênio (³H), ¹⁴Carbono (¹⁴C), ³²Fósforo (³²P), ³⁵Enxofre (³⁵S), ou ¹²⁵Iodo (¹²⁵I); um composto fluorescente ou quimioluminescente, tal como isotiocianato de fluoresceína, rodamina ou luciferina; uma enzima, tal como fosfatase alcalina, beta-galactosidase ou peroxidase de rábano silvestre; uma sonda paramagnética, tal como um marcador de spin; ou uma partícula colorida, por exemplo, uma partícula de látex ou ouro. É compreendido que a proteína de ligação pode ser conjugada com a porção detectável usando várias abordagens conhecidas na técnica, por exemplo, como descrito em Hunter *et al.* (1962) NATURE 144: 945; David *et al.* (1974) BIOCHEMISTRY 13: 1014; Pain *et al.* (1981) J. IMMUNOL. METH. 40: 219; and Nygren (1982) J. HISTOCHEM. AND CYTOCHEM. 30: 407. Os marcadores podem ser detectados, por exemplo, visualmente ou com a ajuda de um espectrofotômetro ou outro detector.

As proteínas de ligação podem ser empregadas em uma ampla faixa de técnicas de imunoensaio disponíveis na técnica. Imunoensaios exemplares incluem, por exemplo, imunoensaios sanduíche, imunoensaios competitivos e procedimentos imuno-histoquímicos.

Em um imunoensaio intercalado, dois anticorpos que se ligam a um analito ou antígeno de interesse são usados, por exemplo, um imobilizado sobre um suporte sólido e um livre em solução e marcado com uma porção detectável. Quando uma amostra que contém o antígeno é introduzida nesse sistema, o antígeno se liga ao anticorpo imobilizado e ao anticorpo marcado, para formar uma "intercalação" de complexo imune sobre a superfície do suporte. A proteína complexada é detectada pela lavagem dos componentes não ligados da amostra e do excesso de anticorpo marcado e pela

medida de anticorpo marcado complexado à proteína sobre a superfície do suporte. Alternativamente, o anticorpo livre em solução pode ser detectado por um terceiro anticorpo marcado com uma porção detectável que se liga ao anticorpo livre. Uma revisão detalhada do planejamento de ensaio imunológico, teoria e protocolos podem ser encontrados em vários textos, incluindo

5 Butt, ed., (1984) PRACTICAL IMMUNOLOGY, Marcel Dekker, New York; Harlow *et al.* eds. (1988) ANTIBODIES, A LABORATORY APPROACH, Cold Spring Harbor Laboratory; and Diamandis *et al.*, eds. (1996) IMMUNOASSAY, Academic Press, Boston.

10 É considerado que as proteínas de ligação marcadas são úteis como agentes de imagem *in vivo*, através do que as proteínas de ligação podem direcionar os agentes de imagem para os tecidos particulares de interesse do receptor. Uma porção remotamente detectável preferida para imagem *in vivo* inclui o átomo radioativo Tecnécio^{99m} (^{99m}Tc), um emissor gama

15 com uma meia-vida de cerca de seis horas. Porções não radioativas também úteis em imagem *in vivo* incluem marcadores de spin de nitróxido assim como lantanídeo e íons de metal de transição, todos os quais induzem atenuação de próton *in situ*. Além de imunotomografia, as porções radioativas complexadas podem ser usadas em protocolos padronizados de rádio-imunoterapia para destruir as células-alvo. Nucleotídeos preferidos para radioimunoterapia em altas doses incluem os átomos radioativos ⁹⁰Ítrio (⁹⁰Yt), ¹³¹Iodo (¹³¹I) e ¹¹¹Índio (¹¹¹In). A proteína de ligação pode ser marcada com ¹³¹I, ¹¹¹In e ^{99m}Tc usando técnicas de acoplamento conhecidas nas técnicas de imagem. Similarmente, procedimentos para preparar e administrar o agente de

20 imagem assim como capturar e processar imagens são bem conhecidas na técnica de imagem e, portanto não são discutidos em detalhes nesse. Similarmente, métodos para realizar imunoterapias baseadas em anticorpo são bem conhecidas na técnica. Veja, por exemplo, Patente U.S. Nº 5.543.254.

25 Ao longo de toda a descrição, onde as composições são descritas como tendo, incluindo ou compreendendo componentes específicos, é contemplado que as composições também consistem essencialmente, ou consistem nos componentes listados. Similarmente, onde os processos são

30

descritos como tendo, incluindo ou compreendendo etapas específicas do processo, os processos também consistem essencialmente ou consistem nas etapas de processamento listadas. Exceto onde indicado de outra maneira, a ordem das etapas ou ordem de realização de certas ações são irrelevantes com a condição de que a invenção permaneça operativa. Além disso, a menos que observado de outra maneira, duas ou mais etapas ou ações podem ser conduzidas simultaneamente.

EXEMPLOS

Os seguintes exemplos discutem a produção e caracterização e vários anticorpos monoclonais anti-hHGF.

Exemplo 1 – Produção de Anticorpos Monoclonais Anti-hHGF

Este Exemplo descreve a produção de vários anticorpos monoclonais anti-hHGF.

As imunizações, fusões e rastreamentos primários foram conduzidos em MBS Inc. (Portland, ME), após o protocolo de Múltiplos Locais de Imunização Repetitiva (Repetitive Immunization Multiple Sites (RIMMS)). Cinco camundongos AJ e cinco camundongos Balb/c foram imunizados com HGF humano recombinante (R&D Systems, Minneapolis, MN; Nº de catálogo 294-HGN-025). Dois camundongos com soros apresentando as maiores atividades anti-HGF por Ensaio Imunoabsorvente Ligado a Enzima (ELISA) foram escolhidos para fusão subsequente. Os baços e nodos linfáticos dos camundongos apropriados foram coletados. As células B foram então colhidas e fundidas com uma linhagem de mieloma. Os produtos de fusão foram diluídos seriadamente em uma ou mais placas até próximo da clonalidade. Os sobrenadantes das fusões resultantes foram examinados quanto a sua ligação a hHGF por ELISA. Os sobrenadantes identificados como contendo anticorpos para HGF foram caracterizados posteriormente por um teste funcional *in vitro* discutido nos exemplos seguintes. Um painel de hibridomas foi selecionado e os hibridomas foram subclonados e expandidos. Os anticorpos monoclonais foram então purificados por cromatografia de afinidade sobre resina de Proteína A/G sob condições usuais.

Exemplo 2 – Análise de Sequência de Anticorpos Monoclonais anti-hHGF

Este exemplo descreve as análises de isótipo e sequência dos anticorpos monoclonais anti-hHGF produzidos no Exemplo 1.

a. Determinação dos Isótipos dos Anticorpos Monoclonais Murinos de HGF

O tipo de cadeia leve e o isótipo de cadeia pesada de cada anti-
 5 corpo monoclonal foram determinados usando o kit IsoStrip Mouse Mono-
 clonal Antibody Isotyping de acordo com as instruções do fabricante (Roche
 Applied Science).

Foi determinado que todos os anticorpos continham uma cadeia
 leve capa de imunoglobulina e uma cadeia pesada de imunoglobulina de
 10 IgG1.

b. Determinação das Sequências de Nucleotídeo que Codificam as Regiões
 Variáveis de Cadeia Pesada e Leve

O RNA total foi extraído de cada linhagem celular de hibridoma
 monoclonal usando o kit RNeasy Miniprep de acordo com as instruções do
 15 fabricante (Qiagen Venlo, Holanda). A primeira fita de cDNA de extensão
 completa foi gerada usando o kit de amplificação de cDNA BD SMART®
 RACE de acordo com as instruções do fabricante (Clontech) usando os inici-
 adores de oligonucleotídeo BD SMART II A (5' aagcagtgggtatcaacgcagag-
 tacgcggg 3') (SEQ ID NO. 85) e o iniciador 5'-RACE CDS (5' tttttttttttttttt
 20 tttttvn 3', onde v = a, g, ou c e n = a, g, c, ou t) (SEQ ID NO. 86) com a fina-
 lidade de 5' RACE (Rápida Amplificação das Extremidades do cDNA).

As regiões variáveis das cadeias de imunoglobulina Pesada
 (IgG1) e Capa foram amplificadas por PCR (Reação em Cadeia da Polime-
 rase) usando o Sistema Expand High-Fidelity PCR System (Roche Applied
 25 Science) de acordo com as instruções do fabricante. As regiões variáveis de
 cadeia pesada foram amplificadas com a mistura de iniciadores de oligonu-
 cleotídeo 5' Universal Primer Mix A (mistura de 5' ctaatacgactcactatagggca
 agcagtgggtatcaacgcagagt 3' (SEQ ID NO. 87) e 5' ctaatacgactcactatagggc
 3'(SEQ ID NO. 88)) e um 3' iniciador específico para a região constante de
 30 IgG1, ou 5' tatgcaaggcttacaaccaca 3' (SEQ ID NO. 89) ou 5' gccagtggataga
 cagatgggggtgtcg 3' (SEQ ID NO. 90). As regiões variáveis de cadeia Capa
 foram amplificadas com a mistura de iniciador de oligonucleotídeo 5' Univer-

sal Primer Mix A e um iniciador específico para a Região Constante Capa 3', ou 5' ctcattcctgttgaagctcttgacaat 3' (SEQ ID NO. 91) ou 5' cgactgaggcacctc-cagatgtt 3' (SEQ ID NO. 92).

Os produtos de PCR individuais foram fracionados por eletrofo-
 5 rese em gel de agarose e purificados usando o kit Qiaquick Gel Purification de acordo com as instruções do fabricante (Qiagen). Os produtos de PCR foram subsequentemente clonados no plasmídeo pCR2.1 TOPO usando o kit de clonagem baseado em topoisomerase TOPO TA Cloning® Kit (com o vetor pCR®2.1-TOPO®) de acordo com as instruções do fabricante (Invitro-
 10 gen, Carlsbad, CA) e transformados em bactérias DH5 usando técnicas de transformação usuais. O DNA de plasmídeo isolado dos clones bacterianos transformados foi sequenciado usando os iniciadores de T7 (5' TAATACG ACTCACTATAGGG 3') (SEQ ID NO. 93), de M13 de sentido direto (5' GTA AAACGACGGCCAGT 3') (SEQ ID NO. 94), e de M13 de sentido reverso (5'
 15 CAGGAAACAGCTATGACC 3') (SEQ ID NO. 95) por Agencourt Bioscience usando métodos de sequenciamento de didesoxi DNA usuais para identificar a sequência das sequências da região variável. As sequências foram analisadas usando o programa Vector NTI (Invitrogen, Carlsbad, CA) e o servidor da internet IMGT/V-Quest (<http://imgt.cines.fr/textes/vquest>) para identificar e
 20 confirmar as sequências da região variável.

c. Determinação das sequências de nucleotídeo que codificam as sequên-
 cias da região constante da cadeia pesada e leve de imunoglobulina para as
 cadeias capa e de IgG1 de 1A3, 1D3, 1F3, e 2B8

cDNAs de extensão completa para as cadeias de IgG1 de 1A3,
 25 1D3, e 1F3 foram amplificados por PCR a partir do cDNA criado acima usando o seguinte iniciador de sentido direto 5' ggggacaagttgtacaaaaaag caggctgccaccatgaacttgggctcagattgatttcc 3' (códon de início sublinhado) (SEQ ID NO. 96) e o iniciador de sentido reverso 5' ggggaccacttgtacaagaa agctgggttcatttaccaggagagtgggagagg 3' (códon de parada sublinhado) (SEQ
 30 ID NO. 97). cDNA de extensão completa para a cadeia de IgG1 de 2B8 foi amplificada a partir do cDNA criado acima usando o seguinte iniciador de sentido direto 5' ggggacaagttgtacaaaaaagcaggctgccaccatgggatggagctatc

atcctcttt 3' (códon de início sublinhado) (SEQ ID NO. 98) e iniciador de sentido reverso 5' ggggaccactttgtacaagaaagctgggttcattaccaggagagtgaggagag 3' (códon de parada sublinhado) (SEQ ID NO. 99).

cDNA de extensão completa para a cadeia Capa de 2B8 foi amplificado usando o seguinte iniciador de sentido direto 5' ggggacaagttgtaca
 5 aaaaagcaggctgccaccatggaatcacagactctgttctcata 3' (códon de início sublinhado) (SEQ ID NO. 100) e o iniciador de sentido reverso 5' ggggaccactttgtacaagaaagctgggtctaacactcattcctgttgaagctc 3' (códon de parada sublinhado) (SEQ ID NO. 101). Os fragmentos de PCR foram subclonados em
 10 pDONR221 (Invitrogen, Carlsbad, CA) por reação de recombinação Gateway BP (Invitrogen, Carlsbad, CA) e sequenciados por Agencourt Bioscience usando métodos de sequenciamento de didesoxi DNA usuais para identificar a sequência da região constante e confirmar adicionalmente as sequências da região variável.

15 d. Análise de sequência

As regiões variáveis (texto normal) foram identificadas usando o servidor da internet IMGT/V-QUEST (<http://imgt.cines.fr/textes/vquest/>). As sequências de Peptídeo de Sinal foram previstas com base na identificação do códon de início *in frame* (ATG) que estava à montante da Região Variável
 20 identificada. As sequências de peptídeo de sinal foram identificadas e estão sublinhadas abaixo.

O último nucleotídeo de cada região variável é a primeira base do próximo códon gerado pela junção da região variável/constante. Este nucleotídeo está incluído na região variável porque ele é parte deste éxon. As
 25 sequências de aminoácido das regiões constantes listadas abaixo incluem a tradução deste códon de junção.

A fim de criar as sequências do anticorpo da cadeia pesada ou capa completas, as sequências da região variável observadas abaixo são combinadas com suas respectivas sequências da região constante (as sequências de sinal estão sublinhadas).
 30

(1) Região Variável da Cadeia Pesada de 1A3 (SEQ ID NO. 1)

1 atgaactttg ggctcagatt gattttcctt gtccttggtt taaaagggtg gaagtgtgaa

61 gtgcagctgg tggagtctgg gggaggetta gtgcagcctg gaggggtccct gaaactctcc
 121 tgtgcagcct ctgaattcac tttcagtaac tattacatgt cttgggttcg ccagactcca
 181 gagaagaggc tgcagtgggt cgcatacatt agtcctggtg gtggtagctc ctactatcca
 241 gccagtgtga agggctgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg
 5 301 caaatgagca gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acaaggggat
 361 ggttactacg gggactatgc tatggactac tggggtaag gaacctcagt caccgtctcc
 421 tcag

(2) Região Variável da Cadeia Leve Capa de 1A3 (SEQ ID NO. 3)

1 atgagtgtgc ccactcaggt cctgggggtg ctgctgctgt ggcttacaga tgccagatgt
 10 61 gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgttt ctgtgggaga aactgtcacc
 121 atcacatgtc gagcaagtga gaatatztat agtaatttag catggtatca gcagaaacag
 181 ggaaaatctc ctcagctcct ggtctatgct gcaacaaact tagcagatgg tgtgccatca
 241 aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag ttttcctca agatcaacag cctgcagtct
 301 gaagattttg ggacttatta ctgtcaacat ttttggggta ctccgtacac gttcggaggg
 15 361 gggaccaagc tggaaataaa ac

(3) Região Variável da Cadeia Pesada de 2B8 (SEQ ID NO. 11)

1 atgggatgga gctatatcat cctctttttg gtagcaacag ctacagatgt ccactcccag
 61 gtccaactgc agcagcctgg ggctgaactg gtgaagcctg ggacttcagt gaagctgtcc
 121 tgcaaggctt ctggctacac ctccaccacc tactggatgc actgggtgaa tcagaggcct
 20 181 ggacaaggcc ttgagtggat tggagagatt aatcctacca acggtcatac taactacaat
 241 gagaagttca agagcaaggc cactctgact gtagacaaat cctccagcac agcctacatg
 301 caactcagca gcctgacatc tgaggactct gcggtctatt actgtgcaag aaactatggt
 361 ggtagcatct ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtctcctc ag

(4) Região Variável da Cadeia Leve Capa de 2B8 (SEQ ID NO. 13)

25 1 atggaatcac agactctggt cttcatatcc atactgctct ggttatatgg tgctgatggg
 61 aacattgtaa tgaccaatc tcccaaatcc atgtccatgt cagtaggaga gagggtcacc
 121 ttgagctgca aggccagtga gaatgtgggt tcttatgtat cctgggtatca acagaaacca
 181 gcgcagtctc ctaaaactgct gatatacggg gcatccaacc ggaacactgg ggtccccgat
 241 cgcttcacag gcagtggatc tgcaacagat ttcactctga ccatcagcag tgtgcgggct
 30 301 gaagaccttg cagattatca ctgtgggcag agttacaact atccgtacac gttcggaggg
 361 gggaccaggc tggaaataaa ac

(5) Região Variável da Cadeia Pesada de 2F8 (SEQ ID NO. 21)

1 atggaatgga gctgggtctt tctcttctc ctgtcagtaa ctgcaggtgt ccactgccag
61 gtccagctga agcagtctgg agctgagctg gtgaggcctg ggacttcagt gaagatgtcc
121 tgcaaggctt ctggctacac cttcactacc tactatatac actgggtgaa tcagaggcct
181 ggacagggcc ttgagtggat tggaaagatt ggtcctggaa gtggtagtac ttactacaat
5 241 gagatgttca aagacaaggc cacattgact gtagacacat cctccagcac agcctacatg
301 cagctcagca gcctgacatc tgacgactct gcggtctatt tctgtgcaag aaggggactg
361 ggacgtggct ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtctctc ag

(6) Região Variável da Cadeia Leve Capa de 2F8 (SEQ ID NO. 23)

1 atggagacag acacaatcct gctatgggtg ctgctgctct gggttccagg ctccactggg
10 61 gacattgtgc tgaccaatc tccagcttct ttggctgtgt ctctagggca gagggccacc
121 atctcctgca aggccagcca aagtgttgat tatgatggta atagttatat caactggtac
181 caacagaaac caggacagcc acccaaagtc ctcatctatg ttgcatccaa tctagaatct
241 gggatcccag ccagggttag tggcagtggt tctgggacag acttcacct caacatccat
301 cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcagc aaagtattga ggatcctccc
15 361 acgttcgggtg ctgggaccaa gctggagctg aaac

(7) Região Variável da Cadeia Pesada de 3B6 (SEQ ID NO. 31)

1 atggaatggc cttgtatctt tctcttctc ctgtcagtaa ctgaaggtgt ccactcccag
61 gttcagctgc agcagtctgg ggctgaactg gtgaggcctg ggtcctcagt gaagatttcc
121 tgcaaggctt ctggctatgt attcagtagc tactggatga actgggtgaa gcagaggcct
20 181 ggacagggtc ttgagtggat tggacagatt tatcctggag atggtgatag taactacaat
241 ggaaacttca agggtaaagc cacactgact gcagacaaat cctccagtag agcctacatg
301 cagctcagca gcctaacatc tgaggactct gcggtctatt tctgtgcac ccagctcggg
361 ctacgtgaga actactttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctcag

(8) Região Variável da Cadeia Leve Capa de 3B6 (2 possíveis códons de início ATG (letras maiúsculas)) (SEQ ID NO. 33)

1 ATGgacATGa ggaccctgc tcagtttctt ggaatcttgt tgctctgggt tccagggtatc
61 aaatgtgaca tcaagatgac ccagtctcca tcttccatgt atgcattctt aggagagaga
121 gtcacaatca cttgcaaggc gagtcaggac attaaaagct atttaagctg gttccagcag
181 aaaccagggg aatctcctaa gaccctgac tatcgtgtaa acagattggt agatggggtc
30 241 ccatcaaggt tcagtggcag tggatctggg caagattctt ctctcaccat caccagcctg
301 gagaatgaag atatgggaat ttattattgt ctacagtatg atgagtttcc gttcacgttc
361 ggagggggga ccaagctgga aataaagc

(9) 3D11 Região Variável da Cadeia Pesada (SEQ ID NO. 41)

1 atggctgtcc cgggtgctgtt cctctgcctg gttgcatttc caagctgtgt cctgtcccag
61 gtacagctga aggagtcagg acctggcctg gtggcgccct cacagagcct gtccatcact
121 tgcactgtct ctgggttttc attaacccagc tatagtttac actgggttcg ccagcctcca
5 181 ggaaagggtc tggaatggct gggagtaata tgggctgggtg gaaacacaaa ttataattcg
241 tctctcatgt ccagactgac catcaggaaa gacaactcca agagccaagt tttcttaaaa
301 atgaacagtc tgcaaactga tgacacagcc atgtactact gtgccagaga gaggtttgct
361 tactggggcc aagggaactct ggtcactgtc tctgcag

10 (10) Região Variável da Cadeia Leve Capa de 3D11 (SEQ ID NO. 43)

1 atggattttc aagtgcagat tttcagcttc ctgctaataca gtgcctcagt caaaatatcc
61 agaggacaaa ttgttctcac ccagctctcca gcaatcatgt ctgcatatcc aggggagaag
121 gtcaccatga cctgcagtgc cagctcaagt gtaagttaca tgcactggta ccagcagaag
181 tcaggcacct cccccaaaag atggatttat gacacatcca aactggcttc tggagtccct
15 241 gctcgcttca gtggcagtgg gtctgggacc tcttactccc tcacaatcag tagtatggag
301 gctgaagatg ctgccactta ttactgccag cagtggagta gtaaccact cactgtcggg
361 gctgggacca agctggagct gaaac

(11) Região Variável da Cadeia Pesada de 1D3 (SEQ ID NO. 51)

1 atgaactttg ggctcagatt gattttcctt gtccttgttt taaaagggtgt gaagtgtgaa
20 61 gtgcagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcctg gagggtcctt gaaactctcc
121 tgtgcagcct ctggattcac tttcagtgc tattacatgt cttgggttcg ccagactcca
181 gagaagaggc tggagtgggt cgcatacatt agtagtgggtg gtggtagcac ctactatcca
241 gacagtgtga agggtcgatt caccatctcc cgagacaatg ccaagaacac cctgtacctg
301 caaatgagca gtctgaagtc tgaggacaca gccatatatt actgtgtgag acaaggggat
25 361 ggttattacg gggactatgc tatggactac tggggtaag gaacctcagt catcgtctcc
421 tcag

53) (12) Região Variável da Cadeia Leve Capa de 1D3 (SEQ ID NO.

1 atgagtgtgc ccactcaggt cctgggggttg ctgctgctgt ggcttacaga tgtcagatgt
30 61 gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgtat ctgtgggaga aactgtcacc
121 atcacatgtc gaacaagtga gaatatttac agtaatttag cgtgggtatca gcagaaacag
181 ggaaaatctc ctcagctcct aatctatgct gcaacaaact tagcagatgg tgtgccatca

241 aggttcagtg gcagtgatc aggcacacag ttttccctca ggatcaacag cctgcagtct
 301 gaagattttg ggaggtatta ctgtcaacat ttttggggga ctccgtacac gttcggaggg
 361 gggaccaaac tggaaataaa ac

(13) Região Variável da Cadeia Pesada de 1F3 (SEQ ID NO. 61)

5 1 atgaactttg ggctcagatt gattttcctt gtccttggtt taaaagggtg gaagtgtgag
 61 gtgcagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagctg gagggtcct gaaactctcc
 121 tgtgcggcct ctggattcac tttcagtaac tatttcatgt cttgggttcg ccagactcca
 181 gagaagaggc tggagtgggt cgcataatatt agtagtggtg gtggtagcac ctactatcca
 241 gacagtgtga agggtcgatt caccatctct agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg
 10 301 caaatgagca gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgtaag acaaggggat
 361 ggttactacg gggactatgc tatggactac tggggtaag gaacctcagt caccgtctcc
 421 tcag

(14) Região Variável da Cadeia Leve Capa de 1F3 (SEQ ID NO.

63)

15 1 atgagtgtgc ccactcaggt cctgggggtg ctgctgctgt ggcttacaga tgccagatgt
 61 gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgtat ctgtgggaga aactgtcacc
 121 atcacatgtc gagcaagtga gaatatttac agtaatttag catgggtatca gcagaaacag
 181 ggaaaatctc ctacagctct ggtctatgat gcaacacact taccagatgg tgtgccatca
 241 aggttcagtg gcagtgatc aggcacacag ttttccctca agatcaacag cctgcagtct
 20 301 gaagattttg ggaggtatta ctgtcaacat ttttggggta ctccgtacac gtttggaggg
 361 gggaccagac tggaaattaa ac

(15) Região Variável da Cadeia Pesada de 3A12 (SEQ ID NO.

71)

1 atgaactttg ggctcagatt gattttcctt gtccttggtt taaaagggtg gaagtgtgaa
 25 61 gtgcagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcctg gagggtcct gaaaatctcc
 121 tgtgcagcct ctggatttac tttcagtaac tatttcatgt cttgggttcg ccagactcca
 181 gagaagaggc tggagtgggt cgcatacatt agtagtggtg gtggtagcac ctactatcca
 241 gacagtgtga agggtcgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg
 301 caaatgaaca gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgtaag acaaggagat
 30 361 ggttactatg gggactatgc tatggactac tggggtaag gaacctcagt caccgtctcc
 421 tcag

(16) Região Variável da Cadeia Leve Capa de 3A12 (SEQ ID

NO. 73)

1 atgagtggtgc ccactcaggt cctgggggttg ctgctgctgt ggcttacaga tgccagatgt
 61 gacatccaga tgactcagtc gccagcctcc ctatctgtat ctgtgggaga aactgtcacc
 121 atcacatgtc gagcaagtga gaatatctac attaatctag catggtatca gcagaaacag
 5 181 ggaaaaatctc ctcagctcct ggtccatgct gcaacaaagt tagcagatgg tgtgccatca
 241 aggttcagtg gcagtgatc aggcacacag tattccctca agatcaacag cctgcagtct
 301 gaagattttg ggagttatta ctgtcaacat ttttggggta ctccgtacac gttcggaggg
 361 gggaccaaac tagaaataaa ac

(17) Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 de Camun-

10 dongo de Referência (J00453) (SEQ ID NO. 81)

1 ccaaaacgac acccccatct gtctatccac tggcccctgg atctgctgcc caaactaact
 61 ccatggtgac cctgggatgc ctggtcaagg gctatttccc tgagccagtg acagtgcacct
 121 ggaactctgg atccctgtcc agcgggtgtc acaccttccc agctgtcctg gactctgacc
 181 tctacactct gagcagctca gtgactgtcc cctccagccc tcggcccagc gagaccgtca
 15 241 cctgcaacgt tgcccacccg gccagcagca ccaaggtgga caagaaaatt gtgcccaggg
 301 attgtgggtt taagccttgc atatgtacag tcccagaagt atcatctgtc ttcattcttc
 361 ccccaaagcc caaggatgtg ctcaccatta ctctgactcc taaggtcacg tgtgttggtg
 421 tagacatcag caaggatgat cccgaggtcc agttcagctg gttttagat gatgtggagg
 481 tgcacacagc tcagacgcaa ccccgaggag agcagttcaa cagcactttc cgctcagtca
 20 541 gtgaacttcc catcatgcac caggactggc tcaatggcaa ggagttcaaa tgcagggtca
 601 acagtgcagc tttccctgcc cccatcgaga aaacctctc caaaaccaa ggagaccga
 661 aggctccaca ggtgtacacc attccacctc ccaaggagca gatggccaag gataaagtca
 721 gtctgacctg catgataaca gacttcttcc ctgaagacat tactgtggag tggcagtgga
 781 atgggcagcc agcggagaac tacaagaaca ctcagcccat catgaacacg aatggctctt
 25 841 acttcgtcta cagcaagctc aatgtgcaga agagcaactg ggaggcagga aatactttca
 901 cctgctctgt gttacatgag ggctgcaca accaccatac tgagaagagc ctctcccact
 961 ctctggtaa atga

(18) Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 de Camun-
dongo Determinada para 1A3, 1D3, 1F3, e 2B8 (derivada de camundongo da

30 cepa AJ) (SEQ ID NO. 82)

1 ccaaaacgac acccccatct gtctatccac tggcccctgg atctgctgcc caaactaact
 61 ccatggtgac cctgggatgc ctggtcaagg gctatttccc tgagccagtg acagtgcacct

121 ggaactctgg atccctgtcc agcgggtgtgc acaccttccc agctgtcctg cagtctgacc
 181 tctacactct gagcagctca gtgactgtcc cctccagcac ctggcccagc gagaccgtca
 241 cctgcaacgt tgcccaccg gccagcagca ccaaggtgga caagaaaatt gtgcccaggg
 301 attgtggttg taagccttgc atatgtacag tcccagaagt atcatctgtc ttcattcttc
 5 361 ccccaaagcc caaggatgtg ctcaccatta ctctgactcc taaggtcacg tgtgttgtgg
 421 tagacatcag caaggatgat ccgaggtcc agttcagctg gttttagat gatgtggagg
 481 tgcacacagc tcagacgcaa ccccgaggagg agcagttcaa cagcactttc cgctcagta
 541 gtgaacttcc catcatgcac caggactggc tcaatggcaa ggagttaaaa tgcaggggtca
 601 acagtgcagc tttccctgcc cccatcgaga aaaccatctc caaaacaaa ggcagaccga
 10 661 aggtccaca ggtgtacacc attccacctc ccaaggagca gatggccaag gataaagta
 721 gtctgacctg catgataaca gactttctcc ctgaagacat tactgtggag tggcagtgga
 781 atgggcagcc agcggagaac tacaagaaca ctgagcccat catggacaca gatggctctt
 841 acttctgcta cagcaagctc aatgtgcaga agagcaactg ggaggcagga aatactttca
 901 cctgctctgt gttacatgag ggctgcaca accaccatac tgagaagagc ctctccact
 15 961 ctcttggtaa atga

(19) Região Constante da Cadeia Leve Capa de Camundongo
de Referência (V00807) e Região Constante da Cadeia Leve Capa de Ca-
mundongo Determinada para 1D3, 1F3, e 2B8 (derivada de camundongo da
cepa AJ) (SEQ ID NO. 83)

20 1 gggctgatgc tgcaccaact gtatccatct tcccaccatc cagtgagcag ttaacatctg
 61 gaggtgcctc agtcgtgtgc ttcttgaaca acttctaccc caaagacatc aatgtcaagt
 121 ggaagattga tggcagtga cgacaaaatg gcgtcctgaa cagttggact gatcaggaca
 181 gcaaagacag cacctacagc atgagcagca cctcacgtt gaccaaggac gagtatgaac
 241 gacataacag ctatacctgt gaggccactc acaagacatc aacttcaccc attgtcaaga
 25 301 gcttcaacag gaatgagtgt tag

(20) Região Constante da Cadeia Leve Capa de Camundongo
Determinada para 1A3 contendo um nucleotídeo alterado em comparação
com 1D3, 1F3, e 2B8 (sublinhados) (SEQ ID NO. 84)

30 1 gggctgatgc tgcaccaact gtatccatct tcccaccatc cagtgagcag ttaacatctg
 61 gaggtgcctc agtcgtgtgc ttcttgaaca acttctaccc caaagacatc aatgtcaagt
 121 ggaagattga tggcagtga cgacaaaatg gcgtcctgaa cagttggact gatcaggaca
 181 gcaaagacag cacctacagc atgagcagca cctcatggt gaccaaggac gagtatgaac

241 gacataacag ctatacctgt gaggccactc acaagacatc aacttcaccc attgtcaaga
 301 gcttcaacag gaatgagtgt tag

Cada uma das sequências de aminoácido que define as regiões variáveis da cadeia pesada de imunoglobulina para os anticorpos produzidos no Exemplo 1 é descrita na Figura 2. Cada uma das sequências é alinhada com as outras e as sequências que definem o peptídeo de sinal, CDR₁, CDR₂ e CDR₃ são identificadas por quadrados. A Figura 3 mostra um alinhamento das sequências de CDR₁, CDR₂ e CDR₃ separadas para cada um dos anticorpos.

Cada uma das sequências de aminoácido que define as regiões variáveis da cadeia leve de imunoglobulina para cada um dos anticorpos produzidos no Exemplo 1 é descrita na Figura 4. Cada uma das sequências é alinhada com as outras e as sequências que definem o peptídeo de sinal, CDR₁, CDR₂ e CDR₃ são identificadas por quadrados. A Figura 5 mostra um alinhamento das sequências de CDR₁, CDR₂ e CDR₃ separadas para cada um dos anticorpos.

Por conveniência, a Tabela 1 fornece um quadro de concordância que mostra a correspondência entre as sequências de anticorpo discutidas neste Exemplo com aquelas apresentadas na Listagem de Sequência.

TABELA 1

SEQ. ID NO.	Proteína ou Ácido Nucléico
1	Região Variável da Cadeia Pesada de 1A3 – ácido nucléico
2	Região Variável da Cadeia Pesada de 1A3 – proteína
3	Região Variável da Cadeia Leve (capa) de 1A3 – ácido nucléico
4	Região Variável da Cadeia Leve (capa) de 1A3 – proteína
5	CDR ₁ da Cadeia Pesada de 1A3
6	CDR ₂ da Cadeia Pesada de 1A3
7	CDR ₃ da Cadeia Pesada de 1A3
8	CDR ₁ da Cadeia Leve (capa) de 1A3
9	CDR ₂ da Cadeia Leve (capa) de 1A3
10	CDR ₃ da Cadeia Leve (capa) de 1A3
11	Região Variável da Cadeia Pesada de 2B8 – ácido nucléico
12	Região Variável da Cadeia Pesada de 2B8 – proteína
13	Região Variável da Cadeia Leve (capa) de 2B8 – ácido nucléico
14	Região Variável da Cadeia Leve (capa) de 2B8 – proteína
15	CDR ₁ da Cadeia Pesada de 2B8
16	CDR ₂ da Cadeia Pesada de 2B8
17	CDR ₃ da Cadeia Pesada de 2B8
18	CDR ₁ da Cadeia Leve (capa) de 2B8

SEQ. ID NO.	Proteína ou Ácido Nucléico
19	CDR ₂ da Cadeia Leve (capa) de 2B8
20	CDR ₃ da Cadeia Leve (capa) de 2B8
21	Região Variável da Cadeia Pesada de 2F8 – ácido nucléico
22	Região Variável da Cadeia Pesada de 2F8 – proteína
23	Região Variável da Cadeia Leve (capa) de 2F8 – ácido nucléico
24	Região Variável da Cadeia Leve (capa) de 2F8 – proteína
25	CDR ₁ da Cadeia Pesada de 2F8
26	CDR ₂ da Cadeia Pesada de 2F8
27	CDR ₃ da Cadeia Pesada de 2F8
28	CDR ₁ da Cadeia Leve (capa) de 2F8
29	CDR ₂ da Cadeia Leve (capa) de 2F8
30	CDR ₃ da Cadeia Leve (capa) de 2F8
31	Região Variável da Cadeia Pesada de 3B6 – ácido nucléico
32	Região Variável da Cadeia Pesada de 3B6 – proteína
33	Região Variável da Cadeia Leve (capa) de 3B6 – ácido nucléico
34	Região Variável da Cadeia Leve (capa) de 3B6 – proteína
35	CDR ₁ da Cadeia Pesada de 3B6
36	CDR ₂ da Cadeia Pesada de 3B6
37	CDR ₃ da Cadeia Pesada de 3B6
38	CDR ₁ da Cadeia Leve (capa) de 3B6
39	CDR ₂ da Cadeia Leve (capa) de 3B6
40	CDR ₃ da Cadeia Leve (capa) de 3B6
41	Região Variável da Cadeia Pesada de 3D11 – ácido nucléico
42	Região Variável da Cadeia Pesada de 3D11 – proteína
43	Região Variável da Cadeia Leve (capa) de 3D11 – ácido nucléico
44	Região Variável da Cadeia Leve (capa) de 3D11 – proteína
45	CDR ₁ da Cadeia Pesada de 3D11
46	CDR ₂ da Cadeia Pesada de 3D11
47	CDR ₃ da Cadeia Pesada de 3D11
48	CDR ₁ da Cadeia Leve (capa) de 3D11
49	CDR ₂ da Cadeia Leve (capa) de 3D11
50	CDR ₃ da Cadeia Leve (capa) de 3D11
51	Região Variável da Cadeia Pesada de 1D3 – ácido nucléico
52	Região Variável da Cadeia Pesada de 1D3 – proteína
53	Região Variável da Cadeia Leve (capa) de 1D3 – ácido nucléico
54	Região Variável da Cadeia Leve (capa) de 1D3 – proteína
55	CDR ₁ da Cadeia Pesada de 1D3
56	CDR ₂ da Cadeia Pesada de 1D3
57	CDR ₃ da Cadeia Pesada de 1D3
58	CDR ₁ da Cadeia Leve (capa) de 1D3
59	CDR ₂ da Cadeia Leve (capa) de 1D3
60	CDR ₃ da Cadeia Leve (capa) de 1D3
61	Região Variável da Cadeia Pesada de 1F3 – ácido nucléico
62	Região Variável da Cadeia Pesada de 1F3 – proteína
63	Região Variável da Cadeia Leve (capa) de 1F3 – ácido nucléico
64	Região Variável da Cadeia Leve (capa) de 1F3 – proteína
65	CDR ₁ da Cadeia Pesada de 1F3
66	CDR ₂ da Cadeia Pesada de 1F3
67	CDR ₃ da Cadeia Pesada de 1F3

SEQ. ID NO.	Proteína ou Ácido Nucléico
68	CDR ₁ da Cadeia Leve (capa) de 1F3
69	CDR ₂ da Cadeia Leve (capa) de 1F3
70	CDR ₃ da Cadeia Leve (capa) de 1F3
71	Região Variável da Cadeia Pesada de 3A12 – ácido nucléico
72	Região Variável da Cadeia Pesada de 3A12 – proteína
73	Região Variável da Cadeia Leve (capa) de 3A12 – ácido nucléico
74	Região Variável da Cadeia Leve (capa) de 3A12 – proteína
75	CDR ₁ da Cadeia Pesada de 3A12
76	CDR ₂ da Cadeia Pesada de 3A12
77	CDR ₃ da Cadeia Pesada de 3A12
78	CDR ₁ da Cadeia Leve (capa) de 3A12
79	CDR ₂ da Cadeia Leve (capa) de 3A12
80	CDR ₃ da Cadeia Leve (capa) de 3A12

Também, por conveniência, as seguintes sequências representam as sequências de cadeia pesada e leve de extensão completa reais ou contempladas (isto é, contendo ambas as sequências da região variável e constante) para cada um dos anticorpos descritos neste Exemplo. Observa-se que as regiões constantes dos anticorpos murinos 2F8, 3A12, 3B6, e 3D11 não foram sequenciadas, mas supõe-se que tenham as mesmas sequências de região constante que os anticorpos 1D3, 1F3, e 2B8, os quais foram sequenciados, já que eles todos foram derivados do camundongo da cepa AJ. É observado, entretanto, que as sequências da região variável descritas aqui podem ser ligadas a cada uma de várias sequências de região constante conhecidas daqueles versados na técnica para produzir cadeias pesadas e leves ativas de imunoglobulina de extensão completa.

(1) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Sequência da Cadeia Pesada de Extensão Completa de 1A3 (Região Variável da Cadeia Pesada de 1A3 e Região Constante de IgG1) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 122)

```

1  atgaactttg ggctcagatt gattttcctt gtccttggtt taaaagggtg gaagtgtgaa
61  gtgcagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcctg gagggtcctt gaaactctcc
121 tgtgcagcct ctgaattcac ttccagtaac tattacatgt cttggggttcg ccagactcca
181 gagaagaggc tgcagtgggt cgcatacatt agtcctgggt gtggtagctc ctactatcca
241 gccagtgtga aggggtcgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg
301 caaatgagca gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acaaggggat
361 gggttactacg gggactatgc tatggactac tggggtaag gaacctcagt caccgtctcc

```

421 tcagccaaaa cgacaccccc atctgtctat ccactggccc ctggatctgc tgcccaaact
 481 aactccatgg tgaccctggg atgcctgggc aagggctatt tccctgagcc agtgacagtg
 541 acctggaact ctggatccct gtccagcggg gtgcacacct tcccagctgt cctgcagtct
 601 gacctctaca ctctgagcag ctcaagtact gtccctcca gcacctggcc cagcgagacc
 5 661 gtcacctgca acgttgccca cccggccagc agcaccaagg tggacaagaa aattgtgccc
 721 agggattgtg gttgtaagcc ttgcatatgt acagtcccag aagtatcatc tgtcttcac
 781 ttcccccaa agcccaagga tgtgtccacc attactctga ctctaaggt cactgtgttt
 841 gtggtagaca tcagcaagga tgatcccgag gtccagttca gctggtttgt agatgatgtg
 901 gaggtgcaca cagctcagac gcaaccccgg gaggagcagt tcaacagcac tttccgctca
 10 961 gtcagtgaac ttcccatcat gcaccaggac tggctcaatg gcaaggagtt caaatgcagg
 1021 gtcaacagtg cagctttccc tgcccccatc gagaaaacca tctccaaaac caaaggcaga
 1081 ccgaaggctc cacaggtgta caccattcca cctccaagg agcagatggc caaggataaa
 1141 gtcagtctga cctgcatgat aacagacttc ttccctgaag acattactgt ggagtggcag
 1201 tggaatgggc agccagcgga gaactacaag aacactcagc ccatcatgga cacagatggc
 15 1261 tcttacttcg tctacagcaa gctcaatgtg cagaagagca actgggagc aggaataact
 1321 ttcacctgct ctgtgttaca tgagggcctg cacaaccacc atactgagaa gagcctctcc
 1381 cactctctg gtaaatga

(2) Sequência de Proteína que Define a Sequência da Cadeia
 Pesada de Extensão Completa de 1A3 (Região Variável da Cadeia Pesada
 20 de 1A3 e Região Constante de IgG1) (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO.
 123)

1 evqlvesggg lvqpggslkl scaaseftfs nyymwvrrt pekrlqwvay ispgggssyy
 61 pasvkgrfti srdnakntly lqmsslkscd tamyycarqg dgyygyamd ywgqgtsvtv
 121 ssaktttpsv yplapgsaaq tnsmtlglc vkgyfpepvt vtwnsgslss gvhtfpavlq
 25 181 sdlytlsssv tvpsstwpse tvtcnvahpa sstkvdkkiv prdcgckpci ctvpevssvf
 241 ifppkpkdvl titltpkvtc vvdiskddp evqfswfvdd vevhtaqtqp reeqfnstfr
 301 svselpmhq dwnlqkefk rvnsaafpap iektisktkg rpkapqvyti pppkeqmakd
 361 kvsiltcmtd ffpeditvew qwnqgpaeny kntqpimtd gsyfvyskln vqksnweagn
 421 tftcslheg lnhhteksl shspgk

30 (3) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Sequência da
 Cadeia Leve de Extensão Completa de 1A3 (Região Variável Capa e Região
 Constante de 1A3) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 124)

1 atgagtgtgc cactcaggt cctggggttg ctgctgctgt ggcttacaga tgccagatgt
 61 gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgttt ctgtgggaga aactgtcacc
 121 atcacatgtc gagcaagtga gaatatttat agtaatttag catggatatca gcagaaacag
 181 ggaaaatctc ctcagctcct ggtctatgct gcaacaaact tagcagatgg tgtgccatca
 5 241 aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag ttttcctca agatcaacag cctgcagtct
 301 gaagattttg ggacttatta ctgtcaacat ttttgggta ctccgtacac gttcggaggg
 361 gggaccaagc tggaaataaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca
 421 tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac
 481 cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg
 10 541 aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcatg
 601 ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca
 661 tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gttag

(4) Sequência de Proteína que Define a Sequência da Cadeia
Leve de Extensão Completa de 1A3 (Região Variável Capa e Região Cons-
 15 tante) (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 125)

1 diqmtqspas lsvsvgetvt itcraseny snlawyqqkq gkspqllvya atnldgvps
 61 rfsgsgsgtg fslkinslqs edfgtyycqh fwgtpytfgg gtleikrad aaptvsifpp
 121 sseqltsgga svvcflnnfy pkdinvkwki dgserqngvl nswtdqdskd stysmsstlm
 181 ltkdeyerhn sytceathkt stspivksfn rnec

20 (5) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Sequência da
Cadeia Pesada de Extensão Completa de 2B8 (Região Variável da Cadeia
Pesada e Região Constante de IgG1 de 2B8) (sequência de sinal sublinha-
da) (SEQ ID NO. 126)

1 atgggatgga gctatatcat cctcttttttg gtagcaacag ctacagatgt cactcccag
 25 61 gtccaactgc agcagcctgg ggctgaactg gtgaagcctg ggacttcagt gaagctgtcc
 121 tgcaaggctt ctggctacac cttcaccacc tactggatgc actgggtgaa tcagaggcct
 181 ggacaaggcc ttgagtggat tggagagatt aatcctacca acggtcatac taactacaat
 241 gagaagttca agagcaaggc cacactgact gtagacaaat cctccagcac agcctacatg
 301 caactcagca gcctgacatc tgaggactct gcggtctatt actgtgcaag aaactatgtt
 30 361 ggtagcatct ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtctctc agccaaaacg
 421 acacccccat ctgtctatcc actggccctt ggatctgctg cccaaactaa ctccatggtg
 481 accctgggat gcctgggtcaa gggctatttc cctgagccag tgacagtgc ctggaactct

541 ggatccctgt ccagcgggtgt gcacaccttc ccagctgtcc tgcagtctga cctctacact
 601 ctgagcagct cagtgactgt cccctccagc acctggccca gcgagaccgt cacctgcaac
 661 gttgcccacc cggccagcag caccaagggtg gacaagaaaa ttgtgccag ggattgtggt
 721 tgtaagcctt gcatatgtac agtcccagaa gtatcatctg tcttcatctt cccccaaag
 5 781 cccaaggatg tgctcaccat tactctgact cctaagggtca cgtgtgttgt ggtagacatc
 841 agcaaggatg atcccgaggt ccagttcagc tggttttag atgatgtgga ggtgcacaca
 901 gctcagacgc aaccccgga ggagcagttc aacagcactt tccgctcagt cagtgaactt
 961 cccatcatgc accaggactg gctcaatggc aaggagttca aatgcagggt caacagtgc
 1021 gctttccctg ccccatoga gaaaaccatc tccaaaacca aaggcagacc gaaggctcca
 10 1081 caggtgtaca ccattccacc tcccaaggag cagatggcca aggataaagt cagtctgacc
 1141 tgcataataa cagacttctt cctgaagac attactgtgg agtggcagtg gaatgggcag
 1201 ccagcggaga actacaagaa cactcagccc atcatggaca cagatggctc ttacttcgtc
 1261 tacagcaagc tcaatgtgca gaagagcaac tgggaggcag gaaatacttt cacctgctct
 1321 gtgttacatg agggcctgca caaccaccat actgagaaga gcctctccca ctctcctggt
 15 1381 aaatga

(6) Sequência de Proteína que Define a Sequência da Cadeia Pesada de Extensão Completa de 2B8 (Região Variável da Cadeia Pesada e Região Constante de IgG1 de 2B8) (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 127)

20 1 qvqlqqpgae lvkpgtsvkl sckasgytft tywmhwnqr pgqglewige inptnghtny
 61 nekfkskatl tvdkssstay mqlssltsed savvycarny vgsifdywgq gttltvssak
 121 ttpsvypla pgsaaqtnsm vtlgclvkgy fpepvtvtwn sgsllsgvht fpavqlsdly
 181 tlsssvtvpw stwpsetvtc nvahpasstk vdkkivprdc gckpcictvp evssvfifpp
 241 kpkdvltitl tpkvtcvvvd iskddpevqf swfvddvevh taqtqpreeq fnstfrsvse
 25 301 lpimhqdwln gkefkcrvns aafpapiekt isktkgrpka pqvytipppk eqmakdkvsl
 361 tcmtdffpe ditvewqwnq qpaenykntq pimtdgsyf vysklvqks nweagntftc
 421 svlheglhnh htekslshsp gk

(7) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Sequência da Cadeia Leve de Extensão Completa de 2B8 (Região Variável Capa e Região Constante de 2B8) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 128)

1 atggaatcac agactctggt cttcatatcc atactgctct ggttatatgg tgctgatggg

61 aacattgtaa tgaccaatc tcccaaatcc atgtccatgt cagtaggaga gagggtcacc
 121 ttgagctgca aggccagtga gaatgtggtt tttatgtat cctgggtatca acagaaacca
 181 gcgcagtctc ctaaactgct gatatacggg gcatccaacc ggaacactgg ggtccccgat
 241 cgcttcacag gcagtggatc tgcaacagat ttcactctga ccatcagcag tgtgcgggct
 5 301 gaagaccttg cagattatca ctgtgggcag agttacaact atccgtacac gttcggaggg
 361 gggaccaggc tggaaataaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca
 421 tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac
 481 cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg
 541 aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg
 10 601 ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca
 661 tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gttag

(8) Sequência de Proteína que Define a Sequência da Cadeia
Leve de Extensão Completa de 2B8 (Região Variável Capa e Região Cons-
tante de 2B8) (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 129)

15 1 nivmtqspks msmsvgervt lsckasenvv syvswyqgkp aqspklliyl asnrntgvpd
 61 rftgsgsatd ftltissvra edladyhcgq synpytfgg gtrleikrad aaptvsifpp
 121 sseqltsgga svvcflnnfy pkdinvkwki dgserqngvl nswtdqdskd stysmsstlt
 181 ltkdeyerhn sytceathkt stspivksfn rne

20 (9) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Sequência da
Cadeia Pesada de Extensão Completa de 2F8 (Região Variável da Cadeia
Pesada e Região Constante de IgG1 de 2F8) (sequência de sinal sublinha-
da) (SEQ ID NO. 130)

1 atggaatgga gctgggtctt tctcttctc ctgtcagtaa ctgcaggtgt ccactgccag
 61 gtccagctga agcagtctgg agctgagctg gtgaggcctg ggacttcagt gaagatgtcc
 25 121 tgcaaggctt ctggctacac cttcactacc tactatatac actgggtgaa tcagaggcct
 181 ggacagggcc ttgagtggat tggaaagatt ggtcctggaa gtggtagtac ttactacaat
 241 gagatgttca aagacaaggc cacattgact gtagacacat cctccagcac agcctacatg
 301 cagctcagca gcctgacatc tgacgactct gcggtctatt tctgtgcaag aaggggactg
 361 ggacgtggct ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtctctc agccaaaacg
 30 421 acacccccat ctgtctatcc actggccctt ggatctgctg cccaaactaa ctccatgggt
 481 accctgggat gcctgggtcaa gggctatttc cctgagccag tgacagtga cctggaactct
 541 ggatccctgt ccagcgggtg gcacaccttc ccagctgtcc tgcagtctga cctctacact

5

601 ctgagcagct cagtgactgt cccctccagc acctggccca gcgagaccgt cacctgcaac
 661 gttgcccacc cggccagcag caccaagggtg gacaagaaaa ttgtgcccag ggattgtggt
 721 tgtaagcctt gcatatgtac agtcccagaa gtatcatctg tcttcatctt cccccaaaag
 781 cccaaggatg tgctcaccat tactctgact cctaagggtca cgtgtgttgt ggtagacatc
 841 agcaaggatg atccccgaggt ccagttcagc tggttttag atgatgtgga ggtgcacaca
 901 gctcagacgc aaccccgga ggagcagttc aacagcactt tccgctcagt cagtgaactt
 961 cccatcatgc accaggactg gctcaatggc aaggagttca aatgcagggt caacagtgca
 1021 gctttccctg ccccatcga gaaaaccatc tccaaaacca aaggcagacc gaaggctcca
 1081 cagggtgtaca ccattccacc tccaaggag cagatggcca aggataaagt cagtctgacc
 1141 tgcataataa cagacttctt cctgaagac attactgtgg agtggcagtg gaatgggagc
 1201 ccagcggaga actacaagaa cactcagccc atcatggaca cagatggctc ttacttcgtc
 1261 tacagcaagc tcaatgtgca gaagagcaac tgggaggcag gaaatacttt cacctgctct
 1321 gtgttacatg agggcctgca caaccacat actgagaaga gcctctccca ctctctgggt
 1381 aaatga

10

15

(10) Sequência de Proteína que Define a Sequência da Cadeia Pesada de Extensão Completa de 2F8 (Região Variável da Cadeia Pesada e Região Constante de IgG1 de 2F8) (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 131)

20

1 qvqlkqsgae lvrpgtsvkm sckasgytft tyjihwvnr pgqglewigk igpgsgsty
 61 nemfkdkatl tvdtssstay mqlssltsdd savyfcarrg lgrgfdywq gttltvssak
 121 ttpsvypla pgsaaqtnsm vtlgclvkgf fpepvtvtn sgsllsgvht fpavlsdly
 181 tlsssvtvp stwpsetvtc nvahpasstk vdkkivprdc gckpcictvp evssvfifpp
 241 kpkdvltitl tpkvtevvvd iskddpevqf swfvddvevh taqtqpreeq fntfsvse
 301 lpimhqdwln gkefkcrvns aafpapiekt isktkgrpka pqvytipppk eqmakdkvsl
 361 tcmtdffpe ditvewqwnq qpaenykntq pimtdgsyf vysklvqks nweagntftc
 421 svlheglhnh htekslshsp gk

25

(11) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Sequência da Cadeia Leve de Extensão Completa de 2F8 (Região Variável Capa e Região Constante de 2F8) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 132)

30

1 atggagacag acacaatcct gctatgggtg ctgctgctct gggttccagg ctccactggt
 61 gacattgtgc tgaccaatc tccagcttct ttggctgtgt ctctagggca gagggccacc
 121 atctcctgca aggccagcca aagtgttgat tatgatggta atagttatat caactggtac

181 caacagaaac caggacagcc acccaaagtc ctcatctatg ttgcatccaa tctagaatct
 241 gggatcccag ccaggtttag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatccat
 301 cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcagc aaagtattga ggatcctccc
 361 acgttcggtg ctgggaccaa gctggagctg aaacgggctg atgtgcacc aactgtatcc
 421 atcttccac catccagtga gcagttaaca tctggaggtg cctcagtcgt gtgcttcttg
 481 aacaacttct accccaaaga catcaatgtc aagtgaaga ttgatggcag tgaacgacaa
 541 aatggcgctc tgaacagttg gactgatcag gacagcaaag acagcaccta cagcatgagc
 601 agcaccctca cgttgaccaa ggacgagtat gaacgacata acagctatac ctgtgaggcc
 661 actcacaaga catcaacttc acccattgtc aagagcttca acaggaatga gtgttag

10 (12) Sequência de Proteína que Define a Sequência da Cadeia Leve de Extensão Completa de 2F8 (Região Variável Capa e Região Constante de 2F8) (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 133)

1 divltqspas lavslgqrat isckasqsvd ydgnsyinwy qqkpgqppkv liyvasnles
 61 giparfsgsg sgtdfnlh pveeedaaty ycqqisiedpp tfgagtklel kradaaptvs
 121 ifppsseqlt sggasvvcfl nnfypkdiv kwkidgserq ngvlnswtdq dskdstysms
 181 stltltkdey erhnsytcea thktstspiv ksfnrnec

20 (13) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Sequência da Cadeia Pesada de Extensão Completa de 3B6 (Região Variável da Cadeia Pesada e Região Constante de IgG1 de 3B6) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 134)

1 atggaatggc cttgtatctt tctcttcctc ctgtcagtaa ctgaagggtg ccactcccag
 61 gttcagctgc agcagtcctg ggctgaactg gtgaggcctg ggtcctcagt gaagatttcc
 121 tgcaaggctt ctggctatgt attcagtagc tactggatga actgggtgaa gcagaggcct
 181 ggacagggtc ttgagtggat tggacagatt taccctggag atggtgatag taactacaat
 241 ggaaacttca agggtaaagc cacactgact gcagacaaat cctccagtac agcctacatg
 301 cagctcagca gcctaacatc tgaggactct gcggtctatt tctgtgcac ccagctcggg
 361 ctacgtgaga actactttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctcagcc
 421 aaaacgacac ccccatctgt ctatccactg gccctggat ctgctgccca aactaactcc
 481 atggtgacct tgggatgcct ggtcaagggc tatttcctg agccagtgc agtgacctgg
 541 aactctggat ccctgtccag cgggtgtcac accttcccag ctgtcctgca gtctgacctc
 601 tacactctga gcagctcagt gactgtcccc tccagcacct ggcccagcga gacogtcacc
 661 tgcaacggtg cccaccggc cagcagcacc aaggtggaca agaaaattgt gcccagggat

5

10

721 tgtggttgta agccttgcat atgtacagtc ccagaagtat catctgtctt catcttcccc
 781 ccaaagccca aggatgtgct caccattact ctgactccta aggtcacgtg tgttgtggta
 841 gacatcagca aggatgatcc cgaggtccag ttcagctggt ttgtagatga tgtggagggtg
 901 cacacagctc agacgcaacc cggggaggag cagttcaaca gcactttccg ctcagtcagtc
 961 gaacttccca tcatgcacca ggactggctc aatggcaagg agttcaaattg caggggtcaac
 1021 agtgcagctt tccctgcccc catcgagaaa accatctcca aaaccaaagg cagaccgaag
 1081 gctccacagg tgtacaccat tccacctccc aaggagcaga tggccaagga taaagtcagt
 1141 ctgacctgca tgataacaga cttcttccct gaagacatta ctgtggagtg gcagtggaat
 1201 gggcagccag cggagaacta caagaacact cagcccatca tggacacaga tggctcttac
 1261 ttcgtctaca gcaagctcaa tgtgcagaag agcaactggg aggcaggaaa tactttccac
 1321 tgctctgtgt tacatgaggg cctgcacaac caccatactg agaagagcct ctcccactct
 1381 cctggtaaat ga

15

(14) Sequência de Proteína que Define a Sequência da Cadeia Pesada de Extensão Completa de 3B6 (Região Variável da Cadeia Pesada e Região Constante de IgG1 de 3B6) (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 135)

20

1 qvqlqqsgae lvrpgssvki sckasgyvfs sywmnwvkqr pggglewigq iypgdgdsny
 61 ngnfkgkatl tadkssstay mqlssltted savyfcasql glrenyfdyw gggttltvss
 121 akttpsvyp lapgsaaqtn smvtlgclvk gyfpepvtvt wnsghlssgv htftpavlqsd
 181 lytlsssvtv psstwpsetv tcnvahpass tkvdkkivpr dcgckpcict vpevssvfif
 241 pppkpkdvlti tltpkvtecv vdiskddpev qfswfvddve vhtaqtqpre eqfnstfrsv
 301 selpimhqdw lngkefkcrv nsaaftpaple ktisktkgrp kapqvytipp pkeqmakdkv
 361 sltcmtdff peditvewq ngqpaenykn tqpimtdgs yfvysklnvq ksnweagntf
 421 tcsvlheglh nhhtekslsh spgk

25

(15) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Sequência da Cadeia Leve de Extensão Completa de 3B6 (Região Variável Capa e Região Constante de 3B6) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 136)

30

1 ATGgacATGa ggaccctgc tcagtttctt ggaatcttgt tgctctggtt tccaggtatc
 61 aaatgtgaca tcaagatgac ccagtctcca tcttccatgt atgcatctct aggagagaga
 121 gtcacaatca cttgcaaggc gagtcaggac attaaaagct atttaagctg gttccagcag
 181 aaaccaggga aatctcctaa gaccctgatc tatcgtgtaa acagattggt agatgggggtc
 241 ccatcaaggt tcagtggcag tggatctggg caagattctt ctctcaccat caccagcctg

301 gagaatgaag atatgggaat ttattattgt ctacagtatg atgagtttcc gttcacgttc
 361 ggagggggga ccaagctgga aataaagcgg gctgatgctg caccaactgt atccatcttc
 421 ccaccatcca gtgagcagtt aacatctgga ggtgcctcag tcgtgtgctt cttgaacaac
 481 ttctacccca aagacatcaa tgtcaagtgg aagattgatg gcagtgaacg acaaaatggc
 5 541 gtcctgaaca gttggactga tcaggacagc aaagacagca cctacagcat gagcagcacc
 601 ctacagttga ccaaggacga gtatgaacga cataacagct atacctgtga ggccactcac
 661 aagacatcaa cttcacccat tgtcaagagc ttcaacagga atgagtgtta g

(16) Sequência de Proteína que Define a Sequência da Cadeia Leve de Extensão Completa de 3B6 (Região Variável Capa e Região Constante de 3B6) (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 137)

1 dikmtqspss myaslgervt itckasqdik sylswfqqkp gkspktliyr vnrlvdgvps
 61 rfsgsgsggd ssltitslen edmgiiyclq ydefpftfgg gtkleikrad aaptvsifpp
 121 sseqltsgga svvcflnnfy pkdinvkwki dgserqngvl nswtdqdskd stysmsstlt
 181 ltkdeyerhn sytceathkt stspivksfn r nec

(17) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Sequência da Cadeia Pesada de Extensão Completa de 3D11 (Região Variável da Cadeia Pesada e Região Constante de IgG1 de 3D11) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 138)

1 atggctgtcc cggtgctgtt cctctgcctg gttgcatttc caagctgtgt cctgtcccag
 20 61 gtacagctga aggagtcagg acctggcctg gtggcgccct cacagagcct gtccatcact
 121 tgcactgtct ctgggttttc attaaaccagc tatagtttac actgggttcg ccagcctcca
 181 ggaaagggtc tggaatggct gggagtaata tgggctggtg gaaacacaaa ttataattcg
 241 tctctcatgt ccagactgac catcaggaaa gacaactcca agagccaagt tttcttaaaa
 301 atgaacagtc tgcaaactga tgacacagcc atgtactact gtgccagaga gaggtttgct
 25 361 tactggggcc aagggactct ggtcactgtc tctgcagcca aaacgacacc cccatctgtc
 421 tatccactgg ccctggatc tgctgcccaa actaactcca tggtagacct gggatgcctg
 481 gtcaagggtc atttcctga gccagtgaca gtgacctgga actctggatc cctgtccagc
 541 ggtgtgcaca ccttcccagc tgcctgcag tctgacctct aactctgag cagctcagtg
 601 actgtcccct ccagcacctg gccagcgag accgtcacct gcaacgttgc ccaccggcc
 30 661 agcagcacca aggtggacaa gaaaattgtg ccaggggatt gtggtgtgtaa gccttgcata
 721 tgtacagtcc cagaagtatc atctgtcttc atcttcccc caaagcccaa ggatgtgctc
 781 accattactc tgactcctaa ggtcacgtgt gttgtggtag acatcagcaa ggatgatccc

841 gaggtccagt tcagctgggt tgtagatgat gtggaggtgc acacagctca gacgcaaccc
 901 cgggaggagc agttcaacag cactttccgc tcagtcagtg aacttcccat catgcaccag
 961 gactggctca atggcaagga gttcaaagtc agggtaaca gtgcagcttt ccctgcccc
 1021 atcgagaaaa ccattctcaa aaccaaaggc agaccgaagg ctccacaggt gtacaccatt
 1081 ccacctccca aggagcagat ggccaaggat aaagtcagtc tgacctgcat gataacagac
 1141 ttcttccttg aagacattac tgtggagtgg cagtggatg ggcagccagc ggagaactac
 1201 aagaacactc agcccatcat ggacacagat ggctcttact tcgtctacag caagctcaat
 1261 gtgcagaaga gcaactggga ggcaggaaat actttcacct gctctgtgtt acatgagggc
 1321 ctgcacaacc accatactga gaagagcctc tccactctc ctggtaaatg a

5
 10 (18) Sequência de Proteína que Define a Sequência da Cadeia Pesada de Extensão Completa de 3D11 (Região Variável da Cadeia Pesada e Região Constante de IgG1 de 3D11) (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 139)

1 qvqlkesgpg lvapsqslsi tctvsgfslt syslhwvrqp pgkglewlgv iwaggntnyn
 15 61 sslmsrltir kdnsksqvfl kmnslqtddt amyycarerf aywgqgtlvt vsaaktttps
 121 vyplapgsaa qtnsmvtlgc lvkgyfpepv tvtwnsgsls sgvhtfpavl qsdlytlsss
 181 vtvpsstwps etvtcnvahp asstkvdkki vprdcgckpc ictvpevssv fifppkpkdv
 241 ltitltpkvt cvvvdiskdd pevqfswfvd dvehvtaqtg preeqfnstf rsvselpimh
 301 qdwlngkefk crvnsaafpa piektisktk grpkapqvyt ipppkeqmak dkvsiltcmi
 20 361 dffpeditve wqwnqpaen ykntqpimdt dgsyfvyskl nvqksnweag ntftcsvlhe
 421 glhnhhteks lshspgk

(19) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Sequência da Cadeia Leve de Extensão Completa de 3D11 (Região Variável Capa e Região Constante de 3D11) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 140)

25 1 atggattttc aagtgcagat tttcagcttc ctgctaata gtgcctcagt caaaatatcc
 61 agaggacaaa ttgttctcac ccagtctcca gcaatcatgt ctgcatatcc aggggagaag
 121 gtcacatga cctgcagtgc cagctcaagt gtaagttaca tgcaactgga ccagcagaag
 181 tcaggcacct cccccaaaag atggatttat gacacatcca aactggcttc tggagtcctt
 241 gctcgcttca gtggcagtgg gtctgggacc tcttactccc tcacaatcag tagtatggag
 30 301 gctgaagatg ctgccactta ttactgccag cagtggagta gtaaccact cacgttcggt
 361 gctgggacca agctggagct gaaacgggct gatgctgcac caactgtatc catcttccca
 421 ccatccagtg agcagttaac atctggaggt gcctcagtcg tgtgcttctt gaacaacttc

481 taccccaaag acatcaatgt caagtgggaag attgatggca gtgaacgaca aaatggcgtc
 541 ctgaacagtt ggactgatca ggacagcaaa gacagcacct acagcatgag cagcacccctc
 601 acgttgacca aggacgagta tgaacgacat aacagctata cctgtgaggc cactcacaag
 661 acatcaactt caccattgtt caagagcttc aacaggaatg agtggttag

5 (20) Sequência de Proteína que Define a Sequência da Cadeia
Leve de Extensão Completa de 3D11 (Região Variável Capa e Região Cons-
tante de 3D11) (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 141)

1 qivltqspai msaypgekvt mtcsasssvs ymhwyqqksg tspkrwiydt sklasgvpar
 61 fsgsgsgtsy sltissmeae daatyycqgw ssnpltfgag tklelkrada aptvsifpps
 10 121 seqltsggas vvcflnnfyp kdinvkwkid gserqngvln swtdqdsksd tysmsstltl
 181 tkdeyerhns ytceathkts tspivksfnr nec

15 (21) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Sequência da
Cadeia Pesada de Extensão Completa de 1D3 (Região Variável da Cadeia
Pesada e Região Constante de IgG1 de 1D3) (sequência de sinal sublinha-
da) (SEQ ID NO. 142)

1 atgaactttg ggctcagatt gattttcctt gtccttggtt taaaagggtg gaagtgtgaa
 61 gtgcagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcctg gagggtccct gaaactctcc
 121 tgtgcagcct ctggattcac ttctcagtac tattacatgt cttgggttcg ccagactcca
 181 gagaagaggc tggagtgggt cgcatacatt agtagtggtg gtggttagcac ctactatcca
 20 241 gacagtgtga aggggtcgatt caccatctcc cgagacaatg ccaagaacac cctgtacctg
 301 caaatgagca gtctgaagtc tgaggacaca gccatatatt actgtgtgag acaaggggat
 361 gggtattacg gggactatgc tatggactac tgggggtcaag gaacctcagt catcgtctcc
 421 tcagccaaaa cgacaccccc atctgtctat ccactggccc ctggatctgc tgcccaaact
 481 aactccatgg tgaccctggg atgcctgggc aagggttatt tccctgagcc agtgacagtg
 25 541 acctggaact ctggatccct gtccagcggg gtgcacacct tccagctgt cctgcagtct
 601 gacctctaca ctctgagcag ctcagtgact gtccctcca gcacctggcc cagcgagacc
 661 gtcacctgca acgttgccca cccggccagc agcaccaagg tggacaagaa aattgtgccc
 721 agggattgtg gttgtaagcc ttgcatatgt acagtcccag aagtatcatc tgtcttcac
 781 ttcccccaa agcccaagga tgtgtcacc attactctga ctctaaggt cacgtgtgtt
 30 841 gtggtagaca tcagcaagga tgatcccgag gtccagttca gctgggttgt agatgatgtg
 901 gaggtgcaca cagctcagac gcaaccccgg gaggagcagt tcaacagcac tttccgctca
 961 gtcagtgaac ttcccatcat gcaccaggac tggctcaatg gcaaggagtt caaatgcagg

1021 gtcaacagtg cagctttccc tgccccatc gagaaaacca tctccaaaac caaaggcaga
 1081 ccgaaggctc cacaggtgta caccattcca cctcccaagg agcagatggc caaggataaa
 1141 gtcagtctga cctgcatgat aacagacttc ttcctgaag acattactgt ggagtggcag
 1201 tggaaatgggc agccagcgga gaactacaag aacactcagc ccatcatgga cacagatggc
 5 1261 tcttacttcg tctacagcaa gctcaatgtg cagaagagca actgggaggc aggaaatact
 1321 ttcacctgct ctgtgttaca tgagggcctg cacaaccacc atactgagaa gagcctctcc
 1381 cactctcctg gtaaatga

(22) Sequência de Proteína que Define a Sequência da Cadeia
 Pesada de Extensão Completa de 1D3 (Região Variável da Cadeia Pesada
 10 e Região Constante de IgG1 de 1D3) (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO.
 143)

1 evqlvesggg lvqppggslkl scaasgftfs dyymwvrqt pekrlewvay issgggstyy
 61 pdsvkgrfti srdnakntly lqmsslksed taiyycvrqg dgyygyamd ywgqgtsviv
 121 ssaktppsv yplapgsaaq tnsmtlgcl vkgyfpepvt vtwnsgslss gvhtfpavlq
 15 181 sdlytlsssv tvpsstwpse tvtcnvahpa sstkvdtkiv prdcgckpci ctvpevssvf
 241 ifppkpkdvl titltpkvtc vvdiskddp evqfswfvdd vevhtaqtqp reeqfnstfr
 301 svselfpimhq dwlngkefkc rvnsaaftpap iektisktkg rpkapqvyti pppkeqmakd
 361 kvsiltcmtd ffpeditvew qwnqgpaeny kntqpimtd gsyfvyskln vqksnweagn
 421 tftcslvheg lnhhhteksl shspgk

20 (23) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Sequência da
 Cadeia Leve de Extensão Completa de 1D3 (Região Variável Capa e Região
 Constante de 1D3) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 144)

1 atgagtgtgc ccaactcaggt cctgggggttg ctgctgctgt ggcttacaga tgtcagatgt
 61 gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgtat ctgtgggaga aactgtcacc
 25 121 atcacatgtc gaacaagtga gaatatttac agtaatttag cgtggtatca gcagaaacag
 181 ggaaaatctc ctcagctcct aatctatgct gcaacaaact tagcagatgg tgtgccatca
 241 aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag ttttccctca ggatcaacag cctgcagtct
 301 gaagattttg ggaggtatta ctgtcaacat ttttggggga ctccgtacac gttcggaggg
 361 gggaccaaac tggaaataaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca
 30 421 tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac
 481 cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg
 541 aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg

601 ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca
 661 tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gtttag

5 (24) Sequência de Proteína que Define a Sequência da Cadeia Leve de Extensão Completa de 1D3 (Região Variável Capa e Região Constante de 1D3) (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 145)

1 diqmtqspas lsvsvgetvt itcrtseniy snlawyqqkq gkspqlliya atnladgvps
 61 rfsgsgsgtg fslrinslqs edfgryycqh fwgtpytfgg gtleikrad aaptvsifpp
 121 sseqltsgga svvcflnnfy pkdinvkwki dgserqngvl nswtdqdskd stysmsstlt
 181 ltkdeyerhn sytceathkt stspivksfn rnec

10 (25) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Sequência da Cadeia Pesada de Extensão Completa de 1F3 (Região Variável da Cadeia Pesada e Região Constante de IgG1 de 1F3) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 146)

1 atgaactttg ggctcagatt gattttcctt gtccttgttt taaaagggtgt gaagtgtgag
15 61 gtgcagctgg tggagtctgg gggaggttta gtgcagctctg gagggtcctt gaaactctcc
 121 tgtgcgccct ctggattcac tttcagtaac tatttcatgt cttgggttcg ccagactcca
 181 gagaagaggc tggagtgggt cgcataatatt agtagtggtg gtggtagcac ctactatcca
 241 gacagtgtga aggggtcgatt caccatctct agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg
 301 caaatgagca gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgtaag acaaggggat
20 361 gggtactacg gggactatgc tatggactac tggggtaag gaacctcagt caccgtctcc
 421 tcagccaaaa cgacaccccc atctgtctat ccactggccc ctggatctgc tgcccaact
 481 aactccatgg tgacctggg atgcctggtc aagggtatt tccctgagcc agtgacagtg
 541 acctggaact ctggatccct gtccagcggg gtgcacacct tcccagctgt cctgcagtct
 601 gacctctaca ctctgagcag ctgagtgtgt gtccctcca gcacctggcc cagcgagacc
25 661 gtcacctgca acgttgccca cccggccagc agcaccaagg tggacaagaa aattgtgccc
 721 agggattgtg gttgtaagcc ttgcatatgt acagtcccag aagtatcatc tgtcttcac
 781 ttcccccaa agcccaagga tgtgtcacc attactctga ctctaaggt cagtggtgtt
 841 gtggtagaca tcagcaagga tgatcccgag gtccagttca gctggtttgt agatgatgtg
 901 gaggtgcaca cagctcagac gcaaccccg gagagcagt tcaacagcac tttccgctca
30 961 gtcagtgaac tcccatcat gcaccaggac tggctcaatg gcaaggagtt caaatgcagg
 1021 gtcaacagtg cagctttccc tgccccatc gagaaaacca tctccaaac caaaggcaga
 1081 ccgaaggctc cacaggtgta caccattcca cctccaagg agcagatggc caaggataaa

1141 gtcagtctga cctgcatgat aacagacttc ttcctgaag acattactgt ggagtggcag
 1201 tggaatgggc agccagcgga gaactacaag aacactcagc ccatcatgga cacagatggc
 1261 tcttacttcg tctacagcaa gctcaatgtg cagaagagca actgggaggc aggaaatact
 1321 ttcacctgct ctgtgttaca tgagggcctg cacaaccacc atactgagaa gagcctctcc
 5 1381 cactctcctg gtaaatga

(26) Sequência de Proteína que Define a Sequência da Cadeia Pesada de Extensão Completa de 1F3 (Região Variável da Cadeia Pesada e Região Constante de IgG1 de 1F3) (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 147)

10 1 evqlvesggg lvqsggslkl scaasgftfs nyfmswvrt pekrlewway issgggstyy
 61 pdsvkgrfti srdnakntly lqmsslksed tamyycvrqq dgyygydyamd ywgqgtsvtv
 121 ssaktppsv yplapgsaaq tnsmtlglcl vkgyfpepvt vtnsgslss gvhtfpavlq
 181 sdlytlsssv tvpsstwpse tvtcnvahpa sstkvdkkiv prdcgckpci ctvpevssvf
 241 ifppkpkdvl titltpkvtc vvdiskddp evqfswfvdd vevhtaqtqp reeqfnstfr
 15 301 svselfpimhq dwlngkefkf rvnsaafpap iektisktkg rpkapqvyti pppkeqmakd
 361 kvsltcmid ffpeditvew qwnqpaeny kntqpimtd gsyfvy skln vqksnweagn
 421 tftcsvglhq lnhhhteksl shspgk

(27) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Sequência da Cadeia Leve de Extensão Completa de 1F3 (Região Variável Capa e Região Constante de 1F3) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 148)

20 1 atgagtgtgc cactcaggt cctgggggtg ctgctgctgt ggcttacaga tgccagatgt
 61 gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgtat ctgtgggaga aactgtcacc
 121 atcacatgtc gagcaagtga gaatatttac agtaatttag catggtatca gcagaaacag
 181 ggaaaatctc ctcagctcct ggtctatgat gcaacacact taccagatgg tgtgccatca
 25 241 aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag ttttcctca agatcaacag cctgcagtct
 301 gaagattttg ggagttatta ctgtcaacat ttttggggta ctccgtacac gtttgagggg
 361 gggaccagac tggaaattaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca
 421 tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gtttcttgaa caacttctac
 481 cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgctcctg
 30 541 aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg
 601 ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca
 661 tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gttag

(28) Sequência de Proteína que Define a Sequência da Cadeia Leve de Extensão Completa de 1F3 (Região Variável Capa e Região Constante de 1F3) (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 149)

1 diqmtqspas lsvsvgetvt itcraseny snlawyqqkq gkspqllvyd athlpdgyps
 5 61 rfsgsgsgtg fslkinslqs edfgsyycqh fwgtpytfgg gtrleikrad aaptvsifpp
 121 sseqltsgga svvcflnnfy pkdinvkwki dgserqngvl nswtdqdskd stysmsstlt
 181 ltkdeyerhn sytceathkt stspivksfn rnec

(29) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Sequência da Cadeia Pesada de Extensão Completa de 3A12 (Região Variável da Cadeia Pesada e Região Constante de IgG1 de 3A12) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 150)

1 atgaactttg ggctcagatt gattttcctt gtccttgttt taaaagggtgt gaagtgtgaa
 61 gtgcagctgg tggagctctgg gggaggetta gtgcagcctg gagggtccct gaaaatctcc
 121 tgtgcagcct ctggatttac ttccagtaac tatttcatgt cttgggttcg ccagactcca
 15 181 gagaagaggc tggagtgggt cgcatacatt agtagtggtg gtggtagcac ctactatcca
 241 gacagtgtga agggctcgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg
 301 caaatgaaca gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgtaag acaaggagat
 361 ggttactatg gggactatgc tatggactac tgggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc
 421 tcagccaaaa cgacaccccc atctgtctat ccactggccc ctggatctgc tgcccaaat
 20 481 aactccatgg tgaccctggg atgcctggtc aagggtatt tccctgagcc agtgacagtg
 541 acctggaact ctggatccct gtccagcggg gtgcacacct tcccagctgt cctgcagtct
 601 gacctctaca ctctgagcag ctcaagtact gtccctcca gcacctggcc cagcgagacc
 661 gtcacctgca acgttgccca cccggccagc agcaccaagg tggacaagaa aattgtgccc
 721 agggattgtg gttgtaagcc ttgcatatgt acagtcccag aagtatcatc tgtcttcatc
 25 781 ttcccccaa agcccaagga tgtgctcacc attactctga ctccaaagg cactgtgtgt
 841 gtggtagaca tcagcaagga tgatcccag gtccagttca gctggtttgt agatgatgtg
 901 gaggtgcaca cagctcagac gcaaccccg gaggagcagt tcaacagcac tttccgtca
 961 gtcagtgaac ttccatcat gcaccaggac tggctcaatg gcaaggagtt caaatgcagg
 1021 gtcaacagtg cagctttccc tgccccatc gagaaaacca tctccaaaac caaaggcaga
 30 1081 ccgaaggctc cacaggtgta caccattcca cctcccaagg agcagatggc caaggataaa
 1141 gtcagtctga cctgcatgat aacagacttc ttccctgaag acattactgt ggagtggcag
 1201 tggaatgggc agccagcga gaactacaag aactcagc ccatcatgga cacagatggc

1261 tcttacttcg tctacagcaa gctcaatgtg cagaagagca actgggaggc aggaaatact
 1321 ttcacctgct ctgtgttaca tgagggcctg cacaaccacc atactgagaa gagcctctcc
 1381 cactctcctg gtaaatga

(30) Sequência de Proteína que Define a Sequência da Cadeia

5 Pesada de Extensão Completa de 3A12 (Região Variável da Cadeia Pesada e Região Constante de IgG1 de 3A12) (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 151)

10 ----- 1 evqlvesggg lvqpggslki scaasgftfs nyfmswvrt pekrlwvay issgggstyy
 61 pdsvkgrfti srdnakntly lqmnslksed tamyycvrqq dgyygdymd ywgqgtsvtv
 121 ssakttppsv yplapgsaaq tnsmtlglcl vkgyfpepvt vtwnsgslss gvhtfpavly
 181 sdlytlsssv tvpsstwpse tvtcnvahpa sstkvdkkiv prdcgckpci ctvpevssvf
 241 ifppkpkdvl titltpkvtc vvdiskddp evqfswfvdd vevhtaqtqp reeqfnstfr
 301 svselfpimhq dwlngkefkf rvnsaafpap iektisktkg rpkapqvtyi pppkeqmakd
 361 kvsltcmtd ffpeditvew qwnqgaeny kntqpimtd gsyfvyskln vqksnweagn
 15 421 tftcslheg lnhhhteksl shspgk

(31) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Sequência da

Cadeia Leve de Extensão Completa de 3A12 (Região Variável Capa e Região Constante de 3A12) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 152)

20 1 atgagtgtgc ccactcaggt cctgggggtg ctgctgctgt ggcttacaga tgccagatgt
 61 gacatccaga tgactcagtc gccagcctcc ctatctgtat ctgtgggaga aactgtcacc
 121 atcacatgtc gagcaagtga gaatatctac attaatctag catggtatca gcagaaacag
 181 ggaaaatctc ctcagctcct ggtccatgct gcaacaaagt tagcagatgg tgtgccatca
 241 aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag tattccctca agatcaacag cctgcagtct
 301 gaagattttg ggagttatta ctgtcaacat ttttggggta ctccgtacac gttcggaggg
 25 361 gggaccaaac tagaaataaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca
 421 tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac
 481 cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg
 541 aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg
 601 ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca
 30 661 tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gttag

(32) Sequência de Proteína que Define a Sequência da Cadeia

Leve de Extensão Completa de 3A12 (Região Variável Capa e Região Cons-

tante de 3A12) (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 153)

1 diqmtqspas lsvsvgetvt itcraseny inlawyqqkq gkspqllvha atkladgvps
 61 rfsgsgsgtgq yslkinslqs edfgsyycqh fwgtpytfgg gtleikrad aaptvsifpp
 121 sseqltsgga svvcflnnfy pkdinvkwki dgserqngvl nswtdqdskd stysmsstlt
 5 181 ltkdeyerhn sytceathkt stspivksfn rnec

Por conveniência, a Tabela 2 fornece um quadro de concordância que mostra a correspondência entre as sequências de extensão completa dos anticorpos discutidos neste Exemplo com aqueles apresentados na Listagem de Sequência.

10 **TABELA 2**

SEQ. ID NO.	Proteína ou Ácido Nucléico
122	Variável + constante de IgG1 Pesada de 1A3 – ácido nucléico
123	Variável + constante de IgG1 Pesada de 1A3 – proteína
124	Variável Leve + constante de 1A3 – ácido nucléico
125	Variável Leve + constante de 1A3 – proteína
126	Variável + constante de IgG1 Pesada de 2B8 – ácido nucléico
127	Variável + constante de IgG1 Pesada de 2B8 – proteína
128	Variável + constante Leve de 2B8 – ácido nucléico
129	Variável + constante Leve de 2B8 – proteína
130	Variável + constante de IgG1 Pesada de 2F8 – ácido nucléico
131	Variável + constante de IgG1 Pesada de 2F8 – proteína
132	Variável + constante Leve de 2F8 – ácido nucléico
133	Variável + constante Leve de 2F8 – proteína
134	Variável + constante de IgG1 Pesada de 3B6 – ácido nucléico
135	Variável + constante de IgG1 Pesada de 3B6 – proteína
136	Variável + constante Leve de 3B6 – ácido nucléico
137	Variável + constante Leve de 3B6 – proteína
138	Variável + constante de IgG1 Pesada de 3D11 – ácido nucléico
139	Variável + constante de IgG1 Pesada de 3D11 – proteína
140	Variável + constante Leve de 3D11 – ácido nucléico
141	Variável + constante Leve de 3D11 – proteína
142	Variável + constante de IgG1 Pesada de 1D3 – ácido nucléico
143	Variável + constante de IgG1 Pesada de 1D3 – proteína
144	Variável + constante Leve de 1D3 – ácido nucléico
145	Variável + constante Leve de 1D3 – proteína
146	Variável + constante de IgG1 Pesada de 1F3 – ácido nucléico
147	Variável + constante de IgG1 Pesada de 1F3 – proteína
148	Variável + constante Leve de 1F3 – ácido nucléico
149	Variável + constante Leve de 1F3 – proteína
150	Variável + constante de IgG1 Pesada de 3A12 – ácido nucléico
151	Variável + constante de IgG1 Pesada de 3A12 – proteína
152	Variável + constante Leve de 3A12 – ácido nucléico
153	Variável + constante Leve de 3A12 – proteína

Exemplo 3 – Produção de Várias Proteínas hHGF Recombinantes

Este Exemplo descreve a clonagem e expressão de várias proteínas recombinantes usadas para caracterizar os anticorpos criados no Exemplo 1 e no Exemplo 14. Em particular, este Exemplo descreve a clonagem e expressão da proteína hHGF recombinante, uma proteína hHGF recombinante que contém uma substituição de glicina para glutamato na posição 555 (G555E), uma proteína hHGF recombinante que contém uma substituição de cisteína para arginina na posição 561 (C561R), uma proteína HGF quimérica camundongo-humano-camundongo (mhm) recombinante contendo a sequência de HGF V495-L585 humana disposta dentro da sequência de HGF de camundongo, uma proteína de HGF quimérica mhm recombinante contendo a sequência de HGF I499-R566 humana disposta dentro da sequência de HGF de camundongo, e uma proteína de HGF quimérica mhm recombinante contendo a sequência de HGF W507-L585 humana disposta dentro da sequência de HGF de camundongo.

Os seguintes construtos de expressão foram gerados usando técnicas moleculares usuais e as sequências de cDNA resultantes foram confirmadas por sequenciamento de DNA:

a. hHGF-Fc

Em um primeiro ciclo de PCR, dois fragmentos de PCR sobreponíveis foram gerados introduzindo um sítio de Not I e codificando um sinalizador 6xHis entre hHGF e hlgFc. Os fragmentos de PCR sobreponíveis serviram como molde em um segundo ciclo para amplificar hHGF-his-IgFc. O fragmento resultante foi digerido por NheI e BamHI e clonado em pcDNA5/FRT (Invitrogen, #35-3014). Então, hHGF foi amplificado a partir do clone ID: IOH29794 (cDNA de HGF humano) da Invitrogen. A sequência correspondeu à sequência depositada no NCBI sob o número de acesso NM_000601.4.

(1) Iniciador de NheI de hHGF5'

ACTGGCTAGCATGTGGGTGACCAAACTCCT (SEQ ID NO. 102)

(2) Iniciador de His Tag de NotI hHGF 3'

GTGATGGTGGTGGTGGTGGCGGCCGCATGACTGTGGTACCTTATATG

(SEQ ID NO. 103)

(3) Iniciador de HisIgFc 5'

ACTGGCGGCCCGCCATCACCATCACCATCAC (SEQ ID NO. 104)

(4) Iniciador de BamHI de IgFc 3'

5 ACTGGGATCCTCACTATTTACCCGGGGACAG (SEQ ID NO. 105)

b. G555E de hHGF-Fc e C561R de hHGF-Fc

Os mutantes de hHGF-Fc, G555E e C561R, foram gerados por mutagênese sítio-dirigida usando o kit de mutagênese sítio-dirigida Quik-Change II XL (Stratagene) de acordo com as instruções do fabricante.

10 (1) Iniciador senso de hHGF-Fc (G555E)

CATGATGTCCACGAAAGAGGAGATGAG (SEQ ID NO. 106)

(2) Iniciador anti-senso de hHGF-Fc (G555E)

CTCATCTCCTCTTTCGTGGACATCATG (SEQ ID NO. 107)

(3) Iniciador senso de hHGF-Fc (C561R)

15 GGAAGAGGAGATGAGAAACGCAAACAGGTTCTCAATG (SEQ ID NO. 108)

(4) Iniciador anti-senso de hHGF-Fc (C561R)

CATTGAGAACCTGTTTGCGTTTCTCATCTCCTCTTCC (SEQ ID NO. 109)

c. Fc quimérico camundogno-humano-camundongo

20 O construto de IgFc quimérico camundongo-humano-camundongo contém uma cadeia-alfa de mHGF, aminoácidos da cadeia β Val 495-Leu 585 de HGF humano, e a cadeia beta C-terminal de mHGF seguido por sinalizador 6xHis e IgG-Fc.

25 cDNA de HGF humano que codifica os aminoácidos V495-L585 foi amplificado a partir do clone ID: IOH29794 (cDNA de HGF humano) da Invitrogen. A sequência corresponde à sequência depositada no NCBI sob o número de acesso NM_000601.4. Sequências de HGF de camundongo foram amplificadas por RT-PCR a partir de RNA total de fígado de camundongo (Clontech, # 636603) usando o kit de RT-PCR Super Script One Step da Invitrogen (#10928-034) de acordo com as instruções do fabricante. A sequência de cDNA de mHGF corresponde à sequência depositada no NCBI
30 sob o número de acesso D10213.1.

Três fragmentos, referidos como 1, 2 e 3 foram gerados usando

iniciadores de PCR sobreponíveis e anelados em ciclos consecutivos de amplificação por PCR. O produto final foi clivado com NheI e NotI e clonado em pcDNA5/FRT IgGFc.

(1) Iniciadores do fragmento 1 para NheI 5' da cadeia alfa de mHGF

5 5'ATCGGCTAGCATGATGTGGGGGACCAAAC (SEQ ID NO. 110)
3' GAATCCCATTTACAACCCGCAGTTGTTTTGTTTTGG (SEQ ID NO. 111)

(2) Iniciadores do fragmento 2 para aa V495-L585 da cadeia alfa de hHGF

5' CCAAAACAAAACAACTGCGGGTTGTAAATGGGATTC (SEQ ID NO. 112)
3' CAGGATTGCAGGTCGAGCAAGCTTCATTAACCAGATCT (SEQ ID NO.
10 113)

(3) Iniciadores do fragmento 3 para NotI 3' C-terminal da cadeia beta de mHGF

5' AGATCTGGTTTTAATGAAGCTTGCTCGACCTGCAATCCTG (SEQ ID NO.
114)
3' GTAATTTTGACATACAAGTTGTGCGGCCGCCATCACCATCACCATCAC
15 (SEQ ID NO. 115)

d. Construção de quimeras de hHGF e mhm

Os vetores que codificam as quimeras de hHGF e mhm (V495-L585), pcDNA5/FRT hHGF e quimera pcDNA5/FRT-mhm (V495-L585), sem
20 Fc-tag foram gerados por mutagênese sítio-dirigida. Um códon de parada foi introduzido a 3' de 6xHis usando o kit de mutagênese sítio-dirigida Quik-Change II XL (Stratagene) de acordo com as instruções do fabricante. Os iniciadores da mutagênese incluíram o iniciador 1:

CATCACCATCACCATCACTAAGCGGGTCTGGTGCCACG (SEQ ID NO. 116),
25 e o Iniciador 2:
CGTGGCACCAGACCCGCTTAGTGATGGTGATGGTGATG (SEQ ID NO. 117).

Além disso, duas quimeras de mhm adicionais foram criadas a partir do construto de pcDNA5/FRT-mhm (V495-L585) por mutagênese sítio-dirigida usando o kit de mutagênese sítio-dirigida QuikChange II XL (Stratagene) de acordo com as instruções do fabricante. Um construto de mhm
30 continha a região de I499-R556 de hHGF disposta entre as sequências murinas. O outro construto de mhm continha a região de W507-L585 de hHGF

disposta entre as sequências murinas.

Para a quimera de mhm (I499-R556), as seguintes mutações pontuais foram feitas em ordem no construto molde da quimera pcDNA5/FRT-mhm (V495-L585): D558E, C561R, V564I, V567I e M583L, usando
 5 as sequências de oligonucleotídeo apropriadas. Para a quimera de mhm (W507-L585), as seguintes mutações pontuais foram introduzidas em uma etapa na quimera molde pcDNA5/FRT-mhm (V495-L585): Q502R, N504T e I505V, usando as sequências de oligonucleotídeo apropriadas.

A sequência de nucleotídeo resultante da proteína hHGF-Fc é
 10 descrita como SEQ ID NO. 118, incluindo a sequência de sinal (nucleotídeos 1-93) e pró-domínio (nucleotídeos 94 a 162). A sequência de aminoácido da proteína hHGF-Fc é descrita como SEQ ID NO. 119.

A sequência de nucleotídeo resultante que codifica a proteína mhm (V495-L585)-Fc quimérica é descrita em SEQ ID NO. 120, incluindo a
 15 sequência de sinal (nucleotídeos 1 a 96) e o pró-domínio (nucleotídeos 97 a 165). A sequência de aminoácido da proteína quimérica mhm (V495-L585)-Fc é descrita em SEQ ID NO. 121.

A sequência de nucleotídeo resultante que codifica e a sequência de proteína que define o construto de mhm (V495-L585) são descritas
 20 em SEQ ID NOS. 211 e 212, respectivamente. A sequência de ácido nucléico descrita em SEQ ID NO. 211 inclui a sequência de sinal (nucleotídeos 1 a 96) e o pró-domínio (nucleotídeos 97 a 165), e a sequência de proteína descrita em SEQ ID NO. 212 inclui a sequência de proteína ativa (sem a sequência de sinal ou o pró-domínio). A sequência de nucleotídeo resultante
 25 que codifica e a sequência de proteína que define o construto de mhm (I499-R556) são descritas em SEQ ID NOS. 213 e 214, respectivamente. A sequência de ácido nucléico descrita em SEQ ID NO. 213 inclui a sequência de sinal (nucleotídeos 1 a 96) e o pró-domínio (nucleotídeos 97-165), e a sequência de proteína descrita em SEQ ID NO. 214 inclui a sequência de proteína
 30 ativa (sem a sequência de sinal ou o pró-domínio). A sequência de nucleotídeo resultante que codifica e a sequência de proteína que define mhm (W507-L585) são descritas em SEQ ID NOS. 215 e 216, respectivamente. A

sequência de ácido nucléico descrita em SEQ ID NO. 215 inclui a sequência de sinal (nucleotídeos 1 a 96) e o pró-domínio (nucleotídeos 97 a 165), e a sequência de proteína descrita em SEQ ID NO. 216 inclui a sequência de proteína ativa (sem a sequência de sinal ou o pró-domínio).

5 e. Expressão de Proteína

(1) Cultura celular

Células CHO FlpIn (Invitrogen, Nº de catálogo R758-07)) foram cultivadas em meio F12K (ATCC, Nº de catálogo 30-2004), 10% de FCS (Invitrogen, Nº de catálogo 10438026), 1% de Penicilina (10000 unidades/mL)/estreptomicina (10.000 µg/mL) (Invitrogen, Nº de catálogo 15140-122) a 37°C, 5% de CO₂, 100 µg/mL de Zeocina (Invitrogen, Nº de catálogo R250-01).

(2) Geração de Linhagens Celulares CHO estáveis

As células hospedeiras CHO FlpIn foram transfectadas com uma proporção 9:1 de DNA de plasmídeo de expressão pOG44:pcDNA5/FRT usando lipofectamina 2000 de acordo com as instruções do fabricante (Invitrogen, Nº de catálogo 11668-027). Como controles, as células foram transfectadas com o vetor vazio pcDNA5/FRT vetor/pOG44 e plasmídeo pOG44 (Invitrogen, Nº de catálogo 35-3018) apenas. Vinte e quatro horas após a transfecção, as células foram repicadas, e após quarenta e oito horas 0,5 mg/mL de Higromicina B (Sigma, Nº de catálogo H0654-SPEC) foi adicionado às células. A seleção policlonal de células estáveis foi realizada em F12K, 10% de FCS, 1% de Penicilina/Estreptomicina, 0,5 mg/mL de Higromicina B.

(3) Expressão de proteína em linhagens celulares CHO FlpIn estáveis

Aproximadamente 2×10^6 células foram semeadas em placas de 25 15 cm e cultivadas em F12K (ATCC, Nº de catálogo 30-2004)/DMEM com alto teor de glicose (Invitrogen, Nº de catálogo 11995065) 1:1, 5% de *ultra low* IgG FCS (Invitrogen, #16250-78) a 37°C, 5% de CO₂ por 5 a 6 dias. Os sobrenadantes foram colhidos e as proteínas resultantes analisadas por E-LISA e por ressonância de plásmon de superfície.

30 Exemplo 4 - Características de ligação de Anticorpos Monoclonais Anti-hHGF

Os anticorpos monoclonais produzidos no Exemplo 1 foram ca-

racterizados por sua habilidade de se ligar a hHGF, e algumas das proteínas HGF recombinantes produzidas no Exemplo 3.

Os anticorpos foram analisados por ressonância de plásmon de superfície usando um instrumento BIAcore T100 para avaliar sua habilidade de se ligar a HGF e algumas das proteínas de fusão discutidas no Exemplo 3. Cada anticorpo foi imobilizado sobre um chip sensor CM5 de dextrano carboxilado (BIAcore, N° de catálogo BR-1006-68) por acoplamento de amina (BIAcore, N° de catálogo BR-1000-50) usando um protocolo de acoplamento usual de acordo com as instruções do fabricante.

As análises foram realizadas a 25°C usando PBS (GIBCO, N° de catálogo 14040-133) contendo 0,05% de tensoativo P20 (BIAcore, N° de catálogo R-1000-54), 2 mg/mL de BSA (EMD, N° de catálogo 2930) e 10 mg/mL de Sal de Sódio CM-Dextran (Fluka, N° de catálogo 86524) como tampão de corrida. Sobrenadantes contendo diferentes proteínas de fusão de HGF ou sobrenadante de células transfectadas com o vetor vazio foram injetados sobre cada anticorpo em uma taxa de fluxo de 30 µL/min por 3 minutos. A ligação resultante foi determinada como unidades de ressonância (RU) sobre o basal 30 segundos após o final da injeção. A ligação foi comparada com HGF humano (R&D Systems, N° de catálogo 294-HGN-025) diluído em tampão de corrida. Ligação inespecífica foi monitorada por comparar a ligação a uma superfície de controle onde IgG de camundongo (Rockland, N° de catálogo 010-0102) foi imobilizada usando o mesmo procedimento de acoplamento de amina.

Os resultados estão resumidos na Tabela 3.

TABELA 3

Anticorpo	rhHGF (R&D Systems)	rmHGF (R&D Systems)	Quimera de mhm (V495- L585)	HGF humano	G555E	C561R
1A3	Sim	Não	Não	Sim	Sim	Sim
1D3	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim
1F3	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
2B8	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim
2F8	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Sim
3A12	Sim	Não	Não	Sim	Sim	Sim
3B6	Sim	Não	Não	Sim	Sim	Sim
3D11	Sim	Não	Não	Sim	Sim	Sim

Os resultados na Tabela 3 demonstram que cada um dos anticorpos se liga a rhHGF e HGF humano purificado. Além disso, todos os anticorpos se ligam a hHGF contendo as mutações pontuais G555E e C561R.

- 5 Em geral, todos os anticorpos exceto 1F3 e 2F8 não se ligam a murino demonstrando que os anticorpos 1A3, 1D3, 2B8, 3A12, 3B6, e 3D11 se ligam especificamente a HGF humano. Os anticorpos 1D3, 1F3, e 2B8 se ligam à quimera de camundongo-humano-camundongo, enquanto que os anticorpos restantes não se ligaram. Os resultados sugerem que os anticorpos 1D3 e
- 10 2B8 se ligam pelo menos em parte aos resíduos 495 a 585 de HGF humano. Os anticorpos 1A3, 3A12, 3B6, e 3D11 parecem se ligar a porções de hHGF humano com exceção dos resíduos 495 a 585. No momento é não se sabe o motivo de 2F8 não se ligar à quimera de mhm já que ele parece se ligar tanto a hHGF quanto mHGF.

15 Exemplo 5 – Habilidade dos Anticorpos Monoclonais Anti-hHGF se Ligarem a HGF Reduzido e Não-Reduzido

Neste Exemplo, os anticorpos monoclonais anti-hHGF produzidos no Exemplo 1 foram analisados quanto a sua habilidade de se ligar a HGF reduzido e não reduzido.

- 20 A reatividade dos soros anti-HGF com o hHGF recombinante foi avaliada por *immunoblotting*. Oito µg de proteína hHGF recombinante em tampão de corrida NuPAGE MOPS SDS (Invitrogen) com ou sem tampão redutor de amostra NuPAGE (Invitrogen) foram fracionados em um gel de

Bis-Tris 4 a 12% com cavidades de 1,0mm X 2D (Invitrogen, Carlsbad, CA). As proteínas fracionadas foram então transferidas para uma membrana de nitrocelulose usando procedimentos usuais. As membranas de nitrocelulose foram bloqueadas com solução de leite em pó desnatado a 5% em Salina

5 Tamponada com Tris com 0,1% de Tween-20® (TBST), e então colocadas em um equipamento Mini Protean II Multi-Screen (BioRad) para bloqueio adicional.

As membranas resultantes foram marcadas com os anticorpos purificados em um equipamento Multi-Screen. Os anticorpos purificados fo-

10 ram diluídos para 5 µg/mL em tampão de bloqueio. A membrana de nitrocelulose foi então removida do equipamento, e incubada com anticorpos anti-IgG de camundongo marcada com peroxidase de rábano silvestre. Os resultados estão resumidos na Tabela 4, onde os números refletem a extensão de ligação com – representando a ligação mínima (pouca ou nenhuma liga-

15 ção) e 3+ representando a ligação máxima.

TABELA 4

Anticorpo	Reduzido (exposição: 3 a 5min)	Não-Reduzido (exposição: 20 seg)
1A3	2+	2+
1D3	2+	2+
1F3	2+	2+
2B8	-	1+
2F8	2+	2+
3A12	-	2+
3B6	3+	2+
3D11	-	3+

Os dados na Tabela 4 demonstram que todos os anticorpos se ligam a rhHGF não-reduzido. Em oposição, os anticorpos monoclonais 1A3, 1D3, 1F3, 2F8, 3B6 se ligaram a rhHGF reduzido mas os anticorpos 2B8,

20 3A12, e 3D11 não se ligaram a rhHGF.

Exemplo 6 – Afinidades de Ligação

As afinidades de ligação e cinéticas de interação de cada um dos anticorpos produzidos no Exemplo 1 contra hHGF foram medidas por ressonância de plásmon de superfície.

25 Imunoglobulinas de coelho anti-camundongo (BIAcore, Nº de

catálogo BR-1005-14) foram imobilizadas sobre chips sensores CM5 de dextran carboxilado (BIAcore, Nº de catálogo BR-1006-68) por acoplamento de amina (BIAcore, Nº de catálogo BR-1000-50) usando um protocolo usual de acordo com as instruções do fabricante. As análises foram realizadas a 25°C usando PBS (GIBCO, Nº de catálogo 14040-133) contendo 0,05% de tensoativo P20 (BIAcore, Nº de catálogo BR-1000-54), 2 mg/mL de BSA (EMD, Nº de catálogo 2930), e 10 mg/mL de Sal de Sódio CM-Dextran (Fluka, Nº de catálogo 86524) como tampão de corrida.

Os anticorpos foram capturados em uma célula de fluxo individual em uma taxa de fluxo de 10 µL/min. O tempo de injeção foi variável para cada anticorpo para produzir aproximadamente 20 RU de anticorpo capturado para cada ciclo. Tampão ou HGF (R&D Systems, Nº de catálogo 294-HGN-025) diluído em tampão de corrida foi injetado sequencialmente sobre uma superfície de referência (nenhum anticorpo capturado) e sobre a superfície ativa (anticorpo a ser testado) por 2 minutos a 60 µL/min. A fase de dissociação foi monitorada por 15 ou 90 minutos, dependendo da concentração. A superfície foi então regenerada com 10 mM de Glicina-HCl, pH 1,7 (BIAcore, Nº de catálogo BR-1003-54) injetada por 3 minutos em uma taxa de fluxo de 60 µL/min antes de outro ciclo ser iniciado. As concentrações de HGF testadas foram 0,46 nM a 7,5 nM.

Os parâmetros de cinética foram determinados usando a função de cinética do programa BIAevaluation com subtração da referência. Os parâmetros de cinética para cada anticorpo k_a (constante da taxa de associação), k_d (constante da taxa de dissociação) e K_D (constante de dissociação de equilíbrio) estão resumidos na Tabela 5.

TABELA 5

Anticorpo	k_a (1/Ms)	SE (k_a)	k_d (1/s)	SE (k_d)	K_D (pM)	SD
1A3	$1,7 \times 10^6$	$7,3 \times 10^4$	$5,2 \times 10^{-5}$	$8,4 \times 10^{-7}$	30,1	5,6
1D3	$1,7 \times 10^6$	$3,1 \times 10^4$	$8,2 \times 10^{-5}$	$1,7 \times 10^{-6}$	54,2	27,4
1F3	$1,5 \times 10^6$	$5,0 \times 10^4$	$2,6 \times 10^{-5}$	$6,6 \times 10^{-7}$	18,1	8,2
2B8	$1,6 \times 10^6$	$2,9 \times 10^4$	$2,1 \times 10^{-5}$	$1,4 \times 10^{-7}$	13,5	4,4
3A12	$1,6 \times 10^6$	$3,7 \times 10^4$	$1,6 \times 10^{-4}$	$1,6 \times 10^{-6}$	103,0	10,4
3B6	$2,0 \times 10^6$	$6,5 \times 10^4$	$3,9 \times 10^{-5}$	$3,2 \times 10^{-7}$	17,0	3,4

Os dados na Tabela 5 demonstram que os anticorpos se ligam a

hHGF com um K_D de cerca de 100 pM ou menos, cerca de 50 pM ou menos, ou 20 pM ou menos.

Exemplo 7 – Atividade de Neutralização de Anticorpos Anti-hHGF

5 Neste exemplo, os anticorpos produzidos no Exemplo 1 foram caracterizados quanto a sua habilidade de (a) inibir a ligação de hHGF a c-Met, e (b) inibir a incorporação de BrdU estimulada por HGF em células 4MBR-5.

a. Ensaio de Inibição de Ligação de HGF-Met (Ensaio de Neutralização)

10 Os anticorpos foram testados por ELISA quanto a sua habilidade de inibir a ligação de hHGF a c-Met.

Especificamente, placas de ensaio DELFIA de 96 cavidades Wallac (Wallac Inc., Nº de catálogo AAAND-0001) foram revestidas com 100 µL de HGF a 6,25 µg/mL (R&D Systems, Nº de catálogo 294-HGN-025) em tampão de revestimento de carbonato (15 mM de Na_2CO_3 e 34 mM de NaHCO₃, pH 9,0) por 16 horas a 4°C. As placas foram então bloqueadas com 200 µL de leite em pó desnatado a 5% em PBS por 1 hora em temperatura ambiente. Os anticorpos foram preparados em uma placa separada por adicionar concentrações crescentes dos anticorpos sob investigação (0,033 a 667 nM, diluição seriada de 3 vezes) a 2 nM de c-Met (R&D Systems, Nº de catálogo 358-MT/CF) em leite em pó desnatado a 5% em PBS. 100 µL de amostra por cavidade foram transferidos para a placa de ensaio e incubados durante a noite a 4°C. As placas de ensaio foram então lavadas três vezes com PBS-0,1% de Tween 20, e incubados por 2 horas em temperatura ambiente com 100 µL/cavidade de anticorpo anti-c-Met humano biotilado a 2 µg/mL (R&D Systems, Nº de catálogo BAF358) preparado em leite em pó desnatado a 5% em PBS.

30 As placas resultantes foram então lavadas três vezes com PBS-0,1% de Tween 20, e incubadas por 1 hora a temperatura ambiente com Estreptavidina marcada com Eu (Wallac, Nº de catálogo 1244-360) diluída 1:1000 em tampão de ensaio DELFIA (Wallac, Nº de catálogo 4002-0010). As placas resultantes foram lavadas 3 vezes com solução de lavagem DELFIA (Wallac, Nº de catálogo 4010-0010) e incubadas com 100 µL/cavidade

de solução de intensificação DELFIA (Wallac #4001-0010) por 15 minutos em temperatura ambiente com agitação.

As placas foram lidas em um instrumento Victor³V (Perkin Elmer) usando o método de Európio. Os valores de IC₅₀ foram calculados e estão resumidos na Tabela 6.

TABELA 6

Anticorpo	IC ₅₀ (nM)	SD
1A3	5,65	0,91
1D3	4,43	2,27
1F3	6,57	0,28
2B8	5,57	1,19
2F8	5,36	0,88
3A12	5,26	2,11
3B6	-	-
3D11	5,66	2,75

Os resultados demonstram que todos os anticorpos (isto é, 1D3, 1A3, 2B8, 3A12, 1F3, 3D11, e 2F8) com exceção de 3B6 neutralizam eficazmente a ligação de HGF a c-Met.

10 b. Neutralização da Incorporação de BrdU Estimulada por HGF em células 4MBR-5

Dez µL de 12,5 nM de hHGF foram dispensados em cavidades individuais de uma placa de microtitulação de cultura de tecido de 96 cavidades (Costar, Nº de catálogo 3903). Dez µL de anticorpos foram diluídos seriadamente em concentrações de 6667; 2222; 740; 247; 82; 27; 9,1; 3,0; 1,0; 0,33 nM foram adicionados a cada cavidade. A mistura de anticorpo de HGF foi então incubada em temperatura ambiente por 30 minutos. Células epiteliais brônquicas de macaco 4MBR-5 (ATCC, CCL208) cultivadas em F-12K (ATCC, 30-2004), 15% de FBS (Gibco 10438-026), 30 ng/mL de EGF (Sigma E9644), 1% de penicilina/estreptomicina (PS, Gibco Nº de catálogo 15140-122) foram dissociadas com Tripsina (Gibco, Nº de catálogo 25200-056), ressuspensas em meio de ensaio (F-12K, 2,5% de FBS, 1% de PS) a 75.000 células/mL, e 80 µL da suspensão celular foi dispensada à mistura de anticorpo de HGF.

25 As células resultantes foram incubadas a 37°C, 5% de CO₂.

Quarenta e oito horas depois, 10 µL de BrdU a 100 µM (Roche, Nº de catálogo 1669915) foram adicionados. Setenta e duas horas depois, o meio foi removido, as placas foram secas com secador de cabelo e foram processadas com ELISA de BrdU de acordo com as instruções do fabricante (Roche Nº de catálogo 1669915).

O sinal luminescente foi quantificado por um leitor de placas Synergy HT (Bio-Tek). Os dados foram ajustados para uma dose-resposta sigmóide com inclinação variável com a equação $y = inferior + (superior - inferior) / (1 + 10^{(\log(EC_{50} - x) * inclinação)})$ em GraphPad Prism (GraphPad Software). Cada experimento foi repetido pelo menos 3 vezes em duplicatas e os valores de EC₅₀ médios são apresentados na Tabela 7.

TABELA 7

Anticorpo	IC ₅₀ (nM)
1A3	4,69
1D3	4,99
1F3	1,94
2B8	1,41
2F8	19,24
3A12	30,30
3B6	36,08
3D11	51,12

Os resultados na Tabela 7 demonstram que todos os anticorpos 1A3, 1D3, 1F3, 2B8, 2F8, 3A12, 3B6, e 3D11 inibem a proliferação induzida por HGF em células 4MBr-5.

Exemplo 8 - Atividade Antidispersão de Anticorpos Anti-hHGF

Este Exemplo descreve uma caracterização dos anticorpos produzidos no Exemplo 1 quanto a sua habilidade de inibir a atividade de dispersão induzida por HGF. HGF induz "dispersão" (motilidade) de aglomerados em células MDCK (ATCC, Manassas, VA, Nº de catálogo CCL-34).

Células MDCK foram semeadas em placas de cultura de tecido de 96 cavidades Costar (Corning Incorporated, Corning, NY, Nº de catálogo 3595) em uma densidade de 4×10^3 células por cavidade em 80 µL de MEM (ATCC, Manassas, VA, Nº de catálogo 30-2003) contendo 10% de Soro Fetal Bovino (Invitrogen Nº de catálogo 10438026), e 1% de penicilina-estrepto-

mcina (Invitrogen, N° de catálogo 15140122). Cada um dos anticorpos a ser investigado foi diluído para 6.667 nM em MEM contendo 10% de Soro Fetal Bovino e 1% de penicilina-estreptomicina. Cada uma das diferentes diluições de anticorpo, assim como MEM contendo 10% de Soro Fetal Bovino e 1% de penicilina-estreptomicina sem anticorpo, foi então combinada separadamente com um volume igual de MEM contendo 10% de Soro Fetal Bovino e 1% de penicilina-estreptomicina, e 100 ng/ml de HGF (R&D Systems N° de catálogo 294-HGN-025). As diluições de anticorpo/HGF foram incubadas por 30 minutos a 25°C. Vinte µL de cada diluição de anticorpo/HGF foi adicionada separadamente às cavidades individuais, gerando uma concentração final de anticorpo de 666,7 nM, e uma concentração final de HGF de 10 ng/ml. As células MDCK foram então incubadas por 24 horas a 37°C com 5% de CO₂.

Após 24 horas de incubação, as células MDCK foram cuidadosamente lavadas uma vez com 100 µL por cavidade de PBS gelado (Invitrogen N° de catálogo 14190144), e fixadas com 100 µL por cavidade de metanol gelado durante agitação por 10 minutos a 25°C. As placas foram então lavadas cuidadosamente uma vez com água destilada. Um volume de 100 µL de solução de cristal violeta, consistindo em 0,5% de cristal violeta (Sigma, St. Louis, MO, N° de catálogo C3886) e etanol a 50% em água destilada, foi adicionado a cada cavidade, e as células foram incubadas por 20 minutos a 25°C com agitação.

Após a marcação com solução de cristal violeta, as células foram lavadas cuidadosamente três vezes com água destilada. A seguir, PBS foi adicionado a cada cavidade para evitar o ressecamento das amostras. As células foram visualizadas usando o microscópio Leica DMIRB (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Alemanha), a câmera DC500 (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany), e o programa MagnaFire 2.1C (Optronics, Goleta, CA), e as amostras foram quantificadas quanto ao nível de dispersão. Os resultados estão resumidos na Tabela 8.

TABELA 8

Inibição da Dispersão de célula MDCK induzida por HGF		
Anticorpo	Teste 1	Teste 2
1A3	++	+
1D3	++	++
1F3	+	+
2B8	+++	+++
2F8	+	+
3A12	-	-/+
3B6	++	++
3D11	-	-

- Nenhuma inibição

+++ Inibição muito grande, quase completa

++ Inibição forte

5 + Inibição detectável

Os resultados na Tabela 8 demonstram que o anticorpo 2B8 inibiu a dispersão induzida por HGF mais do que os outros anticorpos. Os anticorpos 1D3 e 3B6 apresentaram um nível de inibição intermediário; o anticorpo 1A3 apresentou um nível de inibição baixo a intermediário. Os anticorpos 1F3 e 2F8 apresentaram um nível de inibição baixo; e os anticorpos 3A12 e 3D11 forneceram pouca ou nenhuma inibição detectável.

Exemplo 9 – Inibição de Fosforilação de c-Met estimulada por HGF

Este Exemplo descreve uma caracterização dos anticorpos produzidos no Exemplo 1 quanto a sua habilidade de inibir a fosforilação de c-Met estimulada por HGF em células PC-3. HGF induz a fosforilação de Met em células PC-3 (ATCC No. CRL-1435).

As células PC-3 foram semeadas em cavidades individuais de placas de cultura de tecido de 96 cavidades Costar (Corning Nº de catálogo 3595) em uma densidade de $4,5 \times 10^4$ células por cavidade em 100 µL de F-12K (ATCC, Manassas, VA, Nº de catálogo 30-2004) contendo 10% de Soro Fetal Bovino (Invitrogen, Nº de catálogo 10438026) e 1% de penicilina-estreptomicina (Invitrogen, Nº de catálogo 15140122). Após 24 horas a 37°C com 5% de CO₂, o meio foi removido, e as células foram enxaguadas uma vez com F-12K sem soro contendo 1% de penicilina-estreptomicina. As células foram então incubadas por 24 horas em 100 µL de F-12K sem soro contendo 1% de penicilina-estreptomicina.

As 10 diferentes diluições a seguir de cada um dos anticorpos sendo investigados foram preparadas em F-12K sem soro contendo 1% de penicilina-estreptomicina: 6667 nM, 2222 nM, 741 nM; 247 nM; 82,3 nM; 27,4 nM; 9,1 nM; 3,0 nM; 1,0 nM; e 0,3 nM. Cada diluição de anticorpo, e F-12K sem soro contendo 1% de penicilina-estreptomicina sem anticorpo, foram combinadas separadamente com um volume igual de F-12K sem soro contendo 1% de penicilina-estreptomicina e 500 ng/mL de HGF (R&D Systems Nº de catálogo 294-HGN-025). Estas diluições de anticorpo/HGF foram incubadas por 30 minutos a 25°C. Isto resultou em uma concentração final de 1,25 nM de HGF.

As células PC-3 foram lavadas uma vez com F-12K sem soro contendo 1% de penicilina-estreptomicina. A seguir, 70 µL de F-12K sem soro contendo 1% de penicilina-estreptomicina foi adicionado às células, seguido por 10 µL de Na₃VO₄ a 10 mM (Sigma, Nº de catálogo S6508) em F-12K sem soro contendo 1% de penicilina-estreptomicina. As células foram então incubadas por 60 minutos a 37°C com 5% de CO₂. Após esta incubação, 20 µL de cada diluição de anticorpo/HGF foi adicionada aos separadamente a cavidades separados, produzindo uma concentração final de HGF de 50 ng/mL, e as seguintes concentrações finais de cada anticorpo 666,7 nM; 222,2 nM; 74,1 nM; 24,7 nM; 8,23 nM; 2,74 nM; 0,91 nM; 0,30 nM; 0,10 nM; 0,03 nM. As células foram então incubadas por 10 minutos a 37°C com 5% de CO₂, e após isto, a mistura de meio/anticorpo/HGF foi removida, as placas foram plaqueadas em gelo. As células foram então lavadas uma vez com 100 µL por cavidade de PBS gelado (Invitrogen, Nº de catálogo 14190144) contendo 1 mM de Na₃VO₄. As células foram então incubadas por 30 minutos a 4°C em 100 µL por cavidade de tampão de lise gelado consistindo em 1% de OmniPur Triton X-100 (MERCK KGaA, Darmstadt, Alemanha, Nº de catálogo 9410), 50 mM de Tris-HCl pH 8,0, 100 mM de NaCl, 0,3 mM de Na₃VO₄, coquetel de inibidor de protease a 1x (Sigma, Nº de catálogo P8340), e coquetel de inibidor de protease 2 a 1x (Sigma, Nº de catálogo 5726).

Anticorpo anti-HGF-R humano biotinilado (c-met) (R&D Systems,

Nº de catálogo BAF358) foi diluído para uma concentração de 2 µg/mL em tampão de ensaio DELFIA Assay Buffer (PerkinElmer, Turku, Finland, Nº de catálogo 4002-0010) contendo 1% de albumina sérica bovina (Sigma Nº de catálogo A2153), e 50 µL por cavidade desta diluição foram adicionados de
5 placas de microtitulação de estreptavidina amarela (PerkinElmer, Nº de catálogo AAAND-0005). As placas foram então incubadas com anticorpo por 30 minutos a 25°C com agitação. Após a incubação, as placas foram lavadas com solução de lavagem DELFIA (PerkinElmer, Nº de catálogo 4010-0010), e 80 µL de cada um dos diferentes lisados de células PC-3 foram adiciona-
10 dos a cavidades individuais das placas de microtitulação de estreptavidina lavadas.

As placas de microtitulação de estreptavidina contendo lisados de células PC-3 foram incubadas por 60 minutos a 25°C com agitação, e então lavadas com solução de lavagem DELFIA. 100 µL de 600 ng/mL de
15 anticorpo DELFIA Eu-N1 P-Tyr-100 (PerkinElmer, Nº de catálogo AD0159) diluído em DELFIA Assay Buffer contendo 1% de albumina sérica bovina foi adicionada a cada cavidade das placas de microtitulação de estreptavidina lavadas incubadas previamente com lisados de células PC-3. As placas foram incubadas por 60 minutos a 25°C, com agitação. As placas foram lava-
20 das mais uma vez com solução de lavagem DELFIA. Então, 200 µL de DELFIA Enhancement Solution (PerkinElmer Nº de catálogo 4001-0010) foram adicionados a cada cavidade das placas de microtitulação de estreptavina lavadas, e as placas foram incubadas no escuro por 5 minutos e 25°C, com agitação.

25 O sinal foi então medido usando o protocolo de Európio no leitor Victor3V (PerkinElmer). Os valores de EC₅₀ foram calculados usando Prism 4 para Windows (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) e a equação dose-resposta sigmóide.

Os resultados resumidos como EC₅₀s em nM estão tabulados
30 na Tabela 9.

TABELA 9

Anticorpo	Média de dois testes	Desvio Padrão
1A3	0,684	0,242
1D3	0,984	0,129
1F3	1,19	1,01
2B8	0,287	0,104
2F8	1,39	2,12
3A12	2,00	0,553
3B6	1,01	1,11
3D11	2,28	N/A

Os dados na Tabela 9 demonstram que todos os oito anticorpos são potentes inibidores da fosforilação de c-Met induzida por HGF em células PC-3.

5 Exemplo 10 – Inibição de Tumor em Modelo de Xenoenxerto de U87MG

A habilidade de anticorpos monoclonais murinos da invenção inibirem o crescimento tumoral foi testada em um modelo de xenoenxerto de U87MG. Células U87MG (ATCC) foram expandidas em cultura a 37°C em uma atmosfera contendo 5% de CO₂ e 95% de ar, usando um meio que compreende meio de Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM) com 10% de soro fetal bovino, 100 unidades/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina. As células foram subcultivadas e mantidas por desprender as células da parede da placa de cultura usando tripsina-EDTA.

Células quase confluentes foram coletadas por tripsinização e então 5 x 10⁶ células em Matrigel 50% (BD Biosciences; Nº de catálogo 356237) foram injetadas subcutaneamente na área dorsal superior entre a escápula de camundongos ICR SCID fêmeas de 7 semanas de idade (Taconic Labs). Os diâmetros (mm) mais longos (L) e mais curtos (W) dos tumores foram medidos com um compasso de calibre. O volume tumoral (vol) foi calculado como: (mm³) = L x W² / 2. Quando os tumores cresceram para aproximadamente 200 mm³, os camundongos que possuíam os tumores foram randomizados em 5 grupos de 10 camundongos cada. Um grupo recebeu PBS. Cada um dos outros 4 grupos recebeu um dos anticorpos 1A3, 1D3, 1F3 ou 2B8. Todos os anticorpos foram administrados em doses de 1 mg/kg de peso corporal, duas vezes por semana, por injeções intraperitoneais de 5 doses. Os volumes tumorais e os pesos corporais dos camundongos foram

registrados duas vezes por semana. A inibição do crescimento tumoral foi analisada usando o teste de *t*-Student. Os resultados estão resumidos na Figura 6 e na Tabela 10.

TABELA 10

Porcentagem de inibição		
2B8 vs PBS	93%	$p = 0,001$
1A3 vs PBS	73%	$p = 0,0075$
1D3 vs PBS	51%	$p = 0,075$
1F3 vs PBS	60%	$p = 0,027$

5 Regressão parcial foi obtida no grupo tratado com 2B8 (Figura 6). Inibição estatisticamente significativa do crescimento foi observada nos grupos tratados com 1A3 e nos tratados com 1F3 (Tabela 10). Houve uma inibição de crescimento do tumor de 51% para 1D3 com um valor de p de 0,075. Nenhuma perda corporal significativa foi observada.

10 **Exemplo 11 – Inibição de Tumor em Modelo de Xenoenxerto de U118**

A habilidade dos anticorpos 1A3, 1D3, 1F3 e 2B8 em inibir o crescimento tumoral foi testado em um modelo de xenoenxerto de U118. Células U118 (ATCC) foram expandidas como descrito no Exemplo 10 (acima) com relação às células U87MG.

15 Tumores subcutâneos foram estabelecidos como descrito no Exemplo 10 acima, exceto que os camundongos usados eram camundongos nude NCr fêmeas de 7 semanas de idade (Taconic), e o tratamento foi iniciado quando os tumores atingiram aproximadamente 80 mm³. Como no modelo de U87MG, todos os anticorpos foram administrados em doses de 1
20 mg/kg de peso corporal duas vezes por semana por injeções intraperitoneais por 4 doses. Os volumes tumorais e os pesos corporais dos camundongos foram registrados duas vezes por semana. A inibição do crescimento do tumor foi analisada usando o teste de *t*-Student. Os resultados estão resumidos na Figura 7 e na Tabela 11.

25 **Tabela 11**

Porcentagem de inibição		
2B8 vs IgG	75%	$p = 0,007$
1A3 vs IgG	57%	$p = 0,01$
1D3 vs IgG	47%	$p = 0,12$
1F3 vs IgG	30%	$p = 0,39$

Inibição do tumor estatisticamente significativa foi observada nos grupos tratados com 2B8 e 1A3 (Figura 7). Houve uma modesta inibição do crescimento do tumor nos grupos de 1F3 e 1D3 com valores de p menores do que 0,05, o qual foi definido como significância estatística neste estudo (Tabela 11). Nenhuma perda de peso corporal significativa foi observada.

Exemplo 12 – Humanização de Anticorpos Monoclonais Murinos

Este Exemplo descreve a humanização do anticorpo murino 2B8, junto com uma caracterização dos anticorpos humanizados resultantes, as regiões Variáveis de Cadeia Pesada e Leve de 2B8 foram "humanizadas" por dois métodos.

A. Procedimento de Humanização 1

No primeiro método, três regiões variáveis de cadeia pesada humanizadas e duas regiões variáveis de cadeia leve capa humanizadas foram desenhadas com base no método de "super-humanização" descrito em Hwang *et al.* (2005) METHODS 36:35-42; Tan *et al.* (2002) J. IMMUNOL. 169:1119-1125; Patente U.S. Nº 6.881,557.

A classe estrutural canônica de Chothia foi determinada para cada CDR de 2B8 de camundongo com base o comprimento e na composição de aminoácidos da CDR. As regiões variáveis de linhagem germinativa humanas que consistem em regiões variáveis leves e pesadas da mesma classe estrutural canônica de Chothia foram identificadas com base em alelos de referência da região variável de linhagem germinativa humana conhecidos descritos no site da internet do International Immunogenetics Information System (IMGT) (disponível na rede de alcance mundial em imgt.cines.fr e biochem.unizh.ch/antibody/Sequences/index.html). Estas regiões variáveis de linhagem germinativa humana da mesma classe estrutural foram comparadas a regiões variáveis de 2B8 de murino por calcular o percentual de identidade ou similaridade entre os resíduos de aminoácido da CDR. As regiões variáveis de linhagem germinativa humanas com a maior identidade e/ou similaridade com os resíduos da CDR de 2B8 de camundongo foram preservadas, enquanto que os resíduos da CDR de 2B8 foram usados para substituir os resíduos correspondentes da região variável de linhagem ger-

minativa humana que eram diferentes entre as CDRs de linhagem germinativa humana e CDR de 2B8 de camundongo. A região J humana que era a mais semelhante à região J de camundongo de 2B8 foi então adicionada à terminação carboxila das regiões variáveis "super-humanizadas" e estas sequências de aminoácido foram convertidas em sequências de ácido nucléi-

co.

A sequência de ácido nucléico da região variável completa foi construída usando métodos de síntese de gene por PCR (Young *et al.* (2004) NUCL. ACIDS RES. 32:e59) e clonadas em um vetor de expressão em mamífero (baseado em pcDNA3.2 DEST (Invitrogen)) contendo regiões constantes humanas (a jusante das regiões variáveis) de IgG1 (alótipo G1m(17,1)) ou Capa (alótipo Km(3) (alelo 2)) usando técnicas de biologia molecular usuais. Todos os quatro anticorpos de IgG1 de cadeia pesada (de 2B8 quimérico a 3 cadeias pesadas humanizadas (Hu2B8 Hv1-f.1, Hu2B8 Hv5-a.1, Hu2B8 Hv5-51.1) foram expressos nas combinações possíveis com todos os 3 anticorpos de cadeia capa (quimera de 2B8 e 2 cadeias leves humanizadas (Hu2B8 Kv1-39.1 e Hu2B8 Kv3-15.1) criando 12 proteínas de anticorpo diferentes. A ligação dos anticorpos quiméricos, quiméricos/humanizados e humanizados a HGF humano foi então medida como descrito abaixo e os resultados estão resumidos na Figura 8. Cada uma das possíveis combinações de cadeia pesada de imunoglobulina e cadeia leve de imunoglobulina são descritas abaixo na Tabela 12A.

Tabela 12A

Região variável da cadeia pesada	Região variável da cadeia leve
2B8 quimérico (SEQ ID NO: 12)	2B8 quimérico (SEQ ID NO: 14)
2B8 quimérico (SEQ ID NO: 12)	Hu2B8 Kv1-39.1 (SEQ ID NO: 173)
2B8 quimérico (SEQ ID NO: 12)	Hu2B8 Kv3-15.1 (SEQ ID NO: 179)
Hu2B8 Hv1-f.1 (SEQ ID NO: 159)	2B8 quimérico (SEQ ID NO: 14)
Hu2B8 Hv1-f.1 (SEQ ID NO: 159)	Hu2B8 Kv1-39.1 (SEQ ID NO: 173)
Hu2B8 Hv1-f.1 (SEQ ID NO: 159)	Hu2B8 Kv3-15.1 (SEQ ID NO: 179)
Hu2B8 Hv5-a.1 (SEQ ID NO: 165)	2B8 quimérico (SEQ ID NO: 14)
Hu2B8 Hv5-a.1 (SEQ ID NO: 165)	Hu2B8 Kv1-39.1 (SEQ ID NO: 173)
Hu2B8 Hv5-a.1 (SEQ ID NO: 165)	Hu2B8 Kv3-15.1 (SEQ ID NO: 179)
Hu2B8 Hv5-51.1 (SEQ ID NO: 169)	2B8 quimérico (SEQ ID NO: 14)
Hu2B8 Hv5-51.1 (SEQ ID NO: 169)	Hu2B8 Kv1-39.1 (SEQ ID NO: 173)
Hu2B8 Hv5-51.1 (SEQ ID NO: 169)	Hu2B8 Kv3-15.1 (SEQ ID NO: 179)

Cada uma das combinações possíveis das cadeias pesadas de imunoglobulina e cadeias leves de imunoglobulinas é descrita abaixo na Tabela 12B.

Tabela 12B

Cadeia pesada de imunoglobulina	Cadeia leve de imunoglobulina
IgG1 de 2B8 quimérico (SEQ ID NO: 155)	Capa de 2B8 quimérico (Km(3)) (SEQ ID NO: 157)
IgG1 de 2B8 quimérico (SEQ ID NO: 155)	Hu2B8 Kv1-39.1 + Constante capa (alótipo Km(3)) (alelo 2) (SEQ ID NO: 177)
IgG1 de 2B8 quimérico (SEQ ID NO: 155)	Hu2B8 Kv3-15.1 + Constante capa (alótipo Km(3)) (alelo 2) (SEQ ID NO: 181)
Hu2B8 Hv1-f.1 + Constante de IgG1 alótipo (G1M(17,1)) (SEQ ID NO: 163)	Capa de 2B8 quimérico (Km(3)) (SEQ ID NO: 157)
Hu2B8 Hv1-f.1 + Constante de IgG1 alótipo (G1M(17,1)) (SEQ ID NO: 163)	Hu2B8 Kv1-39.1 + Constante capa (alótipo Km(3)) (alelo 2) (SEQ ID NO: 177)
Hu2B8 Hv1-f.1 + Constante de IgG1 alótipo (G1M(17,1)) (SEQ ID NO: 163)	Hu2B8 Kv3-15.1 + Constante capa (alótipo Km(3)) (alelo 2) (SEQ ID NO: 181)
Hu2B8 Hv5-a.1 + Constante de IgG1 alótipo (G1M(17,1)) (SEQ ID NO: 167)	Capa de 2B8 quimérico (Km(3)) (SEQ ID NO: 157)
Hu2B8 Hv5-a.1 + Constante de IgG1 alótipo (G1M(17,1)) (SEQ ID NO: 167)	Hu2B8 Kv1-39.1 + Constante capa (alótipo Km(3)) (alelo 2) (SEQ ID NO: 177)
Hu2B8 Hv5-a.1 + Constante de IgG1 alótipo (G1M(17,1)) (SEQ ID NO: 167)	Hu2B8 Kv3-15.1 + Constante capa (alótipo Km(3)) (alelo 2) (SEQ ID NO: 181)
Hu2B8 Hv5-51.1 + Constante de IgG1 alótipo (G1M(17,1)) (SEQ ID NO: 171)	Capa de 2B8 quimérico (Km(3)) (SEQ ID NO: 157)
Hu2B8 Hv5-51.1 + Constante de IgG1 alótipo (G1M(17,1)) (SEQ ID NO: 171)	Hu2B8 Kv1-39.1 + Constante capa (alótipo Km(3)) (alelo 2) (SEQ ID NO: 177)
Hu2B8 Hv5-51.1 + Constante de IgG1 alótipo (G1M(17,1)) (SEQ ID NO: 171)	Hu2B8 Kv3-15.1 + Constante capa (alótipo Km(3)) (alelo 2) (SEQ ID NO: 181)

- 5 Dois dos possíveis construtos de anticorpo que contêm as cadeias pesadas e leves de imunoglobulina de extensão completa contendo as regiões variáveis humanizadas são designados abaixo.

sh2B8-9 (G1m(17,1)) = hu2B8 Hv5-51.1 (+ região constante de IgG1 (alótipo G1m(17,1)) (SEQ ID NO. 171) mais hu2B8 Kv 1-39.1 (+ região constante Capa (alótipo Km(3) (alelo 2))) (SEQ ID NO. 177)

10

sh2B8-12 (G1m(17,1)) = hu2B8 Hv5-51.1 (+ região constante de IgG1 (alótipo G1m(17,1))) (SEQ ID NO. 171) mais hu2B8 Kv 3-15.1 (+ região constante Capa (alótipo Km(3) (alelo 2))) (SEQ ID NO. 181).

- As sequências de ácido nucléico codificantes e as sequências
- 15 de proteína que definem cada um dos anticorpos humanizados estão resumidas abaixo. Nesta seção, o último nucleotídeo de cada região variável é a primeira base do próximo códon gerado pela junção da região variável/cons-

tante. Este nucleotídeo está incluído na Região Variável porque ele faz parte deste éxon. Sequências de aminoácido de Regiões Constantes listadas abaixo incluem a tradução deste códon de junção.

5 (1) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Cadeia Pesada de 2B8 Quimérico de Extensão Completa (Região Variável de Camundongo e Região Constante de IgG1 humana) (alótipo G1m(17,1)) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 154)

```

1  atgggatgga gctatatcat cctctttttg gtagcaacag ctacagatgt ccaactcccag
61  gtccaactgc agcagcctgg ggctgaactg gtgaagcctg ggacttcagt gaagctgtcc
10 121  tgcaaggcct ctggctacac cttcaccacc tactggatgc actgggtgaa tcagaggcct
181  ggacaaggcc ttgagtggat tggagagatt aatcctacca acggtcatac taactacaat
241  gagaagttca agagcaaggc cacactgact gtagacaaat cctccagcac agcctacatg
301  caactcagca gcctgacatc tgaggactct gcggtctatt actgtgcaag aaactatggt
361  ggtagcatct ttgactactg gggccaaggc accactctca cegtctctc agcctccacc
15 421  aagggcccat cggctctccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg
481  gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca
541  ggcgcctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggtgtgac tacagtctc aggactctac
601  tccctcagca gcgtgggtgac cgtgcctctc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc
661  aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt
20 721  gacaaaactc acacatgccc accgtgccc gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc
781  ttctctcttc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca
841  tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtc agttcaactg gtacgtggac
901  ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac
961  cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag
25 1021  tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa
1081  gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag
1141  aaccagggtc gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag
1201  tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccggt gctggactcc
1261  gacggctcct tcttctctca cagcaagctc accgtggaca agagcagggt gcagcagggg
30 1321  aacgtctctt catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc
1381  ctctccctgt ctccgggtaa atga

```

(2) Sequência de Proteína que Define a Cadeia Pesada de 2B8

Quimérico de Extensão Completa (IgG1 de 2B8 Quimérico (alótipo G1m (17,1)) (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 155)

1 qvqlqqpgae lvkpgtsvkl sckasgytft tywmhwnqr pgqglewige inptnghtny
 61 nekfkskatl tvdkssstay mqlssltsed savvyycarny vgsifdywgq gttltvssas
 5 121 tkgpsvfpla psskstsggt aalgclvkdy fpepvtvswn sgaltsgvht fpavllqssgl
 181 yslssvvtvp ssslgtqtyi cnvnhkpsnt kvdkkvepks cdkthtccppc papellggps
 241 vflfppkpkd tlmisrtpev tcvvvdvshe dpevkfnwyv dgvevhnakt kpreeqynst
 301 yrvvsvltvl hqdwlngkey kckvsnkalp apiektiska kgqprepvy tlpssrdelt
 361 knqvsltclv kgfypsdiav ewesngqpen nykttppvld sdgsfflysk ltvdksrwqq
 10 421 gnvfscsvmh ealhnhytgk slslspgk

(3) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Cadeia Leve de Extensão Completa de 2B8 Quimérico (Região Variável de Camundongo e Região Constante Humana) (Capa de 2B8 Quimérico (Km(3))) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 156)

15 1 atggaatcac agactctggt cttcatatcc atactgctct gggtatatgg tgctgatggg
 61 aacattgtaa tgacccaatc tcccaaatcc atgtccatgt cagtaggaga gagggtcacc
 121 ttgagctgca aggccagtga gaatgtgggt tcttatgtat cctggatatca acagaaacca
 181 gcgcagtctc ctaaaactgct gatatacggg gcatccaacc ggaacactgg ggtccccgat
 241 cgcttcacag gcagtggatc tgcaacagat ttcactctga ccatcagcag tgtgcggggc
 20 301 gaagaccttg cagattatca ctgtgggcag agttacaact atccgtacac gttcggaggg
 361 gggaccaggc tggaaataaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccccca
 421 tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat
 481 cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggt gataacgccc tccaatcggg taactcccag
 541 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg
 25 601 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc
 661 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttga

(4) Sequência de Proteína que Define a Cadeia Leve de Extensão Completa de 2B8 Quimérico (Capa de 2B8 Quimérico (Km(3))) (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 157)

30 1 nivmtqspks msmsvgervt lsckasenvv syvswyqqkp aqspklliylg asnrntgvpd
 61 rftgsgsatd ftltiissvra edladyhcgq synpytfgg gtrleikrtv aapsvfifpp
 121 sdeqlksgta svvcllnnfy preakvqwk v dnalqsgnsq esvteqdskd styslsstlt

181 lskadyekhk vyacevthqg lsspvtksfm rgec

(5) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Região Variável da Cadeia Pesada de Hu2B8 Hv1-f.1 Humanizado (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 158)

5 1 atggactgca cctggaggat cctcctcttg gtggcagcag ctacaggcac ccacgcc-
gag

61 gtccagctgg tacagtctgg ggctgagggtg aagaagcctg gggctacagt gaaaatctcc

121 tgcaaggttt ctggatacac cttcaccacc tactggatgc actgggtgca acaggcccct

181 ggaaaagggc ttgagtggat gggagagatt aatcctacca acggtcatac taactacaat

10 241 gagaagttcc agggcagagt caccataacc gcggacacgt ctacagacac agcctacatg

301 gagctgagca gcctgagatc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgcaac aaactatggt

361 ggtagcatct ttgactactg gggccaagga accctgggtca cgtctcctc ag

(6) Sequência de Proteína que Define a Região Variável da Cadeia Pesada de Hu2B8 Hv1-f.1 Humanizado (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 159)

15 1 evqlvqsgae vkkpgatvki sckvsgytft tywmhwvqqa pgkglewmge inptnghtny

61 nekfggrvti tadtstdtay melsslrse d tavyycatny vgsifydwgq gtlvtvss

(7) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 Humana (alótipo G1m(17,1)) (SEQ ID NO. 160)

20 1 cctccaccaa gggcccatcg gtcttcccc tggcaccctc ctccaagagc acctctgggg

61 gcacagcggc cctgggctgc ctggtcaagg actacttccc cgaaccggtg acggtgtcgt

121 ggaactcagg cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta cagtctcag

181 gactctactc cctcagcagc gtggtgaccg tgccctccag cagcttgggc accagacct

25 241 acatctgcaa cgtgaatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaaa gttgagccca

301 aatcttgtga caaaactcac acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc ctggggggac

361 cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc cggaccctg

421 aggtcacatg cgtggtggtg gacgtgagcc acgaagacct tgaggtcaag ttcaactggt

481 acgtggacgg cgtggagggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagtacaaca

30 541 gcacgtaccg tgtggtcagc gtctcaccg tcttgacca ggactggctg aatggcaagg

601 agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca

661 aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gccccatcc cgggatgagc

721 tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tgggtcaaagg cttctatccc agcgacatcg
 781 ccgtggagtg ggagagcaat gggcagcccg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc
 841 tggactccga cggctccttc ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc
 901 agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcattgaggc tctgcacaac cactacacgc
 5 961 agaagagcct ctccctgtct cggggtaaat ga

(8) Sequência de Proteína que Define a Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 Humana (alótipo G1m(17,1)) (SEQ ID NO. 161). O primeiro aminoácido é derivado da tradução do último nucleotídeo da região variável e dos dois nucleotídeos do início da sequência da Cadeia Pesada de IgG1.

1 astkgpsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wnsaltsgv htfpavlqss
 61 glyslssvvt vpssslgtqt yicnvnhkps ntkvdkkvep kscdkthtcp pcpapellgg
 121 psvflfppkp kdtlmisrtp evtcvvvds hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyn
 181 styrvvsvlt vlhqdwlngk eykckvsnka lpapiektis kakggprepq vytlppsrd
 15 241 ltknqvsltc lvkgfypsdi avewesnggp ennykttpv ldsdgsffly skltvdksrw
 301 qqgnvfscsv mhealhnhyt qkslsispk

(9) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Região Variável da Cadeia Pesada de Hu2B8 Hv1f.1 Humanizado de Extensão Completa e a Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 humana (alótipo G1m(17,1)) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 162)

1 atggactgca cctggaggat cctcctcttg gtggcagcag ctacaggcac ccacgccgag
 61 gtccagctgg tacagtctgg ggctgaggtg aagaagcctg gggctacagt gaaaatctcc
 121 tgcaaggttt ctggatacac cttcaccacc tactggatgc actgggtgca acaggccct
 181 ggaaaagggc ttgagtggat gggagagatt aatcctacca acggtcatac taactacaat
 25 241 gagaagttcc agggcagagt caccataacc gcggacacgt ctacagacac agcctacatg
 301 gagctgagca gcctgagatc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgcaac aaactatgtt
 361 ggtagcatct ttgactactg gggccaagga acctgggtca cgtctcttc agcctccacc
 421 aagggcccat cggtcttccc cctggcacc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg
 481 gccctgggt gcttggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca
 541 ggcgcctga ccagcggcgt gcacaccttc cgggctgtcc tacagtctc aggactctac
 30 601 tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc
 661 aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt

721 gacaaaactc acacatgccc accgtgccc gcacctgaac tectgggggg accgtcagtc
 781 ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca
 841 tgcgtgggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac
 901 ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcggggagg agcagtacaa cagcacgtac
 5 961 cgtgtgggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag
 1021 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa
 1081 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag
 1141 aaccagggtca gctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag
 1201 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccg tctggactcc
 10 1261 gacggctcct tcttctctca cagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg
 1321 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc
 1381 ctctccctgt ctccgggtaa atga

(10) Sequência de Proteína que Define a Região Variável da
 Cadeia Pesada de Extensão Completa de Hu2B8 Hv1f.1 Humanizado e a
 15 Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 Humana (alótipo G1m(17,1))
 (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 163)

1 evqlvqsgae vkkpgatvki sckvsgytft tywmhvwqqa pgkglewmge inptnghtny
 61 nekfqgrvti tadtstdtay melsslr sed tavyycatny vgsifdywgq gtlvtvssas
 121 tkgpsvfpla psskstsggt aalgclvkdy fpepvtvsw n sgaltsgvht fpavqlssgl
 20 181 yslssvvtvp ssslgtqti cnvnhkpsnt kvdkkvepks cdkthtcppc papellggps
 241 vflfppkpkd tlmisrtpev tcvvvdvshe dpevkfnwyv dgvevhnakt kpreeqynst
 301 yrvsvltvl hqdwlngkey kckvsnk al p iektiska kgqprepvy tlppsr delt
 361 knqvsltclv kgfypsdiav ewesngqpen nykttppvld sdgsfflysk ltvdksrwqg
 421 gnvfscsvmh ealhnhytqk slslspgk

25 (11) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Região Variável da Cadeia Pesada de Hu2B8 Hv5a.1 Humanizado (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 164)

1 atgggggtcaa cgcctatcct cgccctcctc ctggctgttc tccaaggagt ctgtgccgaa
 61 gtgcagctgg tgcagtctgg agcagaggtg aaaaagcccg gggagtctct gaggatctcc
 121 tgtaagggtt ctggatacag ctttaccacc tactggatgc actgggtgcg ccagatgccc
 181 gggaaaggcc tggagtggat gggggagatt aatcctacca acggtcatat taactacaat
 241 ccgtccttcc aaggccacgt caccatctca gctgacaagt ccatcagcac tgcctacctg

301 cagtggagca gcctgaaggc ctcggacacc gccatgtatt actgtgagag aaactatggt
 361 ggtagcatct ttgactactg gggccaagga accctgggtca cegtctctc ag

(12) Sequência de Proteína que Define a Região Variável da Cadeia Pesada de Hu2B8 Hv5a.1 Humanizado (sem sequência de sinal)

5 (SEQ ID NO. 165)

1 evqlvqsgae vkkpgeslri sckgsgysft tywmhwvrqm pgkglewmge inptnghtny
 61 npsfqghvti sadksistay lqwsslkasd tamycarny vgsifdywgq gtlvtvss

(13) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Região Variável da Cadeia Pesada de Extensão Completa de Hu2B8 Hv5a.1 Humanizado e a Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 Humana (alótipo G1m(17,1)) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 166)

1 atgggggtcaa cgcctatcct cgcctctctc ctggctgttc tccaaggagt ctgtgccgaa
 61 gtgcagctgg tgcagtctgg agcagaggtg aaaaagcccg gggagtctct gaggatctcc
 121 tgtaagggtt ctggatacag ctttaccacc tactggatgc actgggtgag ccagatgccc
 15 181 gggaaaggcc tggagtggat gggggagatt aatcctacca acggtcatac taactacaat
 241 ccgtccttcc aaggccacgt caccatctca gctgacaagt ccatcagcac tgcctacctg
 301 cagtggagca gcctgaaggc ctcggacacc gccatgtatt actgtgagag aaactatggt
 361 ggtagcatct ttgactactg gggccaagga accctgggtca cegtctctc agcctccacc
 421 aaggggcccat cggctcttccc cctggcaccg tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg
 20 481 gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca
 541 ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc cgggctgtcc tacagtctc aggactctac
 601 tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccttcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc
 661 aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt
 721 gacaaaactc acacatgccc accgtgcccgc gcacctgaac tctggggggg accgtcagtc
 25 781 ttctcttccc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca
 841 tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac
 901 ggctgtggag tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac
 961 cgtgtgtgtc gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag
 1021 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaacctctc caaagccaaa
 30 1081 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag
 1141 aaccaggtca gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgcctggag
 1201 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccg gctggactcc

1261 gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg
 1321 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc
 1381 ctctccctgt ctccgggtaa atga

5 (14) Sequência de Proteína que Define a Região variável da ca-
deia Pesada de Extensão Completa de Hu2B8 Hv5a.1 Humanizado e
(G1m(17,1) alótipo) a Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 Humana
(sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 167)

1 evqlvqsgae vkkpgeslri sckgsgysft tywmhwvrqm pgkglewmge inptnghtny
 61 npsfqghvti sadksistay lqwsslkasd tamyycarny vgsifdywgq gtlvtvssas
 10 121 tkgpsvfpla psskstsggt aalgclvkdy fpepvtvsw n sgaltsgvht fpavllqssgl
 181 yslssvvtvp ssslgtqtyi cnvnhkpsnt kvdkkvepks cdkthtcppc papellggps
 241 vflfppkpkd tlmisrtpev tcvvvdvshe dpevkfnwyv dgvevhnakt kpreegynst
 301 yrvvsvltvl hqdwlngkey kckvsnkalp apiektiska kggprepqvy tlpssrdelt
 361 knqvsiltclv kgfypsdiav ewesngqpen nykttppvld sdgsfflysk ltvdksrwqg
 15 421 gnvfscsvmh ealhnhytqk slslspgk

(15) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Região variável
da cadeia Pesada de Hu2B8 Hv5-51.1 Humanizado (sequência de sinal sub-
linhada) (SEQ ID NO. 168)

1 atgggggtcaa cgcgccatcct cgcctcctc ctggctgttc tccaaggagt ctgtgccgaa
 20 61 gtgcagctgg tgcagtctgg agcagaggtg aaaaagcccg gggagtctct gaagatctcc
 121 tgtaagggtt ctggatacag ctttaccacc tactggatgc actgggtgcg ccagatgcc
 181 gggaaaggcc tggagtggat gggggagatt aatcctacca acggtcatac taactacaat
 241 ccgtccttcc aaggccaggt caccatctca gctgacaagt ccatcagcac tgcctacctg
 301 cagtggagca gcctgaaggc ctcggaacac gccatgtatt actgtgagag aaactatgtt
 25 361 ggtagcatct ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcctc ag

(16) Sequência de Proteína que Define a Sequência Variável de
Cadeia Pesada de Hu2B8 Hv5-51.1 Humanizado (sem sequência de sinal)
(SEQ ID NO. 169)

1 evqlvqsgae vkkpgeslki sckgsgysft tywmhwvrqm pgkglewmge inptnghtny
 30 61 npsfqgqvti sadksistay lqwsslkasd tamyycarny vgsifdywgq gtlvtvss

(17) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Região variável
da cadeia Pesada de Extensão Completa de Hu2B8 Hv5-51.1 Humanizado e

a Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 Humana (G1m(17,1) alótipo)
(sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 170)

```

1  atggggtcaa cgcctatcct cgccctcctc ctggctgttc tccaaggagt ctgtgccgaa
61  gtgcagctgg tgcagtctgg agcagagggtg aaaaagcccg gggagtctct gaagatctcc
5  121  tgtaagggtt ctggatacag ctttaccacc tactggatgc actgggtgcg ccagatgccc
181  gggaaaggcc tggagtggat gggggagatt aatcctacca acggtcatac taactacaat
241  cgtctcttcc aaggccaggt caccatctca gctgacaagt ccatcagcac tgctacctg
301  cagtggagca gcctgaaggc ctgggacacc gccatgtatt actgtgagag aaactatgtt
361  ggtagcatct ttgactactg gggccaagga accctgggtc cgtctcctc agcctccacc
10  421  aagggcccat cggtcttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg
481  gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca
541  ggcgcctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcttc aggactctac
601  tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
661  aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt
15  721  gacaaaactc acacatgccc accgtgccc gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc
781  ttctcttccc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct ccgggacccc tgaggtcaca
841  tgctgtgtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtc agttcaactg gtacgtggac
901  ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac
961  cgtgtgtgtc gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaa
20  1021 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa
1081  gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat ccgggatga gctgaccaag
1141  aaccagggtc gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgcctggag
1201  tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc
1261  gacggctcct tcttctctca cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg
25  1321 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc
1381  ctctccctgt ctccgggtaa atga

```

(18) Sequência de Proteína que Define a Região variável da ca-
 deia Pesada de Extensão Completa de Hu2B8 Hv5-51.1 Humanizado e a
 Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 Humana (alótipo G1m(17,1))
 30 (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 171)

```

1  evqlvqsgae vkkpgeslki sckgsgysft tywmhwvrqm pgkglewmge inptnghtny
61  npsfqqqvti sadksistay lqwsslkasd tamyycarny vgsifdywgq gtlvtvssas

```

121 tkgpsvfpla psskstsggt aalgclvkdy fpepvtvswn sgaltsgvht fpavlgssgl
 181 yslssvvtvp ssslgtqtyi cnvnhkpsnt kvdkkvepks cdkthtccpc papellggps
 241 vflfppkpkd tlmisrtpev tcvvvdvshe dpevkfnwyv dgvevhnakt kpreeqynst
 301 yrvvsvltvl hqdwlngkey kckvsnkalp apiektiska kgqprepvy tlpssrdelt
 361 knqvsltclv kgfypsdiav ewesngqpen nykttppvld sdgsfflysk ltvdksrwqq
 421 gnvfscsvmh ealhnhytqk slslspgk

5

(19) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Região Variável da Cadeia Capa de Hu2B8 Kv1-39.1 Humanizado (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 172). Dois possíveis ATGs de início são mostrados em letras maiúsculas.

10

1 ATGgacATGa gggccccgc tcagctcctg gggctcctgc tactctggct ccgaggtgcc
 61 agatgtgaca tccagatgac ccagctccca tcctccctgt ctgcatctgt aggagacaga
 121 gtcaccatca cttgcaaggc cagtgagaat gtgggttctt atgtatcctg gtatcagcag
 181 aaaccaggga aagcccctaa gctcctgac tatggggcat ccaaccggaa cactggggtc
 241 ccatcaaggt tcagtggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagtctg
 301 caacctgaag attttgcaac ttactactgt gggcagagtt acaactatcc gtacacgttt
 361 ggccagggga ccaagctgga gatcaaac

15

(20) Sequência de Proteína que Define a Região Variável da Cadeia Capa de Hu2B8 Kv1-39.1 Humanizado (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 173)

20

1 diqmtqspss lsasvgdrvt itckasenvv syvswyqqkp gkapklliyy asnrntgvps
 61 rfsgsgsgtd ftltisslqp edfatyycgq synpytfgq gtleik

(21) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Região Constante da Cadeia Capa Humana (alótipo Km(3)) (alelo 2) (SEQ ID NO. 174)

25

1 gaactgtggc tgcaccatct gtcttcatct tcccgccatc tgatgagcag ttgaaatctg
 61 gaactgcctc tgttgtgtgc ctgctgaata acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt
 121 ggaaggtgga taacgcctc caatcgggta actcccagga gagtgtcaca gagcaggaca
 181 gcaaggacag cacctacagc ctacagcagca ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga
 241 aacacaaagt ctacgcctgc gaagtcaccc atcagggcct gagctcgccc gtcacaaaga
 301 gcttcaacag gggagagtgt tga

30

(22) Sequência de Proteína que Define a Região Constante da Cadeia Capa Humana (alótipo Km(3)) (alelo 2) (SEQ ID NO. 175). O primeiro

aminoácido é derivado da tradução do último nucleotídeo da região variável e dos dois nucleotídeos do início da Sequência da Cadeia Leve Capa.

```
1 rtvaapsvfi fppsdeqlks gtasvvclln nfypreakvq wkvdnalqsg nsqesvteqd
61 skdstyslss tltlskadye khkvacevt hqglsspvtk sfrngec
```

5 (23) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Região Variável da Cadeia Leve de Extensão Completa de Hu2B8 Kv1-39.1 Humanizado e a Região Constante da Cadeia Capa Humana (alótipo Km(3)) (alelo 2) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 176)

```
1 atggacatga gggccccgc tcagctcctg gggctcctgc tactctggct ccgaggtgcc
10 61 agatgtgaca tccagatgac ccagctctcca tctccctgt ctgcatctgt aggagacaga
121 gtcacatca cttgcaaggc cagtgagaat gtggtttctt atgtatcctg gtatcagcag
181 aaaccaggga aagcccctaa gctcctgatc tatggggcat ccaaccggaa cactggggtc
241 ccatcaaggt tcagtggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagctgt
301 caacctgaag attttgcaac ttactactgt gggcagagtt acaactatcc gtacacgttt
15 361 ggccagggga ccaagctgga gatcaaacga actgtggctg caccatctgt cttcatcttc
421 ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac
481 ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca atcgggtaac
541 tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc
601 ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat
20 661 cagggcctga gctcgcccg tcaaaagagc ttcaacaggg gagagtgttg a
```

(24) Sequência de Proteína que Define a Região Variável da Cadeia Leve de Extensão Completa de Hu2B8 Kv1-39.1 Humanizado e a Região Constante da Cadeia Capa Humana (alótipo Km(3)) (alelo 1) (SEQ ID NO. 177)

```
25 1 diqmtqspss lsasvgdrvt itckasenvv syvswyqqkp gkapklliyg asnrntgvps
61 rfsgsgsgtd fttlisslqp edfatyycgq synpytfgq gtleikrtv aapsvfifpp
121 sdeqlksgta svvcllnnfy preakvqwkvd nalqsgnsq esvteqdskd styslssltl
181 lskadyekhk vyacevthqg lsspvtksfn rgec
```

30 (25) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Região Variável da Cadeia Leve de Hu2B8 Kv3-15.1 Humanizado (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 178)

```
1 atggaagccc cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccactgga
```

61 gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc
 121 ctctcctgca aggccagtga gaatgtgggt tcttatgtat cctggtacca gcagaaacct
 181 ggccaggctc ccaggctcct catctatggg gcatccaacc ggaacactgg tatcccagcc
 241 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct
 5 301 gaagattttg cagtttatta ctgtgggcag agttacaact atccgtacac gtttggccag
 361 gggaccaagc tggagatcaa ac

(26) Sequência de Proteína que Define a Região Variável da Cadeia Leve de Hu2B8 Kv3-15.1 Humanizado (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 179)

10 1 eivmtqspat lsvspgerat lsckasenvv syvswyqqkp gqaprlliyl asnrntgipa
 61 rfsgsgsgte ftltisslqs edfavyyccg synpytfgg gtleik

(27) Ácido Nucléico que Codifica a Região Variável de Cadeia Leve de Extensão Completa de Hu2B8 Kv3-15.1 Humanizado e a Região Constante da Cadeia Capa Humana (alótipo Km(3)) (alelo 2) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 180)

1 atggaagccc cagcgcagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccactgga
 61 gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc
 121 ctctcctgca aggccagtga gaatgtgggt tcttatgtat cctggtacca gcagaaacct
 181 ggccaggctc ccaggctcct catctatggg gcatccaacc ggaacactgg tatcccagcc
 20 241 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct
 301 gaagattttg cagtttatta ctgtgggcag agttacaact atccgtacac gtttggccag
 361 gggaccaagc tggagatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcga
 421 tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat
 481 ccagagagg ccaaagtaca gtggaagggt gataacgccc tccaatcggg taactcccag
 25 541 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg
 601 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc
 661 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttga

(28) Sequência de Proteína que Define a Região Variável da Cadeia Leve de Hu2B8 Kv3-15.1 Humanizado e a Região Constante da Cadeia Capa Humana (Km(3) alótipo) (alelo 2) (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 181)

1 eivmtqspat lsvspgerat lsckasenvv syvswyqqkp gqaprlliyl asnrntgipa

61 rfsgsgsgte ftiltisslqs edfavyycgq synpytfgq gtleikrtv aapsvfifpp
 121 sdeqlkshta svvcllnfy preakvqkv dnalqsgnsq esvteqdsd styslsstlt
 181 lskadyekhk vyacevthqg lsspvtksfm rgec

- 5 Para conveniência, a Tabela 13 fornece um quadro de concor-
 dância mostrando uma correspondência entre as sequências de extensão
 completa e os anticorpos discutidos nesta seção com aqueles apresentados
 na Listagem de Sequência.

TABELA 13

SEQ. ID NO.	Proteína ou Ácido Nucléico
154	IgG1 de 2B8 quimérico (G1m(17,1)) – ácido nucléico
155	IgG1 de 2B8 quimérico (G1m(17,1)) – proteína
156	Capa de 2B8 quimérico (Km(3)) – ácido nucléico
157	Capa de 2B8 quimérico (Km(3)) – proteína
158	Região Variável da Cadeia Pesada de Hu2B8 Hv1f.1 – ácido nucléico
159	Região Variável da Cadeia Pesada de Hu2B8 Hv1f.1 – proteína
160	Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 Humana (Alótipo G1m(17,1)) – ácido nucléico
161	Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 Humana (Alótipo G1m(17,1)) – proteína
162	Hu2B8 Hv1f.1 + Constante de IgG1 (Alótipo G1m(17,1)) – ácido nucléico
163	Hu2B8 Hv1f.1 + Constante de IgG1 (Alótipo G1m(17,1)) – proteína
164	Região Variável da Cadeia Pesada de Hu2B8 Hv5a.1 – ácido nucléico
165	Região Variável da Cadeia Pesada de Hu2B8 Hv5a.1 – proteína
166	Hu2B8 Hv5a.1 + Constante de IgG1 (Alótipo G1m(17,1)) – ácido nucléico
167	Hu2B8 Hv5a.1 + Constante de IgG1 (Alótipo G1m(17,1)) – proteína
168	Região Variável da Cadeia Pesada de Hu2B8 Hv5-51.1 – ácido nucléico
169	Região Variável da Cadeia Pesada de Hu2B8 Hv5-51.1 – proteína
170	Hu2B8 Hv5-51.1 + Constante de IgG1 (Alótipo G1m(17,1)) – ácido nucléico
171	Hu2B8 Hv5-51.1 + Constante de IgG1 (Alótipo G1m(17,1)) – proteína
172	Hu2B8 Kv1-39.1 Região Variável de Cadeia Capa – ácido nucléico
173	Hu2B8 Kv1-39.1 Região Variável de Cadeia Capa – proteína
174	Região Constante da Cadeia Capa Humana (Alótipo Km(3)) (alelo 2) – ácido nucléico
175	Região Constante da Cadeia Capa Humana (Alótipo Km(3)) (alelo 2) – proteína
176	Hu2B8 Kv1-39.1 + Constante capa (Alótipo Km(3)) (alelo 2) – ácido nucléico
177	Hu2B8 Kv1-39.1 + Constante capa (Alótipo Km(3)) (alelo 2) – proteína
178	Região Variável de Cadeia Capa de Hu2B8 Kv3-15.1 – ácido nucléico
179	Região Variável de Cadeia Capa de Hu2B8 Kv3-15.1 – proteína
180	Hu2B8 Kv3-15.1 + Constante capa (Alótipo Km(3)) (alelo 2) – ácido nucléico
181	Hu2B8 Kv3-15.1 + Constante capa (Alótipo Km(3)) (alelo 2) – proteína

B. Procedimento de Humanização 2

imunogenicidade do anticorpo 2B8 de camundongo se baseia no método descrito por Studnicka *et al.* (1994) PROTEIN ENG. 7:805-814. As regiões variáveis de linhagem germinativa pesada e capa humanas mais idênticas (em aminoácidos) àquelas de 2B8 de camundongo foram identificadas. Os

5 resíduos que diferiram entre camundongo e humano foram convertidos na sequência humana dependendo da probabilidade do risco de que tal alteração afetasse a ligação ou imunogenicidade. Resíduos de baixo risco (isto é, resíduos que quando trocados provavelmente não afetariam a ligação de antígeno e também reduziriam potencial imunogenicidade) foram trocados

10 para o aminoácido humano na região variável pesada (criando LR2B8HC) e a região variável capa (criando LR2B8LC). Adicionalmente, os resíduos de baixo risco e médio risco (isto é., resíduos que quando trocados têm alguma probabilidade de ter um efeito sobre a ligação e também reduziriam potencial imunogenicidade) foram trocados para o aminoácido humano na região vari-

15 ável pesada (criando LRMR2B8HC) e a região variável capa (criando LRMR2B8LC). A região constante de cadeia pesada de IgG1 (alótipo G1m(3) (alelo 1)) foi adicionada à terminação carboxila de duas regiões variáveis pesadas manipuladas humanas e a região constante capa humana (alótipo Km(3) (alelo 1)) foi adicionada à terminação carboxila de duas regiões variá-

20 veis leves manipuladas, criando assim quatro cadeias de anticorpo humanas manipuladas. Sequências de ácido nucléico da região variável foram primeiro sintetizadas por métodos de síntese gênica e então adicionadas às sequências da região constante humana. Estes anticorpos manipulados foram clonados em vetores de expressão de proteína de mamífero, e a proteína foi

25 expressa nas quatro combinações possíveis de cadeia pesada mais cadeia leve. A ligação dos anticorpos quiméricos, quiméricos/humanizados, ou humanizados a HGF humano foi medida usando técnicas convencionais, conforme descrito abaixo.

As sequências de ácido nucléico codificantes e as sequências

30 de proteína que definem cada um dos anticorpos humanizados estão resumidas abaixo. Nesta seção, o último nucleotídeo de cada região variável é a primeira base do próximo códon gerado pela junção da região variá-

vel/constante. Este nucleotídeo está incluído na Região Variável porque ele faz parte deste éxon. As sequências de aminoácido das Regiões Constantes listadas abaixo incluem a tradução deste códon de junção.

5 (1) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Região Variável da Cadeia Pesada de LR2B8HC Humanizado (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 182)

```

1 atgggctggt catatattat tctctttctt gttgctaccg ctaccgatgt gcactetcaa
61 gtccaactcg tacaaccagg cgctgaagtc gtaaaaccgg gaacatctgt taaactctca
121 tgcaaagcct caggatacac ttccacaact tactggatgc attgggtcaa tcaagcccc
10 181 ggacaaggcc tcgaatggat tggcgaaatt aaccctaacta acggacatac taattataat
241 gaaaaattta agggcaaagc tacactcacc gtcgataaat caacctctac agcttatatg
301 gaactttcat ccctgagatc agaagataca gccgtctact attgcgccag aaactacgta
361 ggatcaatat tcgattactg gggtaaggc actctctca cagtcagctc ag

```

15 (2) Sequência de Proteína que Define a Região Variável da Cadeia Pesada de LR2B8HC Humanizado (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 183)

```

1 qvqlvqpgae vvkpgtsvkl sckasgytft tywmhwnqa pgqglewige inptnghtny
61 nekfkgtatl tvdkststay melsslr sed tavyycarny vgsifdywgq gtlitvss

```

20 (3) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 Humana (Alótipo G1m(3)) (alelo 1) (SEQ ID NO. 184)

```

1 ccagcacaaa gggcccatcg gtcttcccc tggcaccctc ctccaagagc acctctgggg
61 gcacagcggc cctggggtgc ctggtcaagg actacttccc cgaaccgggtg acggtgtcgt
121 ggaactcagg cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta cagtccctcag
25 181 gactctactc cctcagcagc gtggtgaccg tgccctccag cagcttgggc acccagacct
241 acatctgcaa cgtgaatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga gttgagccca
301 aatcttgtga caaaactcac acatgtccac cgtgcccagc acctgaactc ctgggggggac
361 cgtcagtctt cctcttcccc caaaaccca aggacacct catgatctcc cggacccttg
421 aggtcacatg cgtgggtggtg gacgtgagcc acgaagacct tgaggtcaag ttcaactggt
30 481 acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcc aagacaaagg cggggaggag cagtacaaca
541 gcacgtaccg tgtggtcagc gtccctaccg tcctgcacca ggactggctg aatggcaagg
601 agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca

```

661 aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gcccccatcc cgggaggaga
 721 tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tgggtcaaagg cttctatccc agcgacatcg
 781 ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc
 841 tggactccga cggctccttc ttcctctata gcaagctcac cgtggacaag agcagggtggc
 5 901 agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcattgaggc tctgcacaac cactacacgc
 961 agaagagcct ctccctgtcc cggggtaaat ga

(4) Sequência de Proteína que Define a Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 Humana (Alótipo G1m(3)) (alelo 1 ou 2) (SEQ ID NO. 185). O primeiro aminoácido é derivado da tradução do último nucleotídeo da região variável e dos dois nucleotídeos do início da sequência da Cadeia Pesada de IgG1.

1 astkgpsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wnsaltsgv htftpavlqss
 61 glyslssvvt vpssslgtqt yicnvnhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
 121 psvflfppkp kdtlmisrtp evtcvvvdvs hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyn
 15 181 styrvsvlt vlhqdwlngk eyckvsnka lpapiektis kakgqprepq vytlppsree
 241 mtknqvsltc lvkgfypsdi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdksrw
 301 qggnvfscsv mhealhnhyt qkslsispgk

(5) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Região Variável da Cadeia Pesada de de Extensão Completa de LR2B8HC Humanizado e a Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 Humana (Alótipo G1m(3)) (alelo 1) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 186)

1 atgggctggt catatattat tctctttctt gttgctaccg ctaccgatgt gcactctcaa
 61 gtccaactcg tacaaccagg cgctgaagtc gtaaaacccg gaacatctgt taaactctca
 121 tgcaaagcct caggatacac tttcacaact tactggatgc attgggtcaa tcaagcccc
 25 181 ggacaaggcc tcgaatggat tggcgaaatt aaccaacta acggacatac taattataat
 241 gaaaaattta agggcaaagc tacactcacc gtcgataaat caacctctac agcttatatg
 301 gaactttcat ccttgagatc agaagataca gccgtctact attgcgccag aaactacgta
 361 ggatcaatat tcgattactg gggtaaggc actctcctca cagtcagctc agccagcaca
 421 aagggcccat cggctctccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg
 30 481 gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca
 541 ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcttc aggactctac
 601 tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc

661 aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagcc caaatcttgt
 721 gacaaaactc acacatgtcc accgtgccc a gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc
 781 ttctctttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcattgatct cccggacccc tgaggtcaca
 841 tgcgtgggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac
 5 901 ggctgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgctgggagg agcagtacaa cagcacgtac
 961 cgtgtgggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaa
 1021 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa
 1081 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag
 1141 aaccagggtca gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag
 10 1201 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctccctg gctggactcc
 1261 gacggctcct tcttctctta tagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg
 1321 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc
 1381 ctctccctgt ccccggttaa atga

(6) Sequência de Proteína que Define a Região Variável da Ca-
 15 deia Pesada de Extensão Completa de LR2B8HC Humanizado e a Região
 Constante da Cadeia Pesada de IgG1 Humana (Alótipo G1m(3)) (alelo 1)
 (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 187)

1 qvqlvqpgae vvkpgtsvkl sckasgytft tywmhwnqa pggglewige inptnghtny
 61 nekfkgtatl tvdkststay melsslr sed tavyycarny vgsifdywgq gtlltvssas
 20 121 tkgpsvfpla psskstsggt aalgclvkdy fpepvtvsw n sgaltsgvht fpavllqssgl
 181 yslssvvtvp ssslgtqti cnvnhkpsnt kvdkrvepks cdkthtccpc papellggps
 241 vflfpkpkd tlmisrtpev tcvvvdvshe dpevkfnwyv dgvevhnakt kpreeqynst
 301 yrvsvltvl hqdwlngkey kckvsnkalp apiektiska kggprepqvy tlppsreemt
 361 knqvslltclv kgfypsdiav ewesngqpen nykttppvld sdgsfflysk ltvdksrwqg
 25 421 gnvfscsvmh ealhnhytqk slslspgk

(7) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Região Variável
 da Cadeia Pesada de LRMR2B8HC Humanizado (sequência de sinal subli-
 nhada) (SEQ ID NO. 188)

1 atgggttggt catatattat actctttctc gtagccaccg ccaccgacgt acactctcag
 30 61 gttcaactcg tacaaccgg cgccgaagtc aagaaaccag gaacatcagt caaactctca
 121 tgtaaagcaa gcggatacac ctttactact tattggatgc attgggtaag acaagcccc
 181 ggacaaggac tcgaatggat aggcgaata aatcccacta atggacatac aaattataat

241 caaaaatttc aaggacgcgc tacactcacc gtcgataaat caacctcaac cgcatacatg
 301 gaactcagct ccctccgac cgaagacact gccgtttatt attgtgccag aaactatgta
 361 ggatctatatt tcgattactg gggacaagga acacttctca ccgtaagctc ag

5 (8) Sequência de Proteína que Define a Região Variável da Cadeia Pesada de LRMR2B8HC Humanizado (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 189)

1 qvqlvqpgae vkkpgtsvkl sckasgytft tywmhwvrqa pggglewige inptnghtny
 ——— 61 nqkfqgratl tvdkststay melsslrsed tavyycarny vgsifdywgq gtliltvss

10 (9) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Região Variável da Cadeia Pesada de de Extensão Completa de LRMR2B8HC Humanizado e a Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 Humana (Alótipo G1m(3)) (alelo 1) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 190)

1 atggggttggt catatattat actctttctc gtagccaccg ccaccgacgt acactctcag
 61 gttcaactcg tacaaccgg cgccgaagtc aagaaaccag gaacatcagt caaactctca
 15 121 tgtaaagcaa gcggatacac ctttactact tattggatgc attgggtaag acaagcccc
 181 ggacaaggac tcgaatggat aggcgaaata aatcccacta atggacatac aaattataat
 241 caaaaatttc aaggacgcgc tacactcacc gtcgataaat caacctcaac cgcatacatg
 301 gaactcagct ccctccgac cgaagacact gccgtttatt attgtgccag aaactatgta
 361 ggatctatatt tcgattactg gggacaagga acacttctca ccgtaagctc agccagcaca
 20 421 aagggcccat cggctctccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg
 481 gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc ccggaaccgg tgacgggtgc gtggaactca
 541 ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggtgtcc tacagtctc aggactctac
 601 tccctcagca gcgtgggtgac cgtgcctcc agcagcttg gcaccagac ctacatctgc
 661 aacgtgaatc acaagcccg caacaccaag gtggacaaga gagttgagcc caaatcttgt
 25 721 gacaaaactc acacatgtcc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc
 781 ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca
 841 tgcgtgggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac
 901 ggctgggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac
 961 cgtgtgggtc gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag
 30 1021 tgcaagggtc ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa
 1081 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag
 1141 aaccagggtc gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag

1201 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccggt gctggactcc
 1261 gacggctect tcttctctta tagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg
 1321 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc
 1381 ctctccctgt ccccggttaa atga

5 (10) Sequência de Proteína que Define a Região Variável da Cadeia Pesada de Extensão Completa de LRMR2B8HC Humanizado e a Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 Humana (Alótipo G1m(3)) (alelo 1) (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 191)

10 1 qvqlvqpgae vkkpgtsvkl sckasgytft tywmhwvrqa pgqglewige inptnghtny
 61 nqkfqgratl tvdkststay melsslr sed tavyycarny vgsifdywgq gtlltvssas
 121 tkgpsvfpla psskstsggt aalgclvkdy fpepvtvsw n sgaltsgvht fpavllqssgl
 181 yslssvvtvp ssslgtqtyi cnvnhkpsnt kvdkrvepks cdkthtcppc papellggps
 241 vflfppkpkd tlmisrtpev tcvvvdvshe dpevkfnwyv dgvevhnakt kpreeqynst
 301 yrvvsvltvl hqdwlngkey kckvsnkalp apiektiska kggprepqvy tlppsreemt
 15 361 knqvsiltclv kgfypsdiav ewesnggpen nykttppvld sdgsfflysk ltvdksrwqq
 421 gnvfscsvmh ealhnhytqk slslspgk

(11) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Região Variável da Cadeia Leve de LR2B8LC Humanizado (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 192)

20 1 atggaaagtc agacccttgt attcatctct attcttcttt ggttgatgg agcagacggc
 61 gacattgtga tgaccaatc ccccgatagt atggccatga gtgtaggaga aagagtcacc
 121 cttaattgca aagcctccga aaatgtcggt tcatatgtgt cttggtatca aaaaaaaccc
 181 ggccaatcac ccaaacttct catatacggc gttcaaaca gaaacacagg cgttcccgac
 241 agatttagtg gatccggatc agctacagat ttcaccctta ccatcagttc agttcaagca
 25 301 gaagacgttg cagactatca ttgcggacaa tcttataact acccttacac attcggacaa

(12) Sequência de Proteína que Define a Região Variável da Cadeia Leve de LR2B8LC Humanizado (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 193)

30 1 divmtqspds mamsvgervt lncasenvv syvswyqqkp gqspklliyy asnrntgvpd
 61 rfsgsgsatd ftltissvqa edvadyhcgq synpytfgq gtleik

(13) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Região Constante da Cadeia Capa Humana (alótipo Km(3)) (alelo 1) (SEQ ID NO. 194)

1 gtacggtggc tgcaccatct gtcttcatct tcccgccatc tgatgagcag ttgaaatctg
 61 gaactgcctc tgttgtgtgc ctgctgaata acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt
 121 ggaagggtga taacgccctc caatcgggta actcccagga gagtgtcaca gagcaggaca
 181 gcaaggacag cacctacagc ctcagcagca ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga
 5 241 aacacaaagt ctacgcctgc gaagtcaccc atcagggcct gagctcgccc gtcacaaaga
 301 gcttcaacag gggagagtgt tag

(14) Sequência de Proteína que Define a Região Constante da Cadeia Capa Humana (alótipo Km(3)) (alelo 1) (SEQ ID NO. 195). O primeiro aminoácido é derivado da tradução do último nucleotídeo da região variável e dos dois nucleotídeos do início da sequência da Cadeia Leve Capa.

1 rtvaapsvfi fppsdeqlks gtasvvclln nfypreakvq wkvdnalqsg nsqesvteqd
 61 skdstyslss tltlskadye khkvyacevt hqglsspvtk sfnrgec

(15) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Região Variável da Cadeia Leve de Extensão Completa de LR2B8LC Humanizado e a Região Constante da Cadeia Capa Humana (alótipo Km(3)) (alelo 1) (SEQ ID NO. 196)

1 atggaaagtc agacccttgt attcatctct attcttcttt ggttgtagtg agcagacggc
 61 gacatttgta tgaccaatc ccccgatagt atggccatga gtgtaggaga aagagtcacc
 121 cttaattgca aagcctccga aaatgtcggt tcatatgtgt cttggtatca aaaaaaaccc
 20 181 ggccaatcac ccaaacttct catatacggc gtttcaaaca gaaacacagg cggtcccgac
 241 agatttagtg gatccggatc agctacagat ttcacctta ccatcagttc agttcaagca
 301 gaagacggtg cagactatca ttgaggacaa tcttataact acccttacac attcggacaa
 361 ggaaccaaac tcgaaattaa acgtacggtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca
 421 tetgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat
 25 481 ccagagagg ccaaagtaca gtggaagggt gataacgccc tccaatcggg taactccag
 541 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg
 601 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc
 661 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag

(16) Sequência de Proteína que Codifica a Região Variável da Cadeia Leve de Extensão Completa de LR2B8LC Humanizado e a Região Constante da Cadeia Capa Humana (alótipo Km(3)) (alelo 1) (SEQ ID NO. 197)

1 divmtqspds mamsvgervt lnckasenvv syvswyqqkp gqspklliyy asnrntgvpd
 61 rfsgsgsatd ftltissvqa edvadyhcgq synpytfgq gtleikrtv aapsvfifpp
 121 sdeqlksgta svcllnnfy preakvqwkv dnalqsgnsq esvteqdskd styslsstlt
 181 lskadyekhk vyacevthgg lsspvtksfm rgec

5 (17) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Região Variável da Cadeia Leve de LRMR2B8LC Humanizado (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 198)

1 atggaatccc aaacccttgt ttcatctct atccttctct ggctttatgg cgccgacgga
 61 gacatcgtaa tgacacaatc cctgactct cttgctatga gcttgggcca acgagtaaca
 10 121 cttaactgca aagcatccga aaatgtcgta tcttacgtat cctggtatca gcaaaaacct
 181 ggtcaaagtc ctaaacttct tatatatggg gcaagtaatc gtgaaagtgg cgtcccagac
 241 agatttagcg gttcagggtc agcaactgac tttaactta caatttctag cgttcaggcc
 301 gaagacgttg cagactatca ttgtggacaa tcttataact atccttatac tttcggacaa
 361 ggcaactaac ttgaaattaa ac

15 (18) Sequência de Proteína que Define a Região Variável da Cadeia Leve de LRMR2B8LC Humanizado (sem sequência de sinal) (SEQ ID NO. 199)

1 divmtqspds lamslgervt lnckasenvv syvswyqqkp gqspklliyy asnresgvpd
 61 rfsgsgsatd ftltissvqa edvadyhcgq synpytfgq gtleik

20 (19) Sequência de Ácido Nucléico que Codifica a Região Variável da Cadeia Leve de Extensão Completa de LRMR2B8LC Humanizado e a Região Constante da Cadeia Capa Humana (alótipo Km(3)) (alelo 1) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 200)

1 atggaatccc aaacccttgt ttcatctct atccttctct ggctttatgg cgccgacgga
 25 61 gacatcgtaa tgacacaatc cctgactct cttgctatga gcttgggcca acgagtaaca
 121 cttaactgca aagcatccga aaatgtcgta tcttacgtat cctggtatca gcaaaaacct
 181 ggtcaaagtc ctaaacttct tatatatggg gcaagtaatc gtgaaagtgg cgtcccagac
 241 agatttagcg gttcagggtc agcaactgac tttaactta caatttctag cgttcaggcc
 301 gaagacgttg cagactatca ttgtggacaa tcttataact atccttatac tttcggacaa
 30 361 ggcaactaac ttgaaattaa acgtacgggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcga
 421 tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat
 481 cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag

541 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg
 601 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc
 661 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag

5 (20) Sequência de Proteína que Define a Região Variável da Cadeia Leve de Extensão Completa de LRMR2B8LC Humanizado e a Região Constante da Cadeia Capa Humana (alótipo Km(3)) (alelo 1) (SEQ ID NO. 201)

1 divmtqspds lamslgervt lncasenvv syvswyqqkp gqspklliyg asnresgvpd
 61 rfsgsgsatd ftltissvqa edvadyhcgq synpytfgq gtleikrtv aapsvfifpp
 10 121 sdeqlksgta svvcllnnfy preakvqkwv dnalqsgnsq esvteqdsd styslsstlt
 181 lskadyekhk vyacevthqg lsspvtksfm rgec

Para conveniência, a Tabela 14 fornece um quadro de concordância mostrando a correspondência entre as sequências de extensão completa e os anticorpos discutidos nesta seção com aqueles apresentados na Listagem de Sequência.

TABELA 14

SEQ. ID NO.	Proteína ou Ácido Nucléico
182	Região Variável da Cadeia Pesada de LR2B8HC – ácido nucléico
183	Região Variável da Cadeia Pesada de LR2B8HC – proteína
184	Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 Humana (Alótipo G1m(3)) (alelo 1) – ácido nucléico
185	Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 Humana (Alótipo G1m(3)) (alelo 1) – proteína
186	LR2B8HC + Constante de IgG1 (Alótipo G1m(3)) (alelo 1) – ácido nucléico
187	LR2B8HC + Constante de IgG1 (Alótipo G1m(3)) (alelo 1) – proteína
188	LRMR2B8HC Região Variável da Cadeia Pesada – ácido nucléico
189	LRMR2B8HC Região Variável da Cadeia Pesada – proteína
190	LRMR2B8HC + Constante de IgG1 (Alótipo G1m(3)) (alelo 1) – ácido nucléico
191	LRMR2B8HC + Constante de IgG1 (Alótipo G1m(3)) (alelo 1) – proteína
192	Região Variável da Cadeia Leve de LR2B8LC – ácido nucléico
193	Região Variável da Cadeia Leve de LR2B8LC – proteína
194	Região Constante da Cadeia Capa Humana (Alótipo Km(3)) (alelo 1) – ácido nucléico
195	Região Constante da Cadeia Capa Humana (Alótipo Km(3)) (alelo 1) – proteína
196	LR2B8LC + Constante Capa (Alótipo Km(3)) (alelo 1) – ácido nucléico

SEQ. ID NO.	Proteína ou Ácido Nucléico
197	LR2B8LC + Constante Capa (Alótipo Km(3)) (alelo 1) – proteína
198	Região Variável da Cadeia Leve de LRMR2B8LC– ácido nucléico
199	Região Variável da Cadeia Leve de LRMR2B8LC– proteína
200	LRMR2B8LC + Constante Capa (Alótipo Km(3)) (alelo 1) – ácido nucléico
201	LRMR2B8LC + Constante Capa (Alótipo Km(3)) (alelo 1) – proteína

A Tabela 15 resume as sequências de CDR da cadeia pesada (definição de Kabat) dos anticorpos 2B8 humanizados preparados pelo procedimento de humanização 1 e pelo procedimento de humanização 2 descritos acima neste Exemplo.

TABELA 15

Anticorpo	CDR1	CDR2	CDR3	Região Variável da Cadeia Pesada de Extensão Completa
Pesada de 2B8 de Murino	TYWMH (SEQ ID NO: 15)	EINPTNGHTNYNEKFKS (SEQ ID NO: 16)	NYVGSIFDY (SEQ ID NO: 17)	SEQ ID NO: 12
Hu2B8 Hv1f.1	TYWMH (SEQ ID NO: 15)	EINPTNGHTNYNEKFQG (SEQ ID NO: 202)	NYVGSIFDY (SEQ ID NO: 17)	SEQ ID NO: 159
Hu2B8 Hv5a.1	TYWMH (SEQ ID NO: 15)	EINPTNGHTNPNPSFQG (SEQ ID NO: 203)	NYVGSIFDY (SEQ ID NO: 17)	SEQ ID NO: 165
Hu2B8 Hv5- 51.1	TYWMH (SEQ ID NO: 15)	EINPTNGHTNPNPSFQG (SEQ ID NO: 203)	NYVGSIFDY (SEQ ID NO: 17)	SEQ ID NO: 169
LR2B8HC	TYWMH (SEQ ID NO: 15)	EINPTNGHTNYNEKFKG (SEQ ID NO: 204)	NYVGSIFDY (SEQ ID NO: 17)	SEQ ID NO: 183
LRMR2B8HC	TYWMH (SEQ ID NO: 15)	EINPTNGHTNPNQKFKG (SEQ ID NO: 205)	NYVGSIFDY (SEQ ID NO: 17)	SEQ ID NO: 189

A Tabela 16 resume as sequências de CDR da cadeia leve (definição de Kabat) dos anticorpos 2B8 humanizados preparados pelo procedimento de humanização 1 e pelo procedimento de humanização 2 descritos acima neste Exemplo

TABELA 16

Anticorpo	CDR1	CDR2	CDR3	Região Variável da Cadeia Leve de Extensão Completa
Leve de 2B8 de Murino	KASENW/SYVS (SEQ ID NO: 18)	GASNRNT (SEQ ID NO: 19)	GQSYNYPYT (SEQ ID NO: 20)	SEQ ID NO: 14
Hu2B8 Kv1-39.1	KASENW/SYVS (SEQ ID NO: 18)	GASNRNT (SEQ ID NO: 19)	GQSYNYPYT (SEQ ID NO: 20)	SEQ ID NO: 173
Hu2B8 Kv3-15.1	KASENW/SYVS (SEQ ID NO: 18)	GASNRNT (SEQ ID NO: 19)	GQSYNYPYT (SEQ ID NO: 20)	SEQ ID NO: 179
LR2B8LC	KASENW/SYVS (SEQ ID NO: 18)	GASNRNT (SEQ ID NO: 19)	GQSYNYPYT (SEQ ID NO: 20)	SEQ ID NO: 193
LRMR2B8LC	KASENW/SYVS (SEQ ID NO: 18)	GASNRES (SEQ ID NO: 206)	GQSYNYPYT (SEQ ID NO: 20)	SEQ ID NO: 199

C. Afinidade de Ligação de Anticorpos 2B8 Humanizados

A afinidade de ligação ao antígeno e a cinética de interação foram analisadas por tecnologia de ressonância de plásmon de superfície usando um instrumento BIAcore T100. Imunoglobulinas anti-humano de camundongo (Jackson ImmunoResearch Labs, 209-005-098) foram imobilizadas em chips sensores de dextran carboximetilado CM4 (BIAcore, Nº de catálogo BR-1005-34) por acoplamento de amina (BIAcore, Nº de catálogo BR-1000-50) usando um protocolo de acoplamento usual de acordo com as recomendações do fabricante. As análises foram executadas a 25°C usando PBS (GIBCO, Nº de catálogo 14040-133) contendo 0,05% de tensoativo P20 (BIAcore, Nº de catálogo BR-1000-54), 2 mg/mL de BSA (EMD, Nº de catálogo 2930) e 10 mg/mL de Sal de Sódio CM-Dextrano (Fluka, Nº de catálogo 86524) como tampão de corrida.

Os anticorpos foram capturados em uma célula de fluxo individual em uma taxa de fluxo de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$. O tempo de injeção foi variável para cada anticorpo para produzir aproximadamente 20 RU de anticorpo capturado para cada ciclo. Tampão ou HGF (R&D Systems, Nº de catálogo 294-HGN-025) diluído em tampão de corrida foi injetado sequencialmente sobre uma superfície de referência (nenhum anticorpo capturado) e sobre a superfície ativa (anticorpo a ser testado) por 2 minutos a 60 $\mu\text{L}/\text{min}$. A fase de dissociação foi monitorada por 15 ou 90 minutos, dependendo da concentração. A superfície foi então regenerada com 10 mM de Glicina-HCl, pH 1,7 (BIAcore, Nº de catálogo BR-1003-54) injetada por 3 minutos em uma taxa de fluxo de 60 $\mu\text{L}/\text{min}$ antes de outro ciclo ser iniciado. As concentrações de HGF testadas foram 1,88; 3,75 e 7,5 nM. A determinação dos parâmetros de cinética foi obtida usando a função de cinética do programa BIAevaluation com subtração da referência. Os parâmetros de cinética para cada anticorpo k_a (constante da taxa de associação), k_d (constante da taxa de dissociação) e K_D (constante de dissociação de equilíbrio) estão resumidos na Tabela 8.

Os resultados resumidos na Figura 8 mostram que certas combinações de cadeias pesadas super-humanizadas (Hu2B8 Hv5a.1, Hu2B8 Hv5-51.1 ou Hu2B8 Hv1-f.1) e cadeias leves (Hu2B8 Kv1-39.1 ou Hu2B8

Kv3-15.1) retêm afinidade de ligação (K_D) a HGF semelhante a 2B8 quimérico (regiões variáveis de camundongo com regiões constantes humanas) e 2B8 (Tabela 5).

D. Ensaio de ligação mutuamente exclusiva

5 A ligação mutuamente exclusiva a HGF foi avaliada por tecnologia de ressonância de plásmon de superfície usando um instrumento BIAcore T100. Imunoglobulinas anti-humanas de camundongo (Jackson Immuno-
Research Labs, 209-005-098) foram imobilizadas sobre chips sensores CM5
de dextran carboxiladometilado (BIAcore, Nº de catálogo BR-1006-68) por
10 acoplamento de amina (BIAcore, Nº de catálogo BR-1000-50) usando um
protocolo usual de acoplamento de acordo com as recomendações do fabri-
cante. As análises foram realizadas a 25°C usando PBS (GIBCO, Nº de ca-
tálogo 14040-133) contendo 0,05% de tensoativo P20 (BIAcore, No. BR-
1000-54), 2 mg/mL de BSA (EMD, Nº de catálogo 2930), e 10 mg/mL de Sal
15 de Sódio CM-Dextrano (Fluka, Nº de catálogo 86524) como tampão de corri-
da.

Os anticorpos foram capturados em uma célula de fluxo indivi-
dual em uma taxa de fluxo de 30 μ L/min. O tempo de injeção foi variável
para cada anticorpo para produzir aproximadamente 150 RU de anticorpo
20 capturado para cada ciclo. HGF (R&D Systems, Nº de catálogo 294-HGN-
025) diluído em tampão de corrida em uma concentração final de 7,5 μ g/mL
foi injetado por 90 segundos a 30 μ L/min sobre os anticorpos humanizados
capturados. A ligação de HGF foi monitorada antes da injeção subsequente
de anticorpo 2B8 de camundongo ou anticorpo policlonal anti-HGF de cabra
25 (R & D Systems, AF294) por 3 min a 30 μ L/min. A superfície foi então rege-
nerada com 10 mM de Glicina-HCl pH 2,0 (BIAcore, Nº de catálogo BR-
1003-55) injetada por 3 min em uma taxa de fluxo de 60 μ L/min antes de
outro anticorpo ser testado. Os resultados estão resumidos na Figura 9.

Os resultados resumidos na Figura 9 mostram que tanto os anti-
30 corpos 2B8 humanizados quanto os anticorpos 2B8 quiméricos impedem
2B8 de se ligar a HGF. Estes resultados demonstram que os anticorpos hu-
manizados ainda se ligam ao mesmo epítipo de HGF que o anticorpo 2B8

original.

Exemplo 13 – Produção de Variantes Humanizadas de 2B8

a. ANTICORPOS HUMAN ENGINEERED®

5 Cadeias manipuladas leves (LR2B8LC e LRMR2B8LC, respectivamente) e pesadas (LR2B8HC and LRMR2B8HC, respectivamente) de baixo risco e de risco baixo-mais-moderado com otimização de códon e de expressão foram clonadas *in phase* em vetores de expressão de anticorpo transitório de XOMA, os quais contêm módulos de regiões constantes humanas Capa e Gama-1. As quatro variantes de 2B8 Human Engineered foram produzidas por transfecção transitória em células HEK293E. Os quatro anticorpos a seguir foram produzidos:

HE2B8-1 = LR2B8HC (+ região constante de IgG1 (alótipo G1m(3) (alelo 1)) (SEQ ID NO. 187) mais LR2B8LC (+ região constante Capa (alótipo Km(3) (alelo 1))) (SEQ ID NO. 197)

15 **HE2B8-2** = LR2B8HC (+região constante de IgG1 (alótipo G1m(3) (alelo 1)) (SEQ ID NO. 187) mais LRMR2B8LC (+ Região constante Capa (alótipo Km(3) (alelo 1))) (SEQ ID NO. 201)

HE2B8-3 = LRMR2B8HC (+ região constante de IgG1 (alótipo G1m(3) (alelo 1)) (SEQ ID NO. 191) mais LR2B8LC (+ Região constante Capa (alótipo Km(3) (alelo 1))) (SEQ ID NO. 197)

HE2B8-4 = LRMR2B8HC (+ região constante de IgG1 (alótipo G1m(3) (alelo 1)) (SEQ ID NO. 191) mais LRMR2B8LC (+ Região constante Capa (alótipo Km(3) (alelo 1))) (SEQ ID NO. 201)

25 As cadeias leves e pesadas foram co-transfectadas em células HEK293E adaptadas para suspensão de XOMA cultivadas em meio IS293 (Irvine Scientific, Irvine, CA) usando frascos de agitação de 2 litros. Após 24 horas nos frascos de agitação, 200 mL das células transfectadas foram centrifugadas, ressuspensas em 40 mL de meio fresco e transferidas para frascos Integra (Wilson Wolf Manufacturing Inc., MN) para produção. Após a incubação por sete dias, as suspensões celulares foram removidas dos frascos Integra, centrifugadas e os sobrenadantes das culturas retidos. Os anticorpos nos sobrenadantes das culturas foram purificados em colunas de rota-

ção (spin) de proteína A (Pro-Chem), dialisados contra PBS, concentrados e esterilizados por filtração.

b. Anticorpos SUPERHUMANIZED®

cDNA de Hu2B8_Hv5-51.1 de extensão completa + domínio constante de IgG1 humana (alótipo G1m(3)) foi clonado em pEE6.4 (Lonza Biologics, Berkshire, UK) usando sítios de restrição de HindIII e EcoRI. cDNA da região variável de Hu2B8_Kv1-39.1 de extensão completa + domínio constante Capa humano e cDNA da região variável de Hu2B8_Kv3-15.1 de extensão completa + domínio constante Capa humano foram clonados cada, em pEE14.4 (Lonza Biologics) usando sítios de restrição de HindIII e EcoRI. cDNA do promotor de hCMV-MIE + Hu2B8_Hv5-51.1 de extensão completa + domínio constante de IgG1 humana (alótipo G1m(3)) + fragmento poli A de SV40 (em pEE6.4) foi removido por digestão com NotI/Sall e inserido no vetor pEE14.4 da cadeia Capa através dos sítios de NotI/Sall, criando assim 2 diferentes vetores de expressão que expressam cada, simultaneamente, a cadeia pesada e a cadeia leve para fazer os seguintes anticorpos:

sh2B8-9 (G1m(3)) = hu2B8 Hv5-51.1 (+ Região constante de IgG1 (alótipo G1m(3)) (alelo 2)) (SEQ ID NO. 210) mais hu2B8 Kv 1-39.1 (+ Região constante Capa (alótipo Km(3) (alelo 2))) (SEQ ID NO: 177)

sh2B8-12 (G1m(3)) = hu2B8 Hv5-51.1 (+ Região constante de IgG1 (alótipo G1m(3)) (alelo 2)) (SEQ ID NO. 210) mais hu2B8 Kv 3-15.1 (+ Região constante Capa (Km(3) alótipo (alelo 2))) (SEQ ID No. 181)

As sequências de ácido nucléico codificantes e as sequências de proteína que definem a Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 Humana alótipo G1m(3) (alelo 2) e cada uma das sequência da cadeia pesada de extensão completa são descritas abaixo. As sequências da cadeia leve foram as mesmas que as descritas no Exemplo 12.

(1) Sequência de Ácido Codificante da Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 Humana (alótipo G1m(3)) (alelo 2) (SEQ ID NO. 207)

```

1  cctccaccaa gggcccatcg gtcttccccc tggcaccctc ctccaagagc acctctgggg
61  gcacagcggc cctgggctgc ctggtcaagg actacttccc cgaaccgggtg acggtgtcgt
121 ggaactcagg cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta cagtctcag

```

5

181 gactctactc cctcagcagc gtggtgaccg tgcctccag cagcttgggc acccagacct
 241 acatctgcaa cgtgaatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga gttgagccca
 301 aatcttgtga caaaactcac acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc ctggggggac
 361 cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc cggaccctgt
 421 aggtcacatg cgtgggtggtg gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag ttcaactggt
 481 acgtggacgg cgtggagggtg cataatgcca agacaaagcc gggggaggag cagtacaaca
 541 gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcttgacca ggactggctg aatggcaagg
 601 agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaag accatctcca
 661 aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gccccatcc cgggaggaga
 721 tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaagg cttctatccc agcgacatcg
 781 ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgctg
 841 tggactccga cggctccttc ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc
 901 agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcattgaggc tctgcacaac cactacacgc
 961 agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaat ga

10

15

(2) Sequência de Proteína que Define a da Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 Humana (alótipo G1m(3)) (alelo 1 ou 2) (SEQ ID NO. 208). O primeiro aminoácido é derivado da tradução do último nucleotídeo da região variável e dos dois nucleotídeos do início da Sequência da Cadeia Pesada de IgG1.

20

1 astkgpsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wnsaltsgv htfpavlqss
 61 glyslssvvt vpssslgtqt yicnvnhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
 121 psvflfpkp kdtlmisrtp evtcvvvdvs hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyn
 181 styrvsvlt vlhqdwlngk eykckvsnka lpapiektis kakgqprepq vytlppsree
 241 mtknqvsltc lvkgfypsdi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdksrw
 301 qqgnvfscsv mhealhnhyt qkslsislspgk

25

(3) Sequência de Ácido Codificante da Cadeia de Extensão Completa que contém a Região Variável da Cadeia Pesada de Hu2B8 Hv5-51.1 Humanizado e a Região Constante da Cadeia Pesada de IgG1 Humana G1m(3) alótipo (alelo 2) (sequência de sinal sublinhada) (SEQ ID NO. 209)

30

1 atgggggtcaa ccgccatcct cgccctcctc ctggctgttc tccaaggagt ctgtgccgaa
 61 gtgcagctgg tgcagtctgg agcagagggtg aaaaagcccg gggagtctct gaagatctcc
 121 tgtaagggtt ctggatacag ctttaccacc tactggatgc actgggtgcg ccagatgcc

181 gggaaaggcc tggagtggat gggggagatt aatcctacca acggtcatac taactacaat
 241 ccgtccttcc aaggccaggt caccatctca gctgacaagt ccatcagcac tgcctacctg
 301 cagtggagca gcctgaaggc ctcggacacc gccatgtatt actgtgcgag aaactatggt
 361 ggtagcatct ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcttc agcctccacc
 5 421 aagggcccat cggtcttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg
 481 gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca
 541 ggcgcctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcttc aggactctac
 601 tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc
 661 aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagcc caaatcttgt
 10 721 gacaaaactc acacatgccc accgtgcccc gcacctgaac tcttgggggg accgtcagtc
 781 ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca
 841 tgcgtgggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac
 901 ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac
 961 cgtgtgggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag
 15 1021 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga agaccatctc caaagccaaa
 1081 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag
 1141 aaccagggtca gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag
 1201 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc
 1261 gacggctcct tcttctctca cagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg
 20 1321 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc
 1381 ctctccctgt ctccgggtaa atga

(4) Sequência de Proteína que Define a Cadeia de Extensão
 Completa que contém Hu2B8 Hv5-51.1 Humanizado e a Região Constante
 da Cadeia Pesada de IgG1 Humana G1m(3) alótipo (alelo 2) (sem sequência
 25 de sinal) (SEQ ID NO. 210)

1 evqlvqsgae vkkpgeslki sckgsgysft tywmhvwrm pgkglewmge inptnghtny
 61 npsfqgqvti sadksistay lqwsslkasd tamyycarny vgsifdywgq gtlvtvssas
 121 tkgpsvfpla psskstsggt aalgclvkdy fpepvtvswm sgaltsgvht fpavqlssgl
 181 yslssvvtvp ssslgtqtiy cnvnhkpsnt kvdkrvepks cdkthtcppc papellgpps
 30 241 vflfppkpkd tlmisrtpev tcvvvdvshe dpevkfnwyv dgvevhnaht kpreeqynst
 301 yrvvsvltvl hqdwlngkey kckvsnkalp apiektiska kgqprepvy tlpssreemt
 361 knqvsltclv kgfypsdiav ewesnggpen nykttppvld sdgsfflysk ltvdksrwqq

421 gnvfscsvmh ealhnhytqk slslspgk

Cada vetor de expressão duplo foi transfectado em células 293T para expressão transitória usando DMEM com 10% de soro fetal bovino. Quarenta e oito horas após a transfecção, as células foram lavadas com, e então substituídas por, meio livre de soro, IS GRO® (Irvine Scientific, Santa Ana, CA) contendo 4mM de L-Glutamina. O sobrenadante foi coletado diariamente e substituído por meio fresco por 10 dias. Os sobrenadantes da cultura foram centrifugados, filtrados (0,45 µm) e concentrados 10 a 100 vezes. Os anticorpos foram purificados em resina ProSep vA (Millipore), dialisados contra PBS, concentrados e esterilizados por filtração.

Exemplo 14 – Características de Ligação de Variantes Humanizadas de 2B8

Os anticorpos humanizados produzidos no Exemplo 13 foram caracterizados quanto a sua habilidade de se ligar a hHGF e às proteínas HGF recombinantes produzidos na Exemplo 13.

Os anticorpos foram analisados por ressonância de plásmon de superfície usando um instrumento BIAcore T100 para avaliar sua habilidade de se ligar a hHGF e às proteínas de fusão discutidas no Exemplo 3. Cada anticorpo foi imobilizado sobre um chip sensor de dextran carboximetilado CM5 (BIAcore, Nº de catálogo BR-1006-68) por acoplamento de amina (BIAcore, Nº de catálogo BR-1000-50) usando um protocolo de acoplamento usual de acordo com as instruções do fabricante.

As análises foram realizadas a 25°C usando PBS (GIBCO, Nº de catálogo 14040-133) contendo 0,05% de tensoativo P20 (BIAcore, Nº de catálogo R-1000-54), 2 mg/mL de BSA (EMD, Nº de catálogo 2930) e 10 mg/mL de sal de sódio CM-Dextrano (Fluka, Nº de catálogo 86524) como tampão de corrida. O sobrenadante contendo diferentes proteínas de fusão de HGF ou o sobrenadante de células transfectadas com o vetor vazio foi injetado sobre cada anticorpo em uma taxa de fluxo de 30 µL/min por 3 minutos. A ligação resultante foi determinada como unidades de ressonância (RU) sobre o limite basal 30 segundos após o final da injeção. A ligação foi comparada a HGF humano (R&D Systems, Nº de catálogo 294-HGN-025) diluído em tampão de corrida. As ligações inespecíficas foram monitoradas

por comparar a ligação a uma superfície de controle. Os resultados estão resumidos na Tabela 17.

TABELA 17

Anticorpo	rhHGF (R&D Systems)	rmHGF (R&D Systems)	Quimera MHM (495-585)	Quimera MHM (507-585)	Quimera MHM (499-556)
2B8	Sim	Não	Sim	Sim	Sim
HE2B8-1	Sim	Não	Sim	Sim	Sim
HE2B8-2	Sim	Não	Sim	Sim	Sim
HE2B8-3	Sim	Não	Sim	Sim	Sim
HE2B8-4	Sim	Não	Sim	Sim	Sim
sh2B8-9 (G1m(3))	Sim	Não	Sim	Sim	Sim
sh2B8-12 (G1m(3))	Sim	Não	Sim	Sim	Sim

Os resultados na Tabela 17 demonstram que cada um dos anticorpos humanizados baseados em 2B8 se liga a rhHGF e a todas as três quimeras camundongo-humano-camundongo.

Exemplo 15 – Afinidades de Ligação de Variantes Humanizadas de 2B8

As afinidades de ligação e a cinética de interação dos anticorpos listados na Tabela 15 foram medidas por ressonância de plásmom de superfície.

Imunoglobulinas anti-humano de camundongo (Jackson Labs, Nº de catálogo 209-005) foram imobilizadas em chips sensores de dextran carboximetilado CM4 (BIAcore, Nº de catálogo BR-1006-68) por acoplamento de amina (BIAcore, Nº de catálogo BR-1000-50) usando um protocolo de acoplamento usual de acordo com as instruções do fabricante. As análises foram realizadas a 25°C usando PBS (GIBCO, Nº de catálogo 14040-133) contendo 0,05% de tensoativo P20 (BIAcore, Nº de catálogo BR-1000-54), e 2 mg/mL de BSA (EMD, Nº de catálogo 2930).

Os anticorpos foram capturados em uma célula de fluxo individual em uma taxa de fluxo de 10 µL/min. O tempo de injeção foi variável para cada anticorpo para produzir aproximadamente 20 RU de anticorpo capturado para cada ciclo. Tampão ou HGF (R&D Systems, Nº de catálogo 294-HGN-025) diluído em tampão de corrida foi injetado sequencialmente sobre uma superfície de referência (nenhum anticorpo capturado) e sobre a super-

fície ativa (anticorpo a ser testado) por 2 minutos a 60 $\mu\text{L}/\text{min}$. A fase de dissociação foi monitorada por 15 ou 90 minutos, dependendo da concentração. A superfície foi então regenerada com 10 mM de Glicina-HCl, pH 1,7 (BIAcore, Nº de catálogo BR-1003-54) injetada por 3 minutos em uma taxa de fluxo de 60 $\mu\text{L}/\text{min}$ antes de outro ciclo ser iniciado. As concentrações de HGF testadas foram 0,46 nM a 7,5 nM.

Os parâmetros de cinética foram determinados usando a função de cinética do programa BIAevaluation® com subtração da referência. Os parâmetros de cinética para cada anticorpo k_a (constante da taxa de associação), k_d (constante da taxa de dissociação) e K_D (constante de dissociação de equilíbrio) estão resumidos na Tabela 18.

TABELA 18

Anticorpo	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)	SD
2B8	$1,4 \times 10^6$	$1,0 \times 10^{-5}$	7,3	-
HE2B8-1	$2,2 \times 10^6$	$1,4 \times 10^{-5}$	7,1	5,2
HE2B8-2	$1,8 \times 10^6$	$9,6 \times 10^{-6}$	5,2	2,7
HE2B8-3	$2,0 \times 10^6$	$4,1 \times 10^{-6}$	2,0	1,1
HE2B8-4	$1,7 \times 10^6$	$1,1 \times 10^{-5}$	6,5	1,3
sh2B8-9 (G1m(17,1))	$2,0 \times 10^6$	$1,7 \times 10^{-5}$	8,1	5,3
sh2B8-12 (G1m(17,1))	$1,9 \times 10^6$	$2,3 \times 10^{-5}$	12	0,4

Estes dados mostram que os anticorpos humanizados têm taxas de associação rápidas (k_a), taxas de dissociação muito lentas (k_d), e afinidades muito altas (K_D). Em particular, os anticorpos têm afinidades que variam de 2,0 a 12 pM.

Exemplo 16 – Comparação das Afinidades de Ligação a 25°C e 37°C

As afinidades de ligação e a cinética de interação dos anticorpos HE2B8-4, sh2B8-9, sh2B8-12, e 2B8 murino foram medidas por ressonância de plásmom de superfície sob diferentes condições.

Imunoglobulinas anti-humano de camundongo (Jackson Labs, Nº de catálogo 209-005) ou imunoglobulinas anti-camundongo de coelho (BIAcore, Nº de catálogo BR-1005-14) foram imobilizadas em chips sensores de dextran carboximetilado CM4 (BIAcore, Nº de catálogo BR-1006-68) por acoplamento de amina (BIAcore, Nº de catálogo BR-1000-50) usando um protocolo de acoplamento usual de acordo com as instruções do fabricante.

No caso de medidas a 25°C para sh2b8-9 e sh2B8-12, um chip sensor CM5 (BIAcore, Nº de catálogo BR-1006-68) foi usado. As análises foram realizadas a 25°C e 37°C usando PBS (GIBCO, Nº de catálogo 14040-133) contendo 0,05% de tensoativo P20 (BIAcore, Nº de catálogo BR-1000-54), e 2
5 mg/mL de BSA (EMD, Nº de catálogo 2930) como tampão de corrida.

Os anticorpos foram capturados em uma célula de fluxo individual em uma taxa de fluxo de 10 μ L/min. O tempo de injeção foi variável para cada anticorpo para produzir aproximadamente 20 RU de anticorpo capturado para cada ciclo. Tampão ou HGF (R&D Systems, Nº de catálogo 294-
10 HGN-025) diluído em tampão de corrida foi injetado sequencialmente sobre uma superfície de referência (nenhum anticorpo capturado) e sobre a superfície ativa (anticorpo a ser testado) por 2 minutos a 60 μ L/min. A fase de dissociação foi monitorada por 15 ou 90 minutos, dependendo da concentração. A superfície dos chips sensores de imunoglobulinas de camundongo
15 anti-humano foi então regenerada com 10 mM de Glicina-HCl, pH 2,2 (BIAcore, Nº de catálogo BR-1003-54) injetada por 3 minutos em uma taxa de fluxo de 60 μ L/min antes de outro ciclo ser iniciado. A superfície dos chips sensores de imunoglobulinas de coelho anti-camundongo foi então regenerada com 10 mM de Glicina-HCl, pH 1,7 (BIAcore, Nº de catálogo BR-1003-
20 54) injetada por 3 minutos em uma taxa de fluxo de 60 μ L/min antes de outro ciclo ser iniciado. As concentrações de HGF testadas foram 0,46 nM a 7,5 nM.

Os parâmetros de cinética foram determinados usando a função de cinética do programa BIAevaluation com subtração da referência. Os
25 parâmetros de cinética para cada anticorpo, k_a (constante da taxa de associação), k_d (constante da taxa de dissociação) e K_D (constante de dissociação de equilíbrio) estão resumidos na Tabela 19.

TABELA 19

Anticorpo	Temp. (°C)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)
2B8	25	$1,6 \times 10^6$	$2,1 \times 10^{-5}$	13,5
2B8	37	$2,8 \times 10^6$	$1,3 \times 10^{-5}$	4,5
HE2B8-4	25	$2,0 \times 10^6$	$1,2 \times 10^{-5}$	5,6
HE2B8-4	37	$3,1 \times 10^6$	$1,0 \times 10^{-5}$	3,3
sh2B8-9 (G1m(17,1))	25	$2,0 \times 10^6$	$1,7 \times 10^{-5}$	8,1
sh2B8-9 (G1m(3))	37	$2,5 \times 10^6$	$1,4 \times 10^{-5}$	5,8
sh2B8-12 (G1m(17,1))	25	$1,9 \times 10^6$	$2,3 \times 10^{-5}$	12,0
sh2B8-12 (G1m(3))	37	$2,4 \times 10^6$	$1,1 \times 10^{-5}$	4,8

Conforme esperado, as constantes da taxa de associação aumentaram com um aumento na temperatura. De forma surpreendente, as constantes de dissociação não mudaram significativamente com um aumento correspondente na temperatura. Consequentemente, as constantes de dissociação de equilíbrio gerais (K_D) foram aproximadamente 1,4 a 3 vezes menores (maior afinidade) em temperatura fisiológica (37°C).

Exemplo 17 – Atividade de Neutralização de Variantes Humanizadas de 2B8

Os anticorpos descritos no Exemplo 14 foram caracterizados quanto a sua habilidade de (a) inibir a ligação de hHGF a c-Met, e (b) inibir a incorporação de BrdU estimulada por HGF em células 4MBR-5.

O Ensaio de Inibição da Ligação HGF-Met (Ensaio de Neutralização) foi realizado como descrito a seguir. Os anticorpos foram testados por ELISA quanto a sua habilidade de inibir a ligação de hHGF a c-Met. Especificamente, placas de ensaio DELFIA de 96 cavidades Wallac (Wallac Inc., Nº de catálogo AAAND-0001) foram revestidas com 100 µL de HGF a 6,25 µg/mL (R&D Systems, Nº de catálogo 294-HGN-025) em tampão de revestimento de carbonato (15 mM de Na_2CO_3 e 34 mM de NaHCO_3 , pH 9,0) por 16 horas a 4°C. As placas foram então bloqueadas com 200 µL de leite em pó desnatado a 5% em PBS por 1 hora em temperatura ambiente. Os anticorpos foram preparados em uma placa separada por adicionar concentrações crescentes dos anticorpos sob investigação (0,033 a 250 nM, diluição seriada de 2 vezes) a 2 nM de c-Met biotinilado em leite em pó desnatado a 5% em PBS. C-Met (R&D Systems, Nº de catálogo 358-MT/CF) é biotinilado de acordo com as instruções do fabricante em uma proporção de bio-

tina para c-Met de 10:1. 100 μ L de amostra por cavidade foram transferidos para a placa de ensaio e incubados por 2 horas em temperatura ambiente. As placas resultantes foram lavadas três vezes com PBS-0,1% de Tween 20, e incubadas por 1 hora em temperatura ambiente com Estreptavidina marcada com Eu (Wallac, Nº de catálogo 1244-360) diluída 1:1000 em tampão de ensaio DELFIA (Wallac, Nº de catálogo 4002-0010). As placas resultantes foram lavadas 3 vezes com solução de lavagem DELFIA (Wallac, Nº de catálogo 4010-0010) e incubadas com 100 μ L/cavidade de solução de intensificação DELFIA (Wallac #4001-0010) por 15 minutos em temperatura ambiente com agitação. As placas foram lidas em um instrumento Victor³V (Perkin Elmer) usando o método de Európio. Os valores de IC₅₀ foram calculados e estão resumidos na Tabela 6.

Os valores de IC₅₀ obtidos são mostrados na Tabela 20.

TABELA 20

Anticorpo	IC ₅₀ (nM)	SD
2B8	9,2	1,2
HE2B8-1	6,0	1,2
HE2B8-2	5,7	1,1
HE2B8-3	5,9	1,1
HE2B8-4	6,5	1,2
sh2B8-9 (G1m(3))	4,2	-
sh2B8-12 (G1m(3))	6,8	-

Estes resultados da Tabela 20 demonstram que os anticorpos humanizados testados neutralizaram eficazmente a ligação de HGF a c-Met.

Os anticorpos na Tabela 17 também foram testados no ensaio de proliferação celular descrito no Exemplo 7(b). Os resultados estão resumidos na Tabela 21.

TABELA 21

Anticorpo	IC ₅₀ (nM)	SD
2B8	0,86	0,35
HE2B8-1	0,47	0,15
HE2B8-2	0,66	0,13
HE2B8-3	0,55	0,28
HE2B8-4	0,58	0,26
sh2B8-9 (G1m(3))	0,52	0,11
sh2B8-12 (G1m(3))	0,81	0,22

Os resultados da Tabela 21 demonstram que todos os anticorpos humanizados testados inibiram a proliferação induzida por HGF em células 4MBr-5.

Exemplo 18 – Atividade Anti-Dispersão de Variantes Humanizadas de 2B8

- 5 Os anticorpos na Tabela 17 foram testados no ensaio antidispersão descrito no Exemplo 8. Os resultados estão resumidos abaixo na Tabela 22.

TABELA 22

Inibição de Dispersão de Célula MDCK induzida por HGF		
Anticorpo	Teste 1	Teste 2
2B8	++	++
HE2B8-1	++	++
HE2B8-2	++	++
HE2B8-3	++	++
HE2B8-4	++	++
sh2B8-9 (G1m(3))	++	++
sh2B8-12 (G1m(3))	++	++

- Nenhuma Inibição

- 10 +++ Inibição muito forte, quase completa inhibition

++ Inibição forte

+ Inibição detectável

- Os resultados na Tabela 22 demonstram que todos os anticorpos humanizados testados inibiram a dispersão induzida por HGF na mesma extensão que o anticorpo monoclonal murino 2B8.
- 15

Exemplo 19 – Inibição de Fosforilação de c-Met estimulada por HGF

Os anticorpos na Tabela 17 foram testados no ensaio de fosforilação de c-Met descrito no Exemplo 9. Os resultados estão resumidos abaixo na Tabela 23.

20 **TABELA 23**

Anticorpo	Média de dois testes	Desvio Padrão
2B8	0,91	0,02
he2B8-1	0,80	0,04
he2B8-2	0,88	0,15
he2B8-3	0,79	0,05
he2B8-4	0,75	0,14
sh2B8-9 (G1m(3))	0,93	0,03
sh2B8-12 (G1m(3))	0,81	0,07

Os resultados na Tabela 23 demonstram que todos os anticorpos humanizados testados são potentes inibidores da fosforilação de c-Met induzida por HGF em células PC-3.

Exemplo 20 – Inibição tumoral em Modelo de Xenoenxerto de U87MG

5 A habilidade dos anticorpos monoclonais humanizados da invenção inibirem o crescimento tumoral foi testada em um modelo de xenoenxerto de U87MG. Células U87MG (ATCC) foram expandidas em cultura a 37°C em uma atmosfera contendo 5% de CO₂ e 95% de ar, usando um meio que compreende meio de Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM) com 10%
10 de soro fetal bovino, 100 unidades/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomomicina. As células foram subcultivadas e mantidas por desprender as células da parede da placa de cultura usando tripsina-EDTA.

Células quase confluentes foram coletadas por tripsinização e então 5 x 10⁶ células em Matrigel 50% (BD Biosciences; Nº de catálogo
15 356237) foram injetadas subcutaneamente na área dorsal superior entre a escápula de camundongos ICR SCID fêmeas de 7 semanas de idade (Taconic Labs). Os diâmetros (mm) mais longos (L) e mais curtos (W) dos tumores foram medidos com um compasso de calibre. O volume tumoral (vol) foi calculado como: (mm³) = L x W² / 2. Quando os tumores cresceram para aproximadamente 200 mm³, os camundongos que possuíam os tumores foram
20 randomizados em 5 grupos de 10 camundongos cada. Um grupo recebeu PBS e um grupo recebeu controle com IgG. Cada um dos outros 4 grupos recebeu um dos anticorpos humanizados (HE2B8-1, HE2B8-2, HE2B8-3, e HE2B8-4). Todos os anticorpos foram administrados em doses de 0,25
25 mg/kg de peso corporal, duas vezes por semana, por injeções intraperitoneais de 5 doses. Os volumes tumorais e os pesos corporais dos camundongos foram registrados duas vezes por semana. A inibição do crescimento tumoral foi analisada usando o teste de *t*-Student.

Os anticorpos humanizados testados eram ativos *in vivo*. Houve
30 uma inibição do crescimento do tumor de 57% tumor para HE2B8-1 com um valor de p de 0,02, 61% de inibição do crescimento do tumor para HE2B8-2 com um valor de p de 0,02, 85% de inibição do crescimento do tumor para

HE2B8-3, com um valor de p de 0,0004, e 74% de inibição do crescimento do tumor para HE2B8-4 com um valor de p de 0,001. Nenhuma perda corporal significativa foi observada.

Um estudo subsequente foi realizado como descrito acima em camundongos nude NCR fêmeas com tumores de U87MG subcutâneos inoculados no flanco. Cada (10 camundongos cada) recebeu um dos seguintes tratamentos a 0,5 mg/kg: controle com veículo de PBS, controle de hulgG, HE2B8-4, ou sh2B8-9. O tratamento foi dado intra-peritonealmente duas vezes por semana por um mínimo de 5 semanas. Cada grupo de tratamento demonstrou regressão tumoral similar com inibição do crescimento do tumor de 113% para sh2B8-9 e 115% para HE2B8-4, e um retardo mínimo do crescimento do tumor de 30 dias. Ambos os tratamentos foram bem tolerados sem perdas corporais significativas.

INCORPORAÇÃO POR REFERÊNCIA

A descrição completa de cada um dos documentos de patente e artigos científicos referidos aqui está incorporada por referência para todos os propósitos.

EQUIVALENTES

A invenção ser concretizada em outras formas específicas sem se afastar do espírito ou características essenciais desta. As modalidades anteriores são, portanto para serem consideradas, em todos os aspectos, como ilustrativas ao invés de limitantes da invenção aqui descrita. O escopo da invenção é indicado assim pelas reivindicações anexas e não pela descrição anterior, e todas as alterações que se encontram dentro do significado e amplitude de equivalência das reivindicações são pretendidas para serem abrangidas nela.

LISTAGEM DE SEQUÊNCIA

<110> Winston, William M.
 Wright, Kirk S.
 Han, May
 Breault, Lyne
 Lin, Jie
 Etemad-Gilbertson, Bijan
 Knuehl, Christine
 Gyuris, Jeno
 <120> Proteínas de ligação ao fator de crescimento de hepatócito (HGF)
 <130> AVO-001B
 <150> 60/810,714
 <151> 2006-06-02
 <150> 60/860,509
 <151> 2006-11-21
 <160> 216
 <170> Patente em versão 3.3
 <210> 1
 <211> 424
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Região variável de cadeia pesada sintética 1A3
 <400> 1
 atgaactttg ggctcagatt gattttcctt gtccttggtt taaaagggtg gaagtgtgaa 60
 gtgcagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcctg gaggggtcct gaaactctcc 120
 tgtgcagcct ctgaattcac tttcagtaac tattacatgt cttgggttcg ccagactcca 180
 gagaagaggc tgcagtgggt cgcatacatt agtcctgggt gtggtagctc ctactatcca 240
 gccagtgtga agggtcgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg 300
 caaatgagca gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acaaggggat 360
 gggtactacg gggactatgc tatggactac tgggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc 420
 tcag 424
 <210> 2
 <211> 141
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Região variável de cadeia pesada sintética 1A3
 <400> 2
 Met Asn Phe Gly Leu Arg Leu Ile Phe Leu Val Leu Val Leu Lys Gly
 1 5 10 15
 Val Lys Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 20 25 30
 Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Phe Thr Phe
 35 40 45
 Ser Asn Tyr Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu
 50 55 60
 Gln Trp Val Ala Tyr Ile Ser Pro Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Tyr Pro
 65 70 75 80
 Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85 90 95
 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Gly Asp Gly Tyr Tyr Gly Asp Tyr Ala Met
 115 120 125
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 130 135 140
 <210> 3
 <211> 382
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>

```

<223>      região região variável cadeia(capa) leve 1A3
<400>      3
atgagtgtgc ccactcaggt cctgggggttg ctgctgctgt ggcttacaga tgccagatgt      60
gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgttt ctgtgggaga aactgtcacc      120
atcacatgtc gagcaagtga gaatatattat agtaatttag catggtatca gcagaaacag      180
ggaaaatctc ctcagctcct ggtctatgct gcaacaaact tagcagatgg tgtgccatca      240
aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag ttttcctca agatcaacag cctgcagtct      300
gaagattttg ggacttatta ctgtcaacat ttttggggta ctccgtacac gttcggaggg      360
gggaccaagc tggaaataaa ac                                          382
<210>      4
<211>      127
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      região região variável cadeia(capa) leve 1A3
<400>      4
Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Trp Leu Thr
1      5      10      15
Asp Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser
20     25     30
Val Ser Val Gly Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn
35     40     45
Ile Tyr Ser Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro
50     55     60
Gln Leu Leu Val Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser
65     70     75     80
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn
85     90     95
Ser Leu Gln Ser Glu Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp
100    105    110
Gly Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
115    120    125
<210>      5
<211>      5
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia pesada sintética CD1 1A3
<400>      5
Asn Tyr Tyr Met Ser
1      5
<210>      6
<211>      17
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia pesada sintética CDR2 1A3
<400>      6
Tyr Ile Ser Pro Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Tyr Pro Ala Ser Val Lys
1      5      10      15
Gly

<210>      7
<211>      13
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia pesada sintética CDR3 1A3
<400>      7
Gln Gly Asp Gly Tyr Tyr Gly Asp Tyr Ala Met Asp Tyr
1      5      10
<210>      8
<211>      11
<212>      PRT

```

```

<213>          Sequência artificial
<220>
<223>          Cadeia (capa) leve sintética CDR1 1A3
<400>          8
Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn Leu Ala
1          5          10
<210>          9
<211>          7
<212>          PRT
<213>          Sequência artificial
<220>
<223>          Cadeia (capa) leve sintética CDR2 1A3
<400>          9
Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp
1          5
<210>          10
<211>          9
<212>          PRT
<213>          Sequência artificial
<220>
<223>          Cadeia (capa) leve sintética CDR3 1A3
<400>          10
Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Tyr Thr
1          5
<210>          11
<211>          412
<212>          DNA
<213>          Sequência artificial
<220>
<223>          Região variável de cadeia pesada sintética 2B8
<400>          11
atgggatgga gctatatcat cctcttttttg gtagcaacag ctacagatgt ccactcccag      60
gtccaactgc agcagcctgg ggctgaactg gtgaagcctg ggacttcagt gaagctgtcc      120
tgcaaggctt ctggctacac cttcaccacc tactggatgc actgggtgaa tcagaggcct      180
ggacaaggcc ttgagtggat tggagagatt aatcctacca acggtcatac taactacaat      240
gagaagttca agagcaaggc cacactgact gtagacaaat cctccagcac agcctacatg      300
caactcagca gcctgacatc tgaggactct gcggtctatt actgtgcaag aaactatggt      360
ggtagcatct ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtctctc ag      412
<210>          12
<211>          137
<212>          PRT
<213>          Sequência artificial
<220>
<223>          Região variável de cadeia pesada sintética 2B8
<400>          12
Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Asp
1          5          10          15
Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys
20          25          30
Pro Gly Thr Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35          40          45
Thr Thr Tyr Trp Met His Trp Val Asn Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
50          55          60
Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn
65          70          75          80
Glu Lys Phe Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser
85          90          95
Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
100          105          110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Tyr Val Gly Ser Ile Phe Asp Tyr Trp Gly
115          120          125
Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
130          135
<210>          13

```

```

<211>      382
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Região variável de cadeia (capa) leve sintética 2B8
<400>      13
atggaatcac agactctggt cttcatatcc atactgctct gggtatatgg tgcgatggg      60
aacattgtaa tgacccaatc tcccaaattc atgtccatgt cagtaggaga gagggtcacc      120
ttgagctgca aggccagtga gaatgtgggt tcttatgtat cctgggtatca acagaaacca      180
gcgcagtctc ctaaactgct gatatacggg gcatccaacc ggaacactgg ggtccccgat      240
cgcttcacag gcagtggatc tgcaacagat ttcactctga ccatcagcag tgtgcgggct      300
gaagaccttg cagattatca ctgtgggcag agttacaact atccgtacac gttcggaggg      360
gggaccaggc tggaaataaa ac                                     382
<210>      14
<211>      127
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Região variável de cadeia (capa) leve sintética 2B8
<400>      14
Met Glu Ser Gln Thr Leu Val Phe Ile Ser Ile Leu Leu Trp Leu Tyr
1          5          10          15
Gly Ala Asp Gly Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser
20          25          30
Met Ser Val Gly Glu Arg Val Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Glu Asn
35          40          45
Val Val Ser Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Ala Gln Ser Pro
50          55          60
Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Asn Thr Gly Val Pro Asp
65          70          75          80
Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Ala Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85          90          95
Ser Val Arg Ala Glu Asp Leu Ala Asp Tyr His Cys Gly Gln Ser Tyr
100         105         110
Asn Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
115         120         125
<210>      15
<211>      5
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia pesada sintética CD1 2B8
<400>      15
Thr Tyr Trp Met His
1          5
<210>      16
<211>      17
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia pesada sintética CDR2 2B8
<400>      16
Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1          5          10          15
Ser
<210>      17
<211>      9
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia pesada sintética CDR3 2B8
<400>      17

```

Asn Tyr Val Gly Ser Ile Phe Asp Tyr

1 5
 <210> 18
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Cadeia (capa) leve sintética CDR1 2B8
 <400> 18

Lys Ala Ser Glu Asn Val Val Ser Tyr Val Ser

1 5 10
 <210> 19
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Cadeia (capa) leve sintética CDR2 2B8
 <400> 19

Gly Ala Ser Asn Arg Asn Thr

1 5
 <210> 20
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Cadeia (capa) leve sintética CDR3 2B8
 <400> 20

Gly Gln Ser Tyr Asn Tyr Pro Tyr Thr

1 5
 <210> 21
 <211> 412
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Região variável de cadeia pesada sintética 2F8
 <400> 21

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctgcaggtgt ccactgccag 60
 gtccagctga agcagtctgg agctgagctg gtgaggcctg ggacttcagt gaagatgtcc 120
 tgcaaggctt ctggctacac cttcactacc tactatatac actgggtgaa tcagaggcct 180
 ggacagggcc ttgagtggat tggaaagatt ggtcctggaa gtggtagtac ttactacaat 240
 gagatgttca aagacaaggc cacattgact gtagacacat cctccagcac agcctacatg 300
 cagctcagca gctgacatc tgacgactct gcggtctatt tctgtgcaag aaggggactg 360
 ggacgtggct ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtctctc ag 412

<210> 22
 <211> 137
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Região variável de cadeia pesada sintética 2F8
 <400> 22

Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly

1 5 10 15

Val His Cys Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg

20 25 30

Pro Gly Thr Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe

35 40 45

Thr Thr Tyr Tyr Ile His Trp Val Asn Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Lys Ile Gly Pro Gly Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn

65 70 75 80

Glu Met Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser

85 90 95

Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val

100 105 110

Tyr Phe Cys Ala Arg Arg Gly Leu Gly Arg Gly Phe Asp Tyr Trp Gly
 115 120 125
 Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
 130 135
 <210> 23
 <211> 394
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Região variável de cadeia (capa) leve sintética 2F8
 <400> 23
 atggagacag acacaatcct gctatgggtg ctgctgctct gggttccagg ctccactggt 60
 gacattgtgc tgacccaatc tccagcttct ttggctgtgt ctctagggca gagggccacc 120
 atctcctgca aggccagcca aagtgttgat tatgatggta atagttatat caactggtac 180
 caacagaaac caggacagcc acccaaagtc ctcattctatg ttgcatccaa tctagaatct 240
 gggatcccag ccagggttag tggcagtggtg tctgggacag acttcaccct caacatccat 300
 cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcagc aaagtattga ggatcctccc 360
 acgttcgggtg ctgggaccaa gctggagctg aaac 394
 <210> 24
 <211> 131
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Região variável de cadeia (capa) leve sintética 2F8
 <400> 24
 Met Glu Thr Asp Thr Ile Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15
 Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala
 20 25 30
 Val Ser Leu Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser
 35 40 45
 Val Asp Tyr Asp Gly Asn Ser Tyr Ile Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
 50 55 60
 Gly Gln Pro Pro Lys Val Leu Ile Tyr Val Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 65 70 75 80
 Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 85 90 95
 Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
 100 105 110
 Gln Gln Ser Ile Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
 115 120 125
 Glu Leu Lys
 130
 <210> 25
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Cadeia pesada sintética CD1 2F8
 <400> 25
 Thr Tyr Tyr Ile His
 1 5
 <210> 26
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Cadeia pesada sintética CDR2 2F8
 <400> 26
 Lys Ile Gly Pro Gly Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Met Phe Lys
 1 5 10 15
 Asp
 <210> 27

```

<211>      9
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia pesada sintética CDR3 2F8
<400>      27
Arg Gly Leu Gly Arg Gly Phe Asp Tyr
1           5
<210>      28
<211>      15
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia (capa) leve sintética CDR1 2F8
<400>      28
Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asn Ser Tyr Ile Asn
1           5           10           15
<210>      29
<211>      7
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia (capa) leve sintética CDR2 2F8
<400>      29
Val Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1           5
<210>      30
<211>      9
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia (capa) leve sintética CDR3 2F8
<400>      30
Gln Gln Ser Ile Glu Asp Pro Pro Thr
1           5
<210>      31
<211>      418
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Região variável de cadeia pesada sintética 3B6
<400>      31
atggaatggc cttgtatctt tctcttctc ctgtcagtaa ctgaaggtgt ccaactcccag      60
gttcagctgc agcagtctgg ggctgaactg gtgaggcctg ggtcctcagt gaagatttcc      120
tgcaaggctt ctggctatgt attcagtagc tactggatga actgggtgaa gcagaggcct      180
ggacagggtc ttgagtggat tggacagatt tatcctggag atgggtgatag taactacaat      240
ggaaacttca agggtaaagc cacactgact gcagacaaat cctccagtac agcctacatg      300
cagctcagca gcctaacatc tgaggactct gcggtctatt tctgtgcac ccagctcggg      360
ctacgtgaga actactttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctctcag      418
<210>      32
<211>      139
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Região variável de cadeia pesada sintética 3B6
<400>      32
Met Glu Trp Pro Cys Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Glu Gly
1           5           10           15
Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg
20          25          30
Pro Gly Ser Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Val Phe
35          40          45
Ser Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
50          55          60

```

Glu Trp Ile Gly Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Ser Asn Tyr Asn
 65 70 75 80
 Gly Asn Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser
 85 90 95
 Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
 100 105 110
 Tyr Phe Cys Ala Ser Gln Leu Gly Leu Arg Glu Asn Tyr Phe Asp Tyr
 115 120 125
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
 130 135
 <210> 33
 <211> 388
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Região variável de cadeia (capa) leve sintética 3B6
 (metiominas iniciam 2 possíveis ATG)
 <400> 33
 atggacatga ggacccctgc tcagtttctt ggaatcttgt tgctctggtt tccaggtatc 60
 aaatgtgaca tcaagatgac ccagtcctcca tcttccatgt atgcatctct aggagagaga 120
 gtcacaatca cttgcaaggc gagtcaggac attaaaagct atttaagctg gttccagcag 180
 aaaccagggga aatctcctaa gaccctgatc tatcgtgtaa acagattggt agatgggggtc 240
 ccatcaaggt tcagtggcag tggatctggg caagattctt ctctcaccat caccagcctg 300
 gagaatgaag atatgggaat ttattattgt ctacagtatg atgagtttcc gttcacgttc 360
 ggaggggggga ccaagctgga aataaagc 388
 <210> 34
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Região variável de cadeia (capa) leve sintética 3B6
 (metiominas iniciam 2 possíveis)
 <400> 34
 Met Asp Met Arg Thr Pro Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 Phe Pro Gly Ile Lys Cys Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 20 25 30
 Met Tyr Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser
 35 40 45
 Gln Asp Ile Lys Ser Tyr Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 50 55 60
 Ser Pro Lys Thr Leu Ile Tyr Arg Val Asn Arg Leu Val Asp Gly Val
 65 70 75 80
 Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Gln Asp Ser Ser Leu Thr
 85 90 95
 Ile Thr Ser Leu Glu Asn Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln
 100 105 110
 Tyr Asp Glu Phe Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 115 120 125
 Lys
 <210> 35
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Cadeia pesada sintética CD1 3B6
 <400> 35
 Ser Tyr Trp Met Asn
 1 5
 <210> 36
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial

```

<220>
<223>      Cadeia pesada sintética CDR2 3B6
<400>      36
Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Ser Asn Tyr Asn Gly Asn Phe Lys
1           5           10           15
Gly

<210>      37
<211>      11
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia pesada sintética CDR3 3B6
<400>      37
Gln Leu Gly Leu Arg Glu Asn Tyr Phe Asp Tyr
1           5           10
<210>      38
<211>      11
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia (capa) leve sintética CDR1 3B6
<400>      38
Lys Ala Ser Gln Asp Ile Lys Ser Tyr Leu Ser
1           5           10
<210>      39
<211>      7
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia (capa) leve sintética CDR2 3B6
<400>      39
Arg Val Asn Arg Leu Val Asp
1           5
<210>      40
<211>      9
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia (capa) leve sintética CDR3 3B6
<400>      40
Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Phe Thr
1           5
<210>      41
<211>      397
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Região variável de cadeia pesada sintética 3D11
<400>      41
atggctgtcc cgggtgctgtt cctctgcctg gttgcatttc caagctgtgt cctgtcccag      60
gtacagctga aggagtcagg acctggcctg gtggcgccct cacagagcct gtccatcact      120
tgactgtct ctgggttttc attaaccagc tatagtttac actgggttcg ccagcctcca      180
ggaaagggtc tggaatggct gggagtaata tgggctgggt gaaacacaaa ttataattcg      240
tctctcatgt ccagactgac catcaggaaa gacaactcca agagccaagt tttcttaaaa      300
atgaacagtc tgcaactga tgacacagcc atgtactact gtgccagaga gaggtttgct      360
tactggggcc aagggactct ggtcactgtc tctgcag      397
<210>      42
<211>      132
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Região variável de cadeia pesada sintética 3D11
<400>      42

```

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

<210> 43
 <211> 385
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Região variável de cadeia (capa) leve sintética 3D11
 <400> 43
 atggattttc aagtgcagat ttccagcttc ctgctaataca gtgcctcagt caaaatatcc 60
 agaggacaaa ttgttctcac ccagtctcca gcaatcatgt ctgcatatcc aggggagaag 120
 gtcacccatga cctgcagtg cagctcaagt gtaagttaca tgcactggta ccagcagaag 180
 tcaggcacct cccccaaaag atggatttat gacacatcca aactggcttc tggagtcctt 240
 gctcgcttca gtggcagtg gtctgggacc tcttactccc tcacaatcag tagtatggag 300
 gctgaagatg ctgccactta ttactgccag cagtggagta gtaaccact caggttcggt 360
 gctgggacca agctggagct gaaac 385

<210> 44
 <211> 128
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Região variável de cadeia (capa) leve sintética 3D11
 <400> 44
 Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
 1 5 10 15
 Val Lys Ile Ser Arg Gly Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile
 20 25 30
 Met Ser Ala Tyr Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser
 35 40 45
 Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser
 50 55 60
 Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro
 65 70 75 80
 Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile
 85 90 95
 Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp
 100 105 110
 Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 115 120 125

<210> 45
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Cadeia pesada sintética CD1 3D11
 <400> 45
 Ser Tyr Ser Leu His
 1 5

```

<210>      46
<211>      16
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia pesada sintética CDR2 3D11
<400>      46
Val Ile Trp Ala Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Ser Ser Leu Met Ser
1           5           10           15
<210>      47
<211>      5
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia pesada sintética CDR3 3D11
<400>      47
Glu Arg Phe Ala Tyr
1           5
<210>      48
<211>      10
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia (capa) leve sintética CDR1 3D11
<400>      48
Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
1           5           10
<210>      49
<211>      7
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia (capa) leve sintética CDR2 3D11
<400>      49
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser
1           5
<210>      50
<211>      9
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia (capa) leve sintética CDR3 3D11
<400>      50
Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr
1           5
<210>      51
<211>      424
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Região variável de cadeia pesada sintética 1D3
<400>      51
atgaactttg ggctcagatt gattttcctt gtccttggtt taaaagggtg gaagtgtgaa      60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcctg gagggtcctt gaaactctcc      120
tgtgcagcct ctggattcac ttccagtgcac tattacatgt ctggggttcg ccagactcca      180
gagaagaggc tggagtgggt cgcatacatt agtagtggtg gtggtagcac ctactatcca      240
gacagtgtga agggtcgatt caccatctcc cgagacaatg ccaagaacac cctgtacctg      300
caaatgagca gtctgaagtc tgaggacaca gccatatatt actgtgtgag acaaggggat      360
ggttattacg gggactatgc tatggactac tgggggtcaag gaacctcagt catcgtctcc      420
tcag                                         424
<210>      52
<211>      141
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial

```

<220>

<223> Região variável de cadeia pesada sintética 1D3

<400> 52

```

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

```

<210> 53

<211> 382

<212> DNA

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Região variável de cadeia (capa) leve sintética 1D3

<400> 53

```

atgagtgtgc ccactcaggt cctgggggttg ctgctgctgt ggcttacaga tgtcagatgt 60
gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgtat ctgtgggaga aactgtcacc 120
atcacatgtc gaacaagtga gaatatattac agtaatttag cgtgggtatca gcagaaacag 180
ggaaaatctc ctcagctcct aatctatgct gcaacaaact tagcagatgg tgtgccatca 240
aggttcagtg gcagtgatc aggcacacag tttccctca ggatcaacag cctgcagtct 300
gaagattttg ggaggtatta ctgtcaacat ttttggggga ctccgtacac gttcggaggg 360
gggaccaaac tggaaataaa ac 382

```

<210> 54

<211> 127

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Região variável de cadeia (capa) leve sintética 1D3

<400> 54

```

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

```

<210> 55

<211> 5

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Cadeia pesada sintética CD1 1D3

```

<400>          55
Asp Tyr Tyr Met Ser
1              5
<210>          56
<211>          17
<212>          PRT
<213>          Sequência artificial
<220>
<223>          Cadeia pesada sintética CDR2 1D3
<400>          56
Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
1              5              10              15
Gly

<210>          57
<211>          13
<212>          PRT
<213>          Sequência artificial
<220>
<223>          Cadeia pesada sintética CDR3 1D3
<400>          57
Gln Gly Asp Gly Tyr Tyr Gly Asp Tyr Ala Met Asp Tyr
1              5              10
<210>          58
<211>          11
<212>          PRT
<213>          Sequência artificial
<220>
<223>          Cadeia (capa) leve sintética CDR1 1D3
<400>          58
Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn Leu Ala
1              5              10
<210>          59
<211>          7
<212>          PRT
<213>          Sequência artificial
<220>
<223>          Cadeia (capa) leve sintética CDR2 1D3
<400>          59
Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp
1              5
<210>          60
<211>          9
<212>          PRT
<213>          Sequência artificial
<220>
<223>          Cadeia (capa) leve sintética CDR3 1D3
<400>          60
Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Tyr Thr
1              5
<210>          61
<211>          424
<212>          DNA
<213>          Sequência artificial
<220>
<223>          Região variável de cadeia pesada sintética 1F3
<400>          61
atgaactttg ggctcagatt gattttcctt gtccttggtt taaaagggtg gaagtgtgag      60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagtctg gaggtgccct gaaactctcc      120
tgtgcggcct ctggattcac tttcagtaac tatttcatgt cttgggttcg ccagactcca      180
gagaagaggc tggagtgggt cgcataatatt agtagtggtg gtggtagcac ctactatcca      240
gacagtgtga aggttcgatt caccatctct agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg      300
caaatgagca gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgtaag acaaggggat      360

```

```

ggttactacg gggactatgc tatggactac tgggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc 420
tcag 424
<210> 62
<211> 141
<212> PRT
<213> Sequência artificial
<220>
<223> Região variável de cadeia pesada sintética 1F3
<400> 62
Met Asn Phe Gly Leu Arg Leu Ile Phe Leu Val Leu Val Leu Lys Gly
1 5 10 15
Val Lys Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30
Ser Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45
Ser Asn Tyr Phe Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu
50 55 60
Glu Trp Val Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro
65 70 75 80
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95
Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met
100 105 110
Tyr Tyr Cys Val Arg Gln Gly Asp Gly Tyr Tyr Gly Asp Tyr Ala Met
115 120 125
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
130 135 140
<210> 63
<211> 382
<212> DNA
<213> Sequência artificial
<220>
<223> Região variável de cadeia (capa) leve sintética 1F3
<400> 63
atgagtgtgc ccactcaggt cctgggggttg ctgctgctgt ggcttacaga tgccagatgt 60
gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgtat ctgtgggaga aactgtcacc 120
atcacatgtc gagcaagtga gaatatattac agtaatttag catggtatca gcagaaacag 180
ggaaaatctc ctcagctcct ggtctatgat gcaacacact taccagatgg tgtgccatca 240
aggttcagtg gcagtggtac aggcacacag ttttcctca agatcaacag cctgcagtct 300
gaagattttg ggagttatta ctgtcaacat ttttggggta ctccgtacac gtttgagggg 360
gggaccagac tggaaattaa ac 382
<210> 64
<211> 127
<212> PRT
<213> Sequência artificial
<220>
<223> Região variável de cadeia (capa) leve sintética 1F3
<400> 64
Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Trp Leu Thr
1 5 10 15
Asp Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser
20 25 30
Val Ser Val Gly Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn
35 40 45
Ile Tyr Ser Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro
50 55 60
Gln Leu Leu Val Tyr Asp Ala Thr His Leu Pro Asp Gly Val Pro Ser
65 70 75 80
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn
85 90 95
Ser Leu Gln Ser Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp
100 105 110
Gly Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
115 120 125

```

```

<210>      65
<211>      5
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia pesada sintética CD1 1F3
<400>      65
Asn Tyr Phe Met Ser
1          5
<210>      66
<211>      17
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia pesada sintética CDR2 1F3
<400>      66
Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
1          5          10          15
Gly

<210>      67
<211>      13
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia pesada sintética CDR3 1F3
<400>      67
Gln Gly Asp Gly Tyr Tyr Gly Asp Tyr Ala Met Asp Tyr
1          5          10
<210>      68
<211>      11
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia (capa) leve sintética CDR1 1F3
<400>      68
Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn Leu Ala
1          5          10
<210>      69
<211>      7
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia (capa) leve sintética CDR2 1F3
<400>      69
Asp Ala Thr His Leu Pro Asp
1          5
<210>      70
<211>      9
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Cadeia (capa) leve sintética CDR3 1F3
<400>      70
Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Tyr Thr
1          5
<210>      71
<211>      424
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Região variável de cadeia pesada sintética 3A12
<400>      71
atgaactttg ggctcagatt gattttcctt gtccttggtt taaaagggtg gaagtgtgaa

```

```

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcctg gagggtcctt gaaaatctcc 120
tgtgcagcct ctggatttac tttcagtaac tatttcattgt cttggggttcg ccagactcca 180
gagaagaggc tggagtgggt cgcatacatt agtagtggtg gtggtagcac ctactatcca 240
gacagtgtga agggctcgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg 300
caaatgaaca gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgtaag acaaggagat 360
ggttactatg gggactatgc tatggactac tggggtcagg gaacctcagt caccgtctcc 420
tcag 424

```

```

<210> 72
<211> 141
<212> PRT
<213> Sequência artificial
<220>
<223> Região variável de cadeia pesada sintética 3A12
<400> 72

```

```

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

```

```

<210> 73
<211> 382
<212> DNA
<213> Sequência artificial
<220>
<223> Região variável de cadeia (capa) leve sintética 3A12
<400> 73

```

```

atgagtgtgc ccactcaggt cctgggggttg ctgctgctgt ggcttacaga tgccagatgt 60
gacatccaga tgactcagtc gccagcctcc ctatctgtat ctgtgggaga aactgtcacc 120
atcacatgtc gagcaagtga gaatatttac attaatcttag catggtatca gcagaaacag 180
ggaaaatctc ctcagctcct ggtccatgct gcaacaaagt tagcagatgg tgtgccatca 240
aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag tattccctca agatcaacag cctgcagtct 300
gaagattttg ggagttatta ctgtcaacat ttttggggta ctccgtacac gttcggaggg 360
gggaccaaac tagaaataaa ac 382

```

```

<210> 74
<211> 127
<212> PRT
<213> Sequência artificial
<220>
<223> Região variável de cadeia (capa) leve sintética 3A12
<400> 74

```

```

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

```

[illegible]

<212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Região constante de cadeia pesada de referência IgG1 de camundongo (J00453) (J00453)

<400> 81
 ccaaaacgac acccccatct gtctatccac tggcccttg atctgctgcc caaactaact 60
 ccatggtgac cctgggatgc ctggtcaagg gctatttccc tgagccagt acagtgcact 120
 ggaactctgg atccctgtcc agcgggtgtg acaccttccc agctgtcctg gagtctgacc 180
 tctacactct gagcagctca gtgactgtcc cctccagccc tggcccagc gagaccgtca 240
 cctgcaacgt tgcccacccg gccagcagca ccaaggtgga caagaaaatt gtgccagg 300
 attgtggttg taagccttgc atatgtacag tcccagaagt atcatctgtc ttcattcttc 360
 ccccaaagcc caaggatgtg ctcaccatta ctctgactcc taaggtcacg tgtgttgg 420
 tagacatcag caaggatgat cccgagggtc agttcagctg gttttagat gatgtggagg 480
 tgcacacagc tcagacgcaa ccccgaggag agcagttcaa cagcactttc cgctcagtc 540
 gtgaacttcc catcatgcac caggactggc tcaatggcaa ggagttcaaa tgcagggtca 600
 acagtgcagc tttccctgcc cccatcgaga aaaccatctc caaaaccaa ggcagaccga 660
 aggtccaca ggtgtacacc attccacctc ccaaggagca gatggccaag gataaagtca 720
 gtctgacctg catgataaca gacttcttcc ctgaagacat tactgtggag tggcagtgga 780
 atgggcagcc agcggagaac tacaagaaca ctgagcccat catgaacacg aatggctctt 840
 acttcgtcta cagcaagctc aatgtgcaga agagcaactg ggaggcagga aatactttca 900
 cctgctctgt gttacatgag ggctgcaca accaccatac tgagaagagc ctctccact 960
 ctctggtaa atga 974

<210> 82
 <211> 974
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Região constante de cadeia pesada de IgG1 de camundongo determinado para (derivado de AJ cepa de camundongo) 1A3, 1D3, 1F3, e 2B8

<400> 82
 ccaaaacgac acccccatct gtctatccac tggcccttg atctgctgcc caaactaact 60
 ccatggtgac cctgggatgc ctggtcaagg gctatttccc tgagccagt acagtgcact 120
 ggaactctgg atccctgtcc agcgggtgtg acaccttccc agctgtcctg cagtctgacc 180
 tctacactct gagcagctca gtgactgtcc cctccagcac ctggcccagc gagaccgtca 240
 cctgcaacgt tgcccacccg gccagcagca ccaaggtgga caagaaaatt gtgccagg 300
 attgtggttg taagccttgc atatgtacag tcccagaagt atcatctgtc ttcattcttc 360
 ccccaaagcc caaggatgtg ctcaccatta ctctgactcc taaggtcacg tgtgttgg 420
 tagacatcag caaggatgat cccgagggtc agttcagctg gttttagat gatgtggagg 480
 tgcacacagc tcagacgcaa ccccgaggag agcagttcaa cagcactttc cgctcagtc 540
 gtgaacttcc catcatgcac caggactggc tcaatggcaa ggagttcaaa tgcagggtca 600
 acagtgcagc tttccctgcc cccatcgaga aaaccatctc caaaaccaa ggcagaccga 660
 aggtccaca ggtgtacacc attccacctc ccaaggagca gatggccaag gataaagtca 720
 gtctgacctg catgataaca gacttcttcc ctgaagacat tactgtggag tggcagtgga 780
 atgggcagcc agcggagaac tacaagaaca ctgagcccat catggacaca gatggctctt 840
 acttcgtcta cagcaagctc aatgtgcaga agagcaactg ggaggcagga aatactttca 900
 cctgctctgt gttacatgag ggctgcaca accaccatac tgagaagagc ctctccact 960
 ctctggtaa atga 974

<210> 83
 <211> 323
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Região constante de cadeia capa livre de referência de camundongo e região constante de cadeia capa leve de camundongo determinado para 1D3, 1F3, e 2B8 (derivado de AJ cepa de camundongo)

<400> 83
 gggctgatgc tgcaccaact gtatccatct tcccaccatc cagtgcagc ttaacatctg 60
 gaggtgcctc agtcgtgtgc ttcttgaaca acttctaccc caagacatc aatgtcaagt 120
 ggaagattga tggcagtgaa cgacaaaatg gcgtcctgaa cagttggact gatcaggaca 180

```

gcaaagacag cacctacagc atgagcagca ccctcacgtt gaccaaggac gagtatgaac 240
gacataacag ctatacctgt gaggccactc acaagacatc aacttcaccc attgtcaaga 300
gcttcaacag gaatgagtgt tag 323
<210> 84
<211> 323
<212> DNA
<213> Sequência artificial
<220>
<223> Região constante de cadeia leve capa de camundongo sintético
determinado por 1A3 contendo um nucleotídeo alterado como posi-
ção comparada a 1D3, 1F3, e 2B8

<400> 84
gggctgatgc tgcaccaact gtatccatct tcccaccatc cagtgagcag ttaacatctg 60
gaggtgcctc agtcgtgtgc ttcttgaaca acttctaccc caaagacatc aatgtcaagt 120
ggaagattga tggcagtgaa cgacaaaatg gcgtcctgaa cagttggact gatcaggaca 180
gcaaagacag cacctacagc atgagcagca ccctcatgtt gaccaaggac gagtatgaac 240
gacataacag ctatacctgt gaggccactc acaagacatc aacttcaccc attgtcaaga 300
gcttcaacag gaatgagtgt tag 323
<210> 85
<211> 30
<212> DNA
<213> Sequência artificial
<220>
<223> Iniciador de oligonecleotídeo sintético de mistura de iniciador
universal BD SMART II A

<400> 85
aagcagtggg atcaacgcag agtacgcggg 30

<210> 86
<211> 27
<212> DNA
<213> Sequência artificial
<220>
<223> Iniciador de oligonecleotídeo sintético de mistura de iniciador
universal RACE CDS

<220>
<221> misc_feature
<222> (27)..(27)
<223> n is a, c, g, t ou u
<400> 86
tttttttttt tttttttttt tttttvn 27

<210> 87
<211> 45
<212> DNA
<213> Sequência artificial
<220>
<223> Iniciador de oligonecleotídeo sintético de mistura de iniciador
Iniciador Universal Mix A

<400> 87
ctaatacgac tcactatagg gcaagcagtg gtatcaacgc agagt 45

<210> 88
<211> 22
<212> DNA
<213> Sequência artificial
<220>
<223> Iniciador de oligonecleotídeo sintético de mistura de iniciador
Universal Primer Mix A

<400> 88
ctaatacgac tcactatagg gc 22

```

<210>	89	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	Sequência artificial	
<220>		
<223>	Iniciador específico de região constante IgG1 sintético	
<400>	89	
tatgcaaggc	ttacaaccac a	21
<210>	90	
<211>	28	
<212>	DNA	
<213>	Sequência artificial	
<220>		
<223>	Iniciador específico de região constante IgG1 sintético	
<400>	90	
gccagtggat	agacagatgg ggggtgtcg	28
<210>	91	
<211>	27	
<212>	DNA	
<213>	Sequência artificial	
<220>		
<223>	Iniciador sintético oligonucleotídeo	
<400>	91	
ctcattcctg	ttgaagctct tgacaat	27
<210>	92	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	Sequência artificial	
<220>		
<223>	Iniciador sintético oligonucleotídeo	
<400>	92	
cgactgaggc	acctccagat gtt	23
<210>	93	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Sequência artificial	
<220>		
<223>	Iniciador de oligonecleotídeo sintético de mistura de iniciador universalT7	
<400>	93	
taatacgact	cactataggg	20
<210>	94	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	Sequência artificial	
<220>		
<223>	Iniciador M13 dianteiro sintético de oligonecleotídeo	
<400>	94	
gtaaaacgac	ggccagt	17
<210>	95	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Sequência artificial	
<220>		
<223>	Iniciador M13 reverso sintético de oligonecleotídeo	
<400>	95	
caggaaacag	ctatgacc	18
<210>	96	
<211>	63	
<212>	DNA	

```

<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Iniciador dianteiro de oligonucleotídeo sintético
<400>      96
ggggacaagt ttgtacaaaa aagcaggctg ccaccatgaa ctttgggctc agattgattt      60
tcc                                              63
<210>      97
<211>      54
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Iniciador reverso de oligonucleotídeo sintético
<400>      97
ggggaccact ttgtacaaga aagctggggtt catttaccag gagagtggga gagg      54
<210>      98
<211>      62
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Iniciador dianteiro de oligonucleotídeo sintético
<400>      98
ggggacaagt ttgtacaaaa aagcaggctg ccaccatggg atggagctat atcatcctct      60
tt                                              62
<210>      99
<211>      53
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Iniciador reverso de oligonucleotídeo sintético
<400>      99
ggggaccact ttgtacaaga aagctggggtt catttaccag gagagtggga gag      53
<210>      100
<211>      62
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Iniciador dianteiro de oligonucleotídeo sintético
<400>      100
ggggacaagt ttgtacaaaa aagcaggctg ccaccatgga atcacagact ctggtcttca      60
ta                                              62
<210>      101
<211>      54
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Iniciador reverso de oligonucleotídeo sintético
<400>      101
ggggaccact ttgtacaaga aagctggggtc taacactcat tcctgttgaa gctc      54
<210>      102
<211>      30
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Iniciador hHGF NotI iniciador oligonucleotídeo 5 sintético
<400>      102
actgggctagc atgtgggtga ccaaactcct      30
<210>      103
<211>      46
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Iniciador hHGF NotI his tag iniciador oligonucleotídeo 3 sinté-
tico

```

```

<400>      103
gtgatggtga tggatgatggc ggccgcatga ctgtggtacc ttatat      46
<210>      104
<211>      30
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Iniciador His IgFc iniciador oligonucleotídeo 3 sintético
<400>      104

actggcggcc gccatcacca tcaccatcac      30
<210>      105
<211>      31
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Iniciador IgFc BamHI iniciador oligonucleotídeo 3 sintético
<400>      105
actgggatcc tcactattta cccggggaca g      31
<210>      106
<211>      27
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Iniciador sentido hHGF-Fc (G555E) sintético
<400>      106
catgatgtcc acgaaagagg agatgag      27
<210>      107
<211>      27
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Iniciador antissentido hHGF-Fc (G555E) sintético
<400>      107
ctcatctcct ctttcgtgga catcatg      27
<210>      108
<211>      37
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Iniciador sentido hHGF-Fc (C561R) sintético
<400>      108
ggaagaggag atgagaaacg caaacagggtt ctcaatg      37
<210>      109
<211>      37
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Iniciador antissentido hHGF-Fc (C561R) sintético
<400>      109
cattgagaac ctgtttgcgt ttctcatctc ctcttcc      37
<210>      110
<211>      29
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Iniciador de fragmento 1 sintético para cadeia 5 alfa mHGF ini-
ciador NheI
<400>      110
atcggctagc atgatgtggg ggaccaaac      29
<210>      111
<211>      36
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial

```

```

<220>
<223>      Iniciador de fragmento 1 sintético para cadeia 5 Alfa mHGF ini-
          ciador NheI

<400>      111
ggttttgttt tgttgacgcc caacatttac cctaag          36
<210>      112
<211>      36
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Iniciador de fragmento 2 sintético para cadeia beta hHGF V495-
          L585
<400>      112

ccaaaacaaa acaactgcgg gttgtaaatg ggattc          36
<210>      113
<211>      40
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Iniciador de fragmento 2 sintético para beta cadeia hHGF V495-
          L585
<400>      113
tctagaccaa aattacttcg aacgagctgg acgttaggac          40
<210>      114
<211>      40
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Iniciador de fragmento 3 sintético para beta cadeia mHGF C-
          término
<400>      114
agatctgggt ttaatgaagc ttgctcgacc tgcaatcctg          40
<210>      115
<211>      48
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Iniciador de fragmento 3 sintético para beta cadeia mHGF C-
          término
<400>      115
cactaccact accataccg cgggctgtt gaacatacag ttttaatg          48
<210>      116
<211>      38
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Iniciador de mutagênese sintético 1
<400>      116
catcaccatc accatcacta agcgggtctg gtgccacg          38
<210>      117
<211>      38
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Iniciador de mutagênese sintético 2
<400>      117
cgtggcacca gaccgctta gtgatggtga tggatgatg          38
<210>      118
<211>      2922
<212>      DNA

```

```

<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Sequência de nucleotídeo de proteína hHGF-Fc sintético
<400>      118
atgtgggtga ccaaactcct gccagccctg ctgctgcagc atgtcctcct gcattctctc      60
ctgctcccca tcgccatccc ctatgcagag ggacaaaagg aaagaagaaa tacaattcat      120
gaattcaaaa aatcagcaaa gactacccta atcaaaatag atccagcact gaagataaaa      180
acaaaaaaag tgaatactgc agaccaatgt gctaatagat gtactaggaa taaaggactt      240
ccattcactt gcaaggcttt tgtttttgat aaagcaagaa aacaatgcct ctgggtcccc      300
ttcaatagca tgtcaagtgg agtgaaaaaa gaatttggcc atgaatttga cctctatgaa      360
aacaaagact acattagaaa ctgcatcatt ggtaaaggac gcagctacaa gggaacagta      420
tctatcacta agatgggcat caaatgtcag ccctggagtt ccatgatacc acacgaacac      480
agctttttgc cttcgagcta tcggggtaaa gacctacagg aaaactactg tcgaaatcct      540
cgaggggaag aagggggacc ctggtgtttc acaagcaatc cagaggtacg ctacgaagtc      600
tgtgacattc ctcatgtttc agaagttgaa tgcattgacg gcaatgggga gagttatcga      660
gggtctcatg atcatacaga atcaggcaag atttgtcagc gctgggatca tcagacacca      720
caccggcaca aattcttggc tgaaagatat cccgacaagg gctttgatga taattattgc      780
cgcaatcccg atggccagcc gaggccatgg tgctatactc ttgacctca caccgctgg      840
gagtactgtg caattaaaaac atcgctgac aatactatga atgacactga tgttcctttg      900
gaaacaactg aatgcatcca aggtcaagga gaaggctaca ggggcactgt caataccatt      960
tggaatggaa ttccatgtca gcgttgggat tctcagtatc ctacagagca tgacatgact     1020
cctgaaaatt tcaagtgcga ggacctacga gaaaattact gccgaaatcc agatgggtct     1080
gaatcaccct ggtgttttac cactgatcca aacatccgag ttggctactg ctcccaaatt     1140
ccaaactgtg atatgtcaca tggacaagat tgttatcgtg ggaatggcaa aaattatatg     1200
ggcaacttat cccaacaacg atctggacta acatgttcaa tgtgggacaa gaacatggaa     1260
gacttacatc gtcatatctt ctgggaacca gatgcaagta agctgaatga gaattactgc     1320
cgaaatccag atgatgatgc tcatggaccc tgggtgtaca cgggaaatcc actcattcct     1380
tgggattatt gccctatttc tcgttgtgaa ggtgatacca cacctacaat agtcaattta     1440
gaccatcccg taatatcttg tgccaaaacg aaacaattgc gagttgtaaa tgggattcca     1500
acacgaacaa acataggatg gatggttagt ttgagatata gaaataaaca tatctgcgga     1560
ggatcattga taaaggagag ttgggttctt actgcacgac agtgtttccc ttctcgagac     1620
ttgaaagatt atgaagcttg gcttggaaat catgatgtcc acggaagagg agatgagaaa     1680
tgcaaacagg ttctcaatgt ttcccagctg gtatatggcc ctgaaggatc agatctgggt     1740
ttaatgaagc ttgccaggcc tgctgtctcg gatgattttg ttagtacgat tgatttacct     1800
aattatggat gcacaattcc tgaaaagacc agttgcagtg tttatggctg gggctacact     1860
ggattgatca actatgatgg cctattacga gtggcacatc tctatataat gggaaatgag     1920
aaatgcagcc agcatcatcg agggaagggt actctgaatg agtctgaaat atgtgctggg     1980
gctgaaaaga ttggatcagg accatgtgag ggggattatg gtggccactg tgtttgtgag     2040
caacataaaa tgagaatggg tcttgggtgc attgttctcg gtcgtggatg tgccattcca     2100
aatcgtcctg gtatttttgt ccgagtagca tattatgcaa aatggatata caaaattatt     2160
ttaacatata aggtaccaca gtcattcgcc cgccatcacc atcaccatca ctccgcggtg     2220
ctggtgccac gcggtagtga caaaactcac acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc     2280
ctggggggac cgtcagtcct cctcttcccc ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc     2340
cggaccctcg aggtcacatg cgtggtgggtg gacgtgagcc acgaagaccc tgagggtcaag     2400
ttcaactggg acgtggacgg cgtggagggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag     2460
cagtacaaca gcacgtaccg tgtgggtcagc gtctcaccg tcctgcacca ggactggctg     2520
aatggcaagg agtacaagtg caagggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa     2580
accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gccccatcc     2640
cgggaggaga tgaccaagaa ccagggtcagc ctgacctgcc tgggtcaaagg cttctatccc     2700
agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg     2760
cctcccgtgc tggactccga cggtccttc ttctctata gcaagctcac cgtggacaag     2820
agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctcgtga tgcattgagg tctgcacaac     2880
cactacacgc agaagagcct ctccctgtcc ccgggtaaat ag                               2922
<210>      119
<211>      919
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Sequência de aminoácido de proteína hHGF-Fc sintético
              (sem sequência de sinal e pró-domínio)
<400>      119
Pro Ala Leu Lys Ile Lys Thr Lys Lys Val Asn Thr Ala Asp Gln Cys
1              5              10              15

```

Ala	Asn	Arg	Cys	Thr	Arg	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Phe	Thr	Cys	Lys	Ala
			20					25					30		
Phe	Val	Phe	Asp	Lys	Ala	Arg	Lys	Gln	Cys	Leu	Trp	Phe	Pro	Phe	Asn
		35					40					45			
Ser	Met	Ser	Ser	Gly	Val	Lys	Lys	Glu	Phe	Gly	His	Glu	Phe	Asp	Leu
	50					55					60				
Tyr	Glu	Asn	Lys	Asp	Tyr	Ile	Arg	Asn	Cys	Ile	Ile	Gly	Lys	Gly	Arg
65					70					75					80
Ser	Tyr	Lys	Gly	Thr	Val	Ser	Ile	Thr	Lys	Ser	Gly	Ile	Lys	Cys	Gln
				85					90					95	
Pro	Trp	Ser	Ser	Met	Ile	Pro	His	Glu	His	Ser	Phe	Leu	Pro	Ser	Ser
				100				105					110		
Tyr	Arg	Gly	Lys	Asp	Leu	Gln	Glu	Asn	Tyr	Cys	Arg	Asn	Pro	Arg	Gly
		115					120					125			
Glu	Glu	Gly	Gly	Pro	Trp	Cys	Phe	Thr	Ser	Asn	Pro	Glu	Val	Arg	Tyr
	130					135					140				
Glu	Val	Cys	Asp	Ile	Pro	Gln	Cys	Ser	Glu	Val	Glu	Cys	Met	Thr	Cys
145					150					155					160
Asn	Gly	Glu	Ser	Tyr	Arg	Gly	Leu	Met	Asp	His	Thr	Glu	Ser	Gly	Lys
				165					170					175	
Ile	Cys	Gln	Arg	Trp	Asp	His	Gln	Thr	Pro	His	Arg	His	Lys	Phe	Leu
			180					185					190		
Pro	Glu	Arg	Tyr	Pro	Asp	Lys	Gly	Phe	Asp	Asp	Asn	Tyr	Cys	Arg	Asn
		195					200					205			
Pro	Asp	Gly	Gln	Pro	Arg	Pro	Trp	Cys	Tyr	Thr	Leu	Asp	Pro	His	Thr
	210					215					220				
Arg	Trp	Glu	Tyr	Cys	Ala	Ile	Lys	Thr	Cys	Ala	Asp	Asn	Thr	Met	Asn
225					230					235					240
Asp	Thr	Asp	Val	Pro	Leu	Glu	Thr	Thr	Glu	Cys	Ile	Gln	Gly	Gln	Gly
				245					250					255	
Glu	Gly	Tyr	Arg	Gly	Thr	Val	Asn	Thr	Ile	Trp	Asn	Gly	Ile	Pro	Cys
		260						265					270		
Gln	Arg	Trp	Asp	Ser	Gln	Tyr	Pro	His	Glu	His	Asp	Met	Thr	Pro	Glu
		275					280					285			
Asn	Phe	Lys	Cys	Lys	Asp	Leu	Arg	Glu	Asn	Tyr	Cys	Arg	Asn	Pro	Asp
	290					295					300				
Gly	Ser	Glu	Ser	Pro	Trp	Cys	Phe	Thr	Thr	Asp	Pro	Asn	Ile	Arg	Val
305					310					315					320
Gly	Tyr	Cys	Ser	Gln	Ile	Pro	Asn	Cys	Asp	Met	Ser	His	Gly	Gln	Asp
			325						330					335	
Cys	Tyr	Arg	Gly	Asn	Gly	Lys	Asn	Tyr	Met	Gly	Asn	Leu	Ser	Gln	Thr
			340						345					350	
Arg	Ser	Gly	Leu	Thr	Cys	Ser	Met	Trp	Asp	Lys	Asn	Met	Glu	Asp	Leu
		355					360					365			
His	Arg	His	Ile	Phe	Trp	Glu	Pro	Asp	Ala	Ser	Lys	Leu	Asn	Glu	Asn
		370					375					380			
Tyr	Cys	Arg	Asn	Pro	Asp	Asp	Asp	Ala	His	Gly	Pro	Trp	Cys	Tyr	Thr
385					390					395					400
Gly	Asn	Pro	Leu	Ile	Pro	Trp	Asp	Tyr	Cys	Pro	Ile	Ser	Arg	Cys	Glu
				405					410					415	
Gly	Asp	Thr	Thr	Pro	Thr	Ile	Val	Asn	Leu	Asp	His	Pro	Val	Ile	Ser
			420					425					430		
Cys	Ala	Lys	Thr	Lys	Gln	Leu	Arg	Val	Val	Asn	Gly	Ile	Pro	Thr	Arg
		435					440					445			
Thr	Asn	Ile	Gly	Trp	Met	Val	Ser	Leu	Arg	Tyr	Arg	Asn	Lys	His	Ile
	450					455						460			
Cys	Gly	Gly	Ser	Leu	Ile	Lys	Glu	Ser	Trp	Val	Leu	Thr	Ala	Arg	Gln
465					470					475					480
Cys	Phe	Pro	Ser	Arg	Asp	Leu	Lys	Asp	Tyr	Glu	Ala	Trp	Leu	Gly	Ile
				485					490					495	
His	Asp	Val	His	Gly	Arg	Gly	Asp	Glu	Lys	Cys	Lys	Gln	Val	Leu	Asn
			500					505					510		
Val	Ser	Gln	Leu	Val	Tyr	Gly	Pro	Glu	Gly	Ser	Asp	Leu	Val	Leu	Met
			515				520						525		

Lys Leu Ala Arg Pro Ala Val Leu Asp Asp Phe Val Ser Thr Ile Asp
 530 535 540
 Leu Pro Asn Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu Lys Thr Ser Cys Ser Val
 545 550 555 560
 Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn Tyr Asp Gly Leu Leu Arg
 565 570 575
 Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu Lys Cys Ser Gln His His
 580 585 590
 Arg Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu Ile Cys Ala Gly Ala Glu
 595 600 605
 Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp Tyr Gly Gly Pro Leu Val
 610 615 620
 Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu Gly Val Ile Val Pro Gly
 625 630 635 640
 Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Gly Ile Phe Val Arg Val Ala
 645 650 655
 Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Ile Ile Leu Thr Tyr Lys Val Pro
 660 665 670
 Gln Ser Cys Gly Arg His His His His Ser Ala Gly Leu Val
 675 680 685
 Pro Arg Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 690 695 700
 Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 705 710 715 720
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 725 730 735
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 740 745 750
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 755 760 765
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 770 775 780
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 785 790 795 800
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 805 810 815
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
 820 825 830
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 835 840 845
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 850 855 860
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 865 870 875 880
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 885 890 895
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 900 905 910
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 915

<210> 120
 <211> 2901
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Sequência nucleotídeo que codifica proteína quimérica mhm (V495-
 L585)-Fc
 <400> 120
 atgatgtggg ggaccaaact tctgccggtc ctgttgctgc agcatgtcct cctgcacctc 60
 ctctgtcttc atgtcgccat cccctatgca gaaggacaga agaaaagaag aaatacatt 120
 catgaatttta aaaagtcagc aaaaactact cttaccaagg aagaccatt actgaagatt 180
 aaaacaaaaa aagtgaactc tgcagatgag tgtgccaaac ggtgtatcag gaacaggggc 240
 ttacgttca cttgcaaggc cttcgttttt gataagtcaa gaaaacgatg ctactggtat 300

```

cctttcaata gtatgtcaag tggagtgaag aaaggggttg gccatgaatt tgacctctat 360
gaaaacaaag actatattag aaactgcac attggttaaag gaggcagcta taaagggacg 420
gtatccatca ctaagagtgg catcaaagtc cagccttgga attccatgat ccccatgaa 480
cacagctatc gcggtaaaga cctacaggaa aactactgtc gaaatcctcg aggggaagaa 540
gggggaccct ggtgtttcac aagcaatcca gaggtacgct acgaagtctg tgacattcct 600
cagtgttcag aagttgaatg catgacctgc aatggtgaaa gctacagagg tcccatggat 660
cacacagaat caggcaagac ttgtcagcgc tgggaccagc agacaccaca ccggcacaag 720
ttcttgccag aaagatatcc cgacaagggc tttgatgata attattgccg caatcctgat 780
ggcaagccga ggccatgggt ctacactctt gaccttgaca ccccttgga gtattgtgca 840
attaaaacgt gcgctcacag tgctgtgaat gagactgatg tccctatgga aacaactgaa 900
tgcatgcaag gccaggaga aggttacagg ggaaccagca ataccatttg gaatggaatt 960
ccctgtcagc gttgggattc gcagtaccct cacaagcatg atatcactcc cgagaacttc 1020
aaatgcaagg accttagaga aaattattgc cgcaatccag atggggctga atcaccatgg 1080
tgttttacca ctgacccaaa catccgagtt ggctactgct ctcaaattcc caagtgtgac 1140
gtgtcaagtg gacaagattg ttatcgtggc aatgggaaaa attacatggg caacttatcc 1200
aaaacaaggc ctggacttac atgttccatg tgggacaaga atatggagga ttacaccgt 1260
catatcttct gggagccaga tgctagcaaa ttgaataaga attactgccg gaatcctgat 1320
gatgatgccc atggaccttg gtgctacacg gggaatcctc ttattccttg ggattattgc 1380
cctatttccc gttgtgaagg agatactaca cctacaattg tcaatttggg ccatcctgta 1440
atatcctgtg ccaaaacaaa acaactgcgg gttgtaaatg ggattccaac acgaacaaac 1500
ataggatgga tggttagttt gagatacaga aataaacata tctgcggagg atcattgata 1560
aaggagagtt gggttcttac tgcacgacag tgtttccctt ctcgagactt gaaagattat 1620
gaagcttggc ttggaattca tgatgtccac ggaagaggag atgagaaatg caaacaggtt 1680
ctcaatgttt cccagctggt atatggcctt gaaggatcag atctggtttt aatgaagctt 1740
gctcgacctg caatcctgga taactttgtc agtacaattg atttacctag ttatggttgt 1800
acaatccctg aaaagaccac ttgcagtatt tacggctggg gctacactgg attgatcaac 1860
gcggatgggt tattacgagt agctcatctg tatattatgg ggaatgagaa atgcagtcag 1920
caccatcaag gcaaggtgac tttgaatgag tctgagttat gtgctggggc tgaaaagatt 1980
ggatcaggac catgtgaggg agattatggt ggccactca tttgtgaaca acacaaaatg 2040
agaatgggtc ttggtgtcat tgttctggt cgtggatgtg ccatcccaa tcgtcctggt 2100
atttttgttc gagtagcata ttatgcaaaa tggatacaca aagtaatttt gacatacaag 2160
ttgtgcggcc gccatcacca tcaccatcac tccgcgggtc tgggtgccac cggtagtgc 2220
aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaactcc tggggggacc gtcagtcttc 2280
ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc 2340
tggtgtgttg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 2400
gtggaggtgc ataagccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 2460
gtggtcagcg tcctcacctg cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 2520
aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 2580
cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac 2640
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatgc cgtggagtgg 2700
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccagc ctcccgtgct ggactccgac 2760
ggctcttct tcctctatag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 2820
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 2880
tcctgtcccc cgggtaaata g 2901

```

<210> 121

<211> 911

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> sequência de aminiácido de forma ativa mhm-Fc sintético (sequência de sinal) e pró-domínio removido)

<400> 121

```

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

```

Ser	Tyr	Lys	Gly	Thr	Val	Ser	Ile	Thr	Lys	Ser	Gly	Ile	Lys	Cys	Gln	85	90	95
Pro	Trp	Asn	Ser	Met	Ile	Pro	His	Glu	His	Ser	Tyr	Arg	Gly	Lys	Asp	100	105	110
Leu	Gln	Glu	Asn	Tyr	Cys	Arg	Asn	Pro	Arg	Gly	Glu	Glu	Gly	Gly	Pro	115	120	125
Trp	Cys	Phe	Thr	Ser	Asn	Pro	Glu	Val	Arg	Tyr	Glu	Val	Cys	Asp	Ile	130	135	140
Pro	Gln	Cys	Ser	Glu	Val	Glu	Cys	Met	Thr	Cys	Asn	Gly	Glu	Ser	Tyr	145	150	155
Arg	Gly	Pro	Met	Asp	His	Thr	Glu	Ser	Gly	Lys	Thr	Cys	Gln	Arg	Trp	165	170	175
Asp	Gln	Gln	Thr	Pro	His	Arg	His	Lys	Phe	Leu	Pro	Glu	Arg	Tyr	Pro	180	185	190
Asp	Lys	Gly	Phe	Asp	Asp	Asn	Tyr	Cys	Arg	Asn	Pro	Asp	Gly	Lys	Pro	195	200	205
Arg	Pro	Trp	Cys	Tyr	Thr	Leu	Asp	Pro	Asp	Thr	Pro	Trp	Glu	Tyr	Cys	210	215	220
Ala	Ile	Lys	Thr	Cys	Ala	His	Ser	Ala	Val	Asn	Glu	Thr	Asp	Val	Pro	225	230	235
Met	Glu	Thr	Thr	Glu	Cys	Ile	Gln	Gly	Gln	Gly	Glu	Gly	Tyr	Arg	Gly	245	250	255
Thr	Ser	Asn	Thr	Ile	Trp	Asn	Gly	Ile	Pro	Cys	Gln	Arg	Trp	Asp	Ser	260	265	270
Gln	Tyr	Pro	His	Lys	His	Asp	Ile	Thr	Pro	Glu	Asn	Phe	Lys	Cys	Lys	275	280	285
Asp	Leu	Arg	Glu	Asn	Tyr	Cys	Arg	Asn	Pro	Asp	Gly	Ala	Glu	Ser	Pro	290	295	300
Trp	Cys	Phe	Thr	Thr	Asp	Pro	Asn	Ile	Arg	Val	Gly	Tyr	Cys	Ser	Gln	305	310	315
Ile	Pro	Lys	Cys	Asp	Val	Ser	Ser	Gly	Gln	Asp	Cys	Tyr	Arg	Gly	Asn	325	330	335
Gly	Lys	Asn	Tyr	Met	Gly	Asn	Leu	Ser	Lys	Thr	Arg	Ser	Gly	Leu	Thr	340	345	350
Cys	Ser	Met	Trp	Asp	Lys	Asn	Met	Glu	Asp	Leu	His	Arg	His	Ile	Phe	355	360	365
Trp	Glu	Pro	Asp	Ala	Ser	Lys	Leu	Asn	Lys	Asn	Tyr	Cys	Arg	Asn	Pro	370	375	380
Asp	Asp	Asp	Ala	His	Gly	Pro	Trp	Cys	Tyr	Thr	Gly	Asn	Pro	Leu	Ile	385	390	395
Pro	Trp	Asp	Tyr	Cys	Pro	Ile	Ser	Arg	Cys	Glu	Gly	Asp	Thr	Thr	Pro	405	410	415
Thr	Ile	Val	Asn	Leu	Asp	His	Pro	Val	Ile	Ser	Cys	Ala	Lys	Thr	Lys	420	425	430
Gln	Leu	Arg	Val	Val	Asn	Gly	Ile	Pro	Thr	Arg	Thr	Asn	Ile	Gly	Trp	435	440	445
Met	Val	Ser	Leu	Arg	Tyr	Arg	Asn	Lys	His	Ile	Cys	Gly	Gly	Ser	Leu	450	455	460
Ile	Lys	Glu	Ser	Trp	Val	Leu	Thr	Ala	Arg	Gln	Cys	Phe	Pro	Ser	Arg	465	470	475
Asp	Leu	Lys	Asp	Tyr	Glu	Ala	Trp	Leu	Gly	Ile	His	Asp	Val	His	Gly	485	490	495
Arg	Gly	Asp	Glu	Lys	Cys	Lys	Gln	Val	Leu	Asn	Val	Ser	Gln	Leu	Val	500	505	510
Tyr	Gly	Pro	Glu	Gly	Ser	Asp	Leu	Val	Leu	Met	Lys	Leu	Ala	Arg	Pro	515	520	525
Ala	Ile	Leu	Asp	Asn	Phe	Val	Ser	Thr	Ile	Asp	Leu	Pro	Ser	Tyr	Gly	530	535	540
Cys	Thr	Ile	Pro	Glu	Lys	Thr	Thr	Cys	Ser	Ile	Tyr	Gly	Trp	Gly	Tyr	545	550	555
Thr	Gly	Leu	Ile	Asn	Ala	Asp	Gly	Leu	Leu	Arg	Val	Ala	His	Leu	Tyr	565	570	575
Ile	Met	Gly	Asn	Glu	Lys	Cys	Ser	Gln	His	His	Gln	Gly	Lys	Val	Thr	580	585	590

[illegible]

```

gtggtagaca tcagcaagga tgatcccgag gtccagttca gctgggtttgt agatgatgtg      900
gaggtgcaca cagctcagac gcaaccccgaggaggagcagt tcaacagcac tttccgctca      960
gtcagtgaac ttcccatcat gcaccaggac tggctcaatg gcaaggagtt caaatgcagg      1020
gtcaacagtg cagctttccc tgcccccatac gagaaaacca tctccaaaac caaaggcaga      1080
ccgaaggctc cacaggtgta caccattcca cctcccaagg agcagatggc caaggataaa      1140
gtcagtctga cctgcatgat aacagacttc ttccctgaag acattactgt ggagtggcag      1200
tggaatgggc agccagcggg gaactacaag aacactcagc ccatcatgga cacagatggc      1260
tcttacttcg tctacagcaa gctcaatgtg cagaagagca actggggaggc agggaaatact      1320
ttcacctgct ctgtgtttaca tgagggcctg cacaaccacc atactgagaa gagcctctcc      1380
cactctcctg gtaaatga                                     1398

```

```

<210>      123
<211>      446
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Sequência de proteína que defininda sequência de cadeia pesada
            1A3 de comprimento total (1A3) região variável de cadeia pesada
            1A3 e região constante IggG1) (sem sequência de sinal)

```

```

<400>      123
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1          5          10          15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
          20          25          30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Gln Trp Val
          35          40          45
Ala Tyr Ile Ser Pro Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Tyr Pro Ala Ser Val
          50          55          60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65          70          75          80
Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
          85          90          95
Ala Arg Gln Gly Asp Gly Tyr Tyr Gly Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
          100          105          110
Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro
          115          120          125
Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met
          130          135          140
Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145          150          155          160
Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro
          165          170          175
Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val
          180          185          190
Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His
          195          200          205
Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys
210          215          220
Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe
225          230          235          240
Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro
          245          250          255
Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val
          260          265          270
Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr
          275          280          285
Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu
290          295          300
Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys
305          310          315          320
Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
          325          330          335
Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro

```

340 345 350
 Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile
 355 360 365
 Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp
 405 410 415
 Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His
 420 425 430
 Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 124
 <211> 705
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Sequência de ácido nucleico que codifica sequência de cadeia
 pesada 2B8 de comp. total sintético (Região variável de cadeia
 pesada 2B8 e região constante IgG1)
 <400> 124
 atgagtgatgc ccactcaggt cctgggggttg ctgctgctgt ggcttacaga tgccagatgt 60
 gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgttt ctgtgggaga aactgtcacc 120
 atcacatgtc gagcaagtga gaatatttat agtaatttag catggtatca gcagaaacag 180
 ggaaaatctc ctcagctcct ggtctatgct gcaacaaact tagcagatgg tgtgccatca 240
 aggttcagtg gcagtggtatc aggcacacag ttttcctca agatcaacag cctgcagtct 300
 gaagattttg ggacttatta ctgtcaacat ttttggggta ctccgtacac gttcggaggg 360
 gggaccaagc tggaaataaaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca 420
 tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcctttaa caacttctac 480
 cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgctcctg 540
 aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcatg 600
 ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca 660
 tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gttag 705
 <210> 125
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Sequência de proteína que definindo sequência de cadeia pesada
 1A3 de comprimento total (1A3) região variável de cadeia pesada
 1A3 e região constante IggG1) (sem sequência de sinal)
 <400> 125
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
 100 105 110
 Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
 115 120 125
 Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
 130 135 140
 Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
 145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Met Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
 180 185 190
 Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Asn Glu Cys
 210

<210> 126
 <211> 1386
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length
 2B8 Heavy Chain Sequence (2B8 Heavy Chain Variable Region and
 IgG1 Constant Region)

<400> 126
 atgggatgga gctatatcat cctctttttg gtagcaacag ctacagatgt ccactcccag 60
 gtccaactgc agcagcctgg ggctgaactg gtgaagcctg ggacttcagt gaagctgtcc 120
 tgcaaggcct ctggctacac cttcaccacc tactggatgc actgggtgaa tcagaggcct 180
 ggacaaggcc ttgagtggat tggagagatt aatcctacca acggtcatac taactacaat 240
 gagaagttca agagcaaggc cacactgact gtagacaaat cctccagcac agcctacatg 300
 caactcagca gcctgacatc tgaggactct gcggtctatt actgtgcaag aaactatggt 360
 ggtagcatct ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtctctc agccaaaacg 420
 acacccccat ctgtctatcc actggcccct ggatctgctg cccaaactaa ctccatgggtg 480
 accctgggat gcctgggtcaa gggctatttc cctgagccag tgacagtgc ctggaactct 540
 ggatccctgt ccagcgggtg gcacaccttc ccagctgtcc tgcagtctga cctctacact 600
 ctgagcagct cagtactgt cccctccagc acctggccca gcgagaccgt cacctgcaac 660
 gttgcccacc cggccagcag caccaagggt gacaagaaaa ttgtgcccag ggattgtggt 720
 tgtaagcctt gcatatgtac agtcccagaa gtatcatctg tcttcatctt cccccaaag 780
 cccaaggatg tgctcaccat tactctgact cctaagggtc cgtgtgttgc ggtagacatc 840
 agcaaggatg atcccgaggt ccagttcagc tggttttag atgatgtgga ggtgcacaca 900
 gctcagacgc aaccccggga ggagcagttc aacagcactt tccgctcagt cagtgaactt 960
 cccatcatgc accaggactg gctcaatggc aaggagttca aatgcagggt caacagtgc 1020
 gctttccctg ccccatcgaa gaaaaccatc tccaaaacca aaggcagacc gaaggtcca 1080
 caggtgtaca ccattccacc tcccaaggag cagatggcca aggataaagt cagtctgacc 1140
 tgcatgataa cagacttctt ccttgaagac attactgtgg agtggcagtg gaatgggcag 1200
 ccagcggaga actacaagaa cactcagccc atcatggaca cagatggctc ttacttcgtc 1260
 tacagcaagc tcaatgtgca gaagagcaac tgggaggcag gaaatacttt cacctgctct 1320
 gtgttacatg agggcctgca caaccacat actgagaaga gcctctccca ctctcctggt 1380
 aatga 1386

<210> 127
 <211> 442
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Protein Sequence Defining synthetic Full Length 2B8 Heavy
 Chain Sequence (2B8 Heavy Chain Variable Region and IgG1 Constant
 Region) (without signal sequence)

<400> 127
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Thr
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30
 Trp Met His Trp Val Asn Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asn Tyr Val Gly Ser Ile Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

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

<210> 128

<211> 705

<212> DNA

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length 2B8
 Light Chain Sequence (2B8 Capa Variable Region and Constant Region)

<400> 128

atggaatcac agactctggt cttcatatcc atactgctct ggttatatgg tgctgatggg 60
 aacattgtaa tgacccaatc tccaaatcc atgtccatgt cagtaggaga gagggtcacc 120
 ttgagctgca aggccagtga gaatgtggtt tcttatgtat cctggatatca acagaaacca 180
 gcgcagtctc ctaaactgct gatatacggg gcatccaacc ggaacactgg ggtccccgat 240
 cgcttcacag gcagtgatc tgcaacagat ttcactctga ccatcagcag tgtgcgggct 300
 gaagaccttg cagattatca ctgtgggcag agttacaact atccgtacac gttcggaggg 360
 gggaccaggc tggaataaaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca 420
 tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtctgtg gcttcttgaa caacttctac 480
 cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgctcctg 540
 aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg 600
 ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca 660
 tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gtttag 705

<210> 129

<211> 214

```

<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Protein Sequence Defining synthetic Full Length 2B8 Light
Chain Sequence (2B8 Capa Variable Region and Constant Region)
(without signal sequence)
<400>      129
Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser Met Ser Val Gly
1      5      10      15
Glu Arg Val Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Val Ser Tyr
20      25      30
Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Ala Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35      40      45
Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Asn Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50      55      60
Ser Gly Ser Ala Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Arg Ala
65      70      75      80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr His Cys Gly Gln Ser Tyr Asn Tyr Pro Tyr
85      90      95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
100     105     110
Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115     120     125
Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130     135     140
Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145     150     155     160
Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165     170     175
Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
180     185     190
Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
195     200     205
Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210
<210>      130
<211>      1386
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length 2F8
Heavy Chain Sequence (2F8 Heavy Chain Variable Region and IgG1
Constant Region)
<400>      130
atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctgcaggtgt ccaactgccag      60
gtccagctga agcagtcctg agctgagctg gtgaggcctg ggacttcagt gaagatgtcc      120
tgcaaggctt ctggctacac cttcactacc tactatatac actgggtgaa tcagaggcct      180
ggacagggcc ttgagtggat tggaaagatt ggtcctggaa gtggtagtac ttactacaat      240
gagatgttca aagacaaggc cacattgact gtagacacat cctccagcac agcctacatg      300
cagctcagca gcctgacatc tgacgactct gcggtctatt tctgtgcaag aaggggactg      360
ggacgtggct ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtctcttc agccaaaacg      420
acaccccat ctgtctatcc actggcccct ggatctgctg cccaaactaa ctccatggtg      480
accctgggat gcctggtcaa gggctatttc cctgagccag tgacagtgc ctggaactct      540
ggatccctgt ccagcgggtg gcacaccttc ccagctgtcc tgcagtctga cctctacact      600
ctgagcagct cagtgcactg cccctccagc acctggccca gcgagaccgt cacctgaac      660
gttgcccacc cggccagcag cccaagggtg gacaagaaaa ttgtgccag ggattgtgt      720
tgtaagcctt gcatatgtac agtcccagaa gtatcatctg tcttcatctt cccccaaag      780
cccaaggatg tgctcaccat tactctgact cctaagggtc cgtgtgttgt ggtagacatc      840
agcaaggatg atcccagagt ccagttcagc tggttttag atgatgtgga ggtgcacaca      900
gctcagacgc aaccccgga ggagcagttc aacagcactt tccgctcagt cagtgaactt      960
cccacatcgc accaggactg gctcaatggc aaggagttca aatgcagggt caacagtgc      1020
gctttccctg cccccatcga gaaaaccatc tccaaaacca aaggcagacc gaaggctcca      1080
caggtgtaca ccattccacc tcccaaggag cagatggcca aggataaagt cagtctgacc      1140
tgcatagata cagacttctt ccctgaagac attactgtgg agtggcagtg gaatgggcag      1200

```

```

ccagcggaga actacaagaa cactcagccc atcatggaca cagatggctc ttacttcgctc 1260
tacagcaagc tcaatgtgca gaagagcaac tgggaggcag gaaatacttt cacctgctct 1320
gtgttacatg agggcctgca caaccaccat actgagaaga gcctctccca ctctcctggt 1380
aaatga 1386

```

<210> 131

<211> 442

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Protein Sequence Defining synthetic Full Length 2F8 Heavy Chain Sequence (2F8 Heavy Chain Variable Region and IgG1 Constant Region) (without signal sequence)

<400> 131

```

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

```

405 410 415
 Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr
 420 425 430
 Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
 435 440
 <210> 132
 <211> 717
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length 2F8 Light
 Chain Sequence (2F8 Capa Variable Region and Constant Region)
 <400> 132
 atggagacag acacaatcct gctatgggtg ctgctgctct gggttccagg ctccactggt 60
 gacattgtgc tgacccaatc tccagcttct ttggctgtgt ctctagggca gagggccacc 120
 atctcctgca aggccagcca aagtgttgat tatgatggta atagttatat caactggtac 180
 caacagaaac caggacagcc acccaaagtc ctcatctatg ttgcatccaa tctagaatct 240
 gggatcccag ccaggtttag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatccat 300
 cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcagc aaagtattga ggatcctccc 360
 acgttcggtg ctgggaccaa gctggagctg aaacgggctg atgctgcacc aactgtatcc 420
 atcttcccac catccagtga gcagttaaca tctggagggtg cctcagtcgt gtgcttcttg 480
 aacaacttct accccaaaga catcaatgtc aagtgggaaga ttgatggcag tgaacgacaa 540
 aatggcgctcc tgaacagttg gactgatcag gacagcaaag acagcaccta cagcatgagc 600
 agcaccctca cgttgaccaa ggacgagtat gaacgacata acagctatac ctgtgaggcc 660
 actcacaaga catcaacttc acccattgtc aagagcttca acaggaatga gtgttag 717
 <210> 133
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Protein Sequence Defining synthetic Full Length 2F8 Light
 Chain Sequence (2F8 Capa Variable Region and Constant Region)
 (without signal sequence)
 <400> 133
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
 20 25 30
 Gly Asn Ser Tyr Ile Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 Lys Val Leu Ile Tyr Val Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
 65 70 75 80
 Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ile
 85 90 95
 Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
 100 105 110
 Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
 115 120 125
 Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140
 Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln
 145 150 155 160
 Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 165 170 175
 Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg
 180 185 190
 His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro
 195 200 205
 Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
 210 215
 <210> 134
 <211> 1392

<212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length 3B6 Heavy Chain Sequence (3B6 Heavy Chain Variable Region and IgG1 Constant Region)
 <400> 134

atggaatggc	cttgtatctt	tctcttcttc	ctgtcagtaa	ctgaaggtgt	ccactcccag	60
gttcagctgc	agcagtctgg	ggctgaactg	gtgaggcctg	ggtcctcagt	gaagatttcc	120
tgcaaggctt	ctggctatgt	attcagtagc	tactggatga	actgggtgaa	gcagaggcct	180
ggacagggtc	ttgagtggat	tggacagatt	tatcctggag	atgggtgatag	taactacaat	240
ggaaacttca	agggtaaaagc	cacactgact	gcagacaaat	cctccagtac	agcctacatg	300
cagctcagca	gcctaacatc	tgaggactct	gcggtctatt	tctgtgcatc	ccagctcggg	360
ctacgtgaga	actactttga	ctactggggc	caaggcacca	ctctcacagt	ctcctcagcc	420
aaaacgacac	ccccatctgt	ctatccactg	gccctgggat	ctgctgcca	aactaactcc	480
atggtgaccc	tgggatgcct	gggtcaagggc	tatttccctg	agccagtgc	agtgcactgg	540
aactctggat	ccctgtccag	cgggtgtgcac	accttcccag	ctgtcctgca	gtctgacctc	600
tacactctga	gcagctcagt	gactgtcccc	tccagcacct	ggcccagcga	gaccgtcacc	660
tgcaacgttg	cccccccggc	cagcagcacc	aaggtggaca	agaaaattgt	gccctaggat	720
tgtggttgta	agccttgcac	atgtacagtc	ccagaagtat	catctgtctt	catcttcccc	780
ccaaagccca	aggatgtgct	caccattact	ctgactccta	aggtcacgtg	tgttggtgta	840
gacatcagca	aggatgatcc	cgagggtccag	ttcagctggg	ttgtagatga	tgtggaggtg	900
cacacagctc	agacgcaacc	ccgggaggag	cagttcaaca	gcactttccg	ctcagtcagt	960
gaacttccca	tcatgcacca	ggactggctc	aatggcaagg	agttcaaatg	cagggtcaac	1020
agtgacgctt	tccctgcccc	catcgagaaa	accatctoca	aaaccaaagg	cagaccgaag	1080
gctccacagg	tgtacaccat	tccacctccc	aaggagcaga	tggccaagga	taaagtcagt	1140
ctgacctgca	tgataacaga	cttcttccct	gaagacatta	ctgtggagtg	gcagtgggat	1200
gggcagccag	cggagaacta	caagaacact	cagcccatca	tggacacaga	tggctcttac	1260
ttcgtctaca	gcaagctcaa	tgtgcagaag	agcaactggg	aggcaggaaa	tactttcacc	1320
tgctctgtgt	tacatgaggg	cctgcacaac	caccatactg	agaagagcct	ctcccactct	1380
cctggtaaat	ga					1392

<210> 135
 <211> 444
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Protein Sequence Defining synthetic Full Length 3B6 Heavy Chain Sequence (3B6 Heavy Chain Variable Region and IgG1 Constant region) (without signal sequence)
 <400> 135

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

```

Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala
    195                200                205
Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys
    210                215                220
Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe
    225                230                235                240
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val
    245                250                255
Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe
    260                265                270
Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro
    275                280                285
Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro
    290                295                300
Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val
    305                310                315                320
Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr
    325                330                335
Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Lys
    340                345                350
Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp
    355                360                365
Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro
    370                375                380
Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser
    385                390                395                400
Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala
    405                410                415
Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His
    420                425                430
His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
    435                440
<210>      136
<211>      711
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length 3B6 Light
Chain Sequence (3B6 Capa Variable Region and Constant Region)
<400>      136
atggacatga ggaccctgc tcagtttctt ggaatcttgt tgctctgggt tccagggtatc      60
aaatgtgaca tcaagatgac ccagtcctcca tcttccatgt atgcatctct aggagagaga      120
gtcacaatca cttgcaaggc gagtcaggac attaaaagct atttaagctg gttccagcag      180
aaaccagggg aatctcctaa gaccctgata tatcgtgtaa acagattggt agatggggtc      240
ccatcaaggt tcagtggcag tggatctggg caagattctt ctctcaccat caccagcctg      300
gagaatgaag atatgggaat ttattattgt ctacagtatg atgagtttcc gttcacgttc      360
ggagggggga ccaagctgga aataaagcgg gctgatgctg caccaactgt atccatcttc      420
ccaccatcca gtgagcagtt aacatctgga ggtgcctcag tcgtgtgctt cttgaacaac      480
ttctacccca aagacatcaa tgtcaagtgg aagattgatg gcagtgaacg acaaaatggc      540
gtcctgaaca gttggactga tcaggacagc aaagacagca cctacagcat gaggcagacc      600
ctcacgttga ccaaggacga gtatgaacga cataacagct atacctgtga ggccactcac      660
aagacatcaa cttcacccat tgtcaagagc ttcaacagga atgagtgtta g      711
<210>      137
<211>      214
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Protein Sequence Defining synthetic Full Length 3B6 Light
Chain Sequence (3B6 Capa Variable Region and Constant Region)
(without signal sequence)
<400>      137
Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly
1          5          10          15
Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Lys Ser Tyr

```

	20		25		30	
Leu	Ser	Trp	Phe	Gln	Gln	Lys
	35					40
Tyr	Arg	Val	Asn	Arg	Leu	Val
	50					55
Ser	Gly	Ser	Gly	Gln	Asp	Ser
65						70
Glu	Asp	Met	Gly	Ile	Tyr	Tyr
						85
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys
						100
Pro	Thr	Val	Ser	Ile	Phe	Pro
						115
Gly	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Phe
						130
Asn	Val	Lys	Trp	Lys	Ile	Asp
145						150
Asn	Ser	Trp	Thr	Asp	Gln	Asp
						165
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Thr	Lys
						180
Thr	Cys	Glu	Ala	Thr	His	Lys
						195
Phe	Asn	Arg	Asn	Glu	Cys	
						210

<210> 138
 <211> 1361
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length 3D11 Heavy Chain Sequence (3D11 Heavy Chain Variable Region and IgG1 Constant Region)
 <400> 138

atggctgtcc	cggtgctgtt	cctctgcctg	gttgcaattc	caagctgtgt	cctgtcccag	60
gtacagctga	aggagtcagg	acctggcctg	gtggcgccct	cacagagcct	gtccatcact	120
tgactgtct	ctgggttttc	attaaccagc	tatagtttac	actgggttcg	ccagcctcca	180
ggaaagggtc	tggaatggct	gggagtaata	tgggctgggtg	gaaacacaaa	ttataattcg	240
tctctcatgt	ccagactgac	catcaggaaa	gacaactcca	agagccaagt	tttcttaaaa	300
atgaacagtc	tgcaaaactga	tgacacagcc	atgtactact	gtgccagaga	gaggtttgct	360
tactgggggc	aagggactct	ggctactgtc	tctgcagcca	aaacgacacc	cccactctgtc	420
tatccactgg	cccctggatc	gtctgcccaa	actaactcca	tggtgaccct	gggatgcctg	480
gtcaagggtc	atttccctga	gccagtga	gtgacctgga	actctggatc	cctgtccagc	540
ggtgtgcaca	ccttcccagc	tgtctgcag	tctgacctct	acactctgag	cagctcagtg	600
actgtcccct	ccagcacctg	gcccagcgag	accgtcacct	gcaacgttgc	ccaccgggcc	660
agcagcacca	aggtggacaa	gaaaattgtg	cccagggatt	gtggttgtaa	gccttgcata	720
tgtacagtcc	cagaagtatc	atctgtcttc	atcttcccc	caaagcccaa	ggatgtgtctc	780
accattactc	tgactcctaa	ggtcacgtgt	gttgtggtag	acatcagcaa	ggatgatccc	840
gaggtccagt	tcagctgggt	tgtagatgat	gtggagggtg	acacagctca	gacgcaaccc	900
cgggaggagc	agttcaacag	cactttccgc	tcagtcagtg	aacttcccat	catgcaccag	960
gactggctca	atggcaagga	gttcaaatgc	agggtcaaca	gtgcagcttt	ccctgcccc	1020
atcgagaaaa	ccatctccaa	aaccaaaggc	agaccgaagg	ctccacaggt	gtacaccatt	1080
ccacctccca	aggagcagat	ggccaaggat	aaagtcagtc	tgacctgcat	gataacagac	1140
ttcttcccctg	aagacattac	tgtggagtgg	cagtggaaatg	ggcagccagc	ggagaactac	1200
aagaacactc	agcccatcat	ggacacagat	ggctcttact	tcgtctacag	caagctcaat	1260
gtgcagaaga	gcaactggga	ggcaggaaat	actttcacct	gctctgtggt	acatgagggc	1320
ctgcacaacc	accatactga	tcccactctc	ctggtaaata	a		1361

<210> 139
 <211> 437
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Protein Sequence Defining synthetic Full Length 3D11 Heavy Chain Sequence (3D11 Heavy Chain Variable Region and IgG1 Constant

Region) (without signal sequence)

```

<400>          139
Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1          5          10          15
Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
20          25          30
Ser Leu His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35          40          45
Gly Val Ile Trp Ala Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Ser Ser Leu Met
50          55          60
Ser Arg Leu Thr Ile Arg Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65          70          75          80
Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
85          90          95
Arg Glu Arg Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100         105         110
Ala Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser
115         120         125
Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly
130         135         140
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser
145         150         155         160
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr
165         170         175
Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr
180         185         190
Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys
195         200         205
Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val
210         215         220
Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val
225         230         235         240
Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile
245         250         255
Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val
260         265         270
Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
275         280         285
Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu
290         295         300
Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala
305         310         315         320
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro
325         330         335
Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys
340         345         350
Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr
355         360         365
Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr
370         375         380
Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu
385         390         395         400
Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser
405         410         415
Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser
420         425         430
His Ser Pro Gly Lys
435

```

<210>

140

<211>

708

<212>

DNA

<213>

Sequência artificial

<220>

<223>

Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length 3D11

Light Chain Sequence (3D11 Capa Variable Region and Constant Region)

```

<400>      140
atggattttc aagtgcagat tttcagcttc ctgctaataca gtgcctcagt caaaatatcc      60
agaggacaaa ttgttctcac ccagtctcca gcaatcatgt ctgcatatcc aggggagaag      120
gtcaccatga cctgcagtgc cagctcaagt gtaagttaca tgcactggta ccagcagaag      180
tcaggcacct ccccaaaaag atggatttat gacacatcca aactggcttc tggagtcctt      240
gctcgttcca gtggcagtgg gtctgggacc tcttactccc tcacaatcag tagtatggag      300
gctgaagatg ctgccactta ttactgccag cagtggagta gtaaccact caggttcggt      360
gctgggacca agctggagct gaaacgggct gatgctgcac caactgtatc catcttccca      420
ccatccagtg agcagttaac atctggaggt gcctcagtcg tgtgcttctt gaacaacttc      480
taccacaaag acatcaatgt caagtggaag attgatggca gtgaacgaca aaatggcgctc      540
ctgaacaagt ggactgatca ggacagcaaa gacagcacct acagcatgag cagcaccttc      600
acgttgacca aggacgagta tgaacgacat aacagctata cctgtgaggc cactcacaag      660
acatcaactt caccattgtt caagagcttc aacaggaatg agtgttag      708

```

<210> 141

<211> 213

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Protein Sequence Defining synthetic Full Length 3D11 Light Chain Sequence (3D11 Capa Variable Region and Constant Region) (without signal sequence)

```

<400>      141
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Tyr Pro Gly
1           5           10           15
Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20          25          30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35          40          45
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50          55          60
Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65          70          75          80
Asp Ala Ala Thr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr
85          90          95
Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro
100         105         110
Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly
115         120         125
Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn
130         135         140
Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn
145         150         155         160
Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser
165         170         175
Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr
180         185         190
Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe
195         200         205
Asn Arg Asn Glu Cys
210

```

<210> 142

<211> 1398

<212> DNA

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length 1D3 Heavy Chain Sequence (1D3 Heavy Chain Variable Region and IgG1 Constant Region)

```

<400>      142
atgaactttg ggctcagatt gatttttctt gtccttgttt taaaagggtg gaagtgtgaa      60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcctg gagggctcct gaaactctcc      120
tgtgcagcct ctggattcac ttctcagtgc tattacatgt cttgggttcg ccagactcca      180
gagaagaggc tggagtgggt cgcatacatt agtagtggtg gtggtagcac ctactatcca      240
gacagtgtga agggctcatt caccatctcc cgagacaatg ccaagaacac cctgtacctg      300

```

```

caaatgagca gtctgaagtc tgaggacaca gccatatatt actgtgtgag acaaggggat 360
ggttattacg gggactatgc tatggactac tgggggtcaag gaacctcagt catcgtctcc 420
tcagccaaaa cgacaccccc atctgtctat ccactggccc ctggatctgc tgcccaaact 480
aactccatgg tgaccctggg atgcctgggc aagggctatt tccctgagcc agtgacagtg 540
acctggaact ctggatccct gtccagcggg gtgcacacct tcccagctgt cctgcagtct 600
gacctctaca ctctgagcag ctacgtgact gtccctcca gcacctggcc cagcgagacc 660
gtcacctgca acgttgccca cccggccagc agcaccagg tggacaagaa aattgtgccc 720
agggattgtg gttgtaagcc ttgcatatgt acagtcccag aagtatcatc tgtcttcac 780
ttcccccaa agcccaagga tgtgctcacc attactctga ctctaaggt cacgtgtgtt 840
gtggtagaca tcagcaagga tgatcccag gtccagttca gctggtttgt agatgatgtg 900
gaggtgcaca cagctcagac gcaaccccg gaggagcagt tcaacagcac tttccgctca 960
gtcagtgaac ttcccatcat gcaccaggac tggctcaatg gcaaggagtt caaatgcagg 1020
gtcaacagtg cagctttccc tgcccccatc gagaaaacca tctccaaaac caaaggcaga 1080
ccgaaggctc cacaggtgta caccattcca cctcccaagg agcagatggc caaggataaa 1140
gtcagttctga cctgcatgat aacagacttc ttccctgaag acattactgt ggagtggcag 1200
tggaatgggc agccagcggg gaactacaag aacactcagc ccatcatgga cacagatggc 1260
tcttacttcg tctacagcaa gctcaatgtg cagaagagca actggggaggc aggaaatact 1320
ttcacctgct ctgtgttaca tgagggcctg cacaaccacc atactgagaa gagcctctcc 1380
cactctcctg gtaaatga 1398

```

<210> 143

<211> 446

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Protein Sequence Defining synthetic Full Length 1D3 Heavy chain sequence (1D3 Heavy Chain Variable Region and IgG1 Constant Region) (without signal sequence)

<400> 143

```

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

```

Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu
 290 295 300
 Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys
 305 310 315 320
 Arg Val Asn Ser Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro
 340 345 350
 Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile
 355 360 365
 Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp
 405 410 415
 Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His
 420 425 430
 Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 144
 <211> 705
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length 1D3
 Light Chain Sequence (1D3 Capa Variable Region and Constant Region)
 <400> 144
 atgagtgtgc ccactcaggt cctgggggttg ctgctgctgt ggcttacaga tgtcagatgt 60
 gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgtat ctgtgggaga aactgtcacc 120
 atcacatgtc gaacaagtga gaatatctac agtaatttag cgtgggtatca gcagaaacag 180
 ggaaaatctc ctcagctcct aatctatgct gcaacaaact tagcagatgg tgtgccatca 240
 aggttcagtg gcagtggtatc aggcacacag ttttcctca ggatcaacag cctgcagtct 300
 gaagattttg ggaggtatta ctgtcaacat ttttggggga ctccgtacac gttcggaggg 360
 gggaccaaac tggaaataaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca 420
 tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac 480
 cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgctcctg 540
 aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg 600
 ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca 660
 tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gttag 705
 <210> 145
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Protein Sequence Defining synthetic Full Length 1D3 Light
 Chain Sequence (1D3 Capa Variable Region and Constant Region)
 (without signal sequence)
 <400> 145
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Arg Ile Asn Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Gly Arg Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
 100 105 110
 Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly

```

      115              120              125
Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
      130              135              140
Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145              150              155              160
Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
      165              170              175
Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
      180              185              190
Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
      195              200              205
Phe Asn Arg Asn Glu Cys
      210

```

```

<210>      146
<211>      1398
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length 1F3
Heavy Chain Sequence (1F3 Heavy Chain Variable Region and IgG1
Constant Region)

```

```

<400>      146
atgaactttg ggctcagatt gattttcctt gtccttggtt taaaaggtgt gaagtgtgag      60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagctcg gagggtcctt gaaactctcc      120
tgtgcggcct ctggattcac ttccagtaac tatttcatgt cttgggttcg ccagactcca      180
gagaagagggc tggagtgggt cgcataatatt agtagtggtg gtggtagcac ctactatcca      240
gacagtgtga agggtcgatt caccatctct agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg      300
caaatgagca gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgtaag acaaggggat      360
ggttactacg gggactatgc tatggactac tggggctcaag gaacctcagt caccgtctcc      420
tcagccaaaa cgacaccccc atctgtctat ccactggccc ctggatctgc tgcccaaaact      480
aactccatgg tgacctggg atgcctgggtc aagggtctatt tccctgagcc agtgacagtg      540
acctggaact ctggatccct gtccagcggt gtgcacacct tcccagctgt cctgcagtct      600
gacctctaca ctctgagcag ctcagtgact gtccctcca gcacctggcc cagcgagacc      660
gtcacctgca acgttgccca cccggccagc agcaccaagg tggacaagaa aattgtgccc      720
agggattgtg gttgtaagcc ttgcatatgt acagtcccag aagtatcatc tgtcttcatc      780
ttcccccaa agcccaagga tgtgtccacc attactctga ctctaaggt cagtggtgtt      840
gtggtagaca tcagcaagga tgatcccag gtccagttca gctggtttgt agatgatgtg      900
gaggtgcaca cagctcagac gcaaccccgg gaggagcagt tcaacagcac tttccgctca      960
gtcagtgaac ttcccatcat gcaccaggac tggctcaatg gcaaggagtt caaatgcagg      1020
gtcaacagtg cagctttccc tgcccccatc gagaaaacca tctccaaaac caaaggcaga      1080
ccgaaggctc cacaggtgta caccattcca cctcccaagg agcagatggc caaggataaa      1140
gtcagtctga cctgcatgat aacagacttc ttccctgaag acattactgt ggagtggcag      1200
tggaatgggc agccagcggg gaactacaag aacactcagc ccatcatgga cacagatggc      1260
tcttacttcg tctacagcaa gctcaatgtg cagaagagca actgggagggc aggaaatact      1320
ttcacctgct ctgtgttaca tgagggcctg cacaaccacc atactgagaa gagcctctcc      1380
cactctcctg gtaaatga

```

```

<210>      147
<211>      446
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Protein Sequence Defining synthetic Full Length 1F3 Heavy
Chain Sequence (1F3 Heavy Chain Variable Region and IgG1 Constant Region)
(without signal sequence)

```

```

<400>      147
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ser Gly Gly
1      5      10      15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
      20      25      30
Phe Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
      35      40      45
Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
      50      55      60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr

```

65		70		75		80									
Leu	Gln	Met	Ser	Ser	Leu	Lys	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys
			85					90					95		
Val	Arg	Gln	Gly	Asp	Gly	Tyr	Tyr	Gly	Asp	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp
			100					105					110		
Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
			115					120					125		
Ser	Val	Tyr	Pro	Leu	Ala	Pro	Gly	Ser	Ala	Ala	Gln	Thr	Asn	Ser	Met
			130					135					140		
Val	Thr	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr
Val	Thr	Trp	Asn	Ser	Gly	Ser	Leu	Ser	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro
Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Asp	Leu	Tyr	Thr	Leu	Ser	Ser	Ser	Val	Thr	Val
Pro	Ser	Ser	Thr	Trp	Pro	Ser	Glu	Thr	Val	Thr	Cys	Asn	Val	Ala	His
Pro	Ala	Ser	Ser	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Ile	Val	Pro	Arg	Asp	Cys
Gly	Cys	Lys	Pro	Cys	Ile	Cys	Thr	Val	Pro	Glu	Val	Ser	Ser	Val	Phe
Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Val	Leu	Thr	Ile	Thr	Leu	Thr	Pro
Lys	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Ile	Ser	Lys	Asp	Asp	Pro	Glu	Val
Gln	Phe	Ser	Trp	Phe	Val	Asp	Asp	Val	Glu	Val	His	Thr	Ala	Gln	Thr
Gln	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Ser	Val	Ser	Glu
Leu	Pro	Ile	Met	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Phe	Lys	Cys
Arg	Val	Asn	Ser	Ala	Ala	Phe	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
Lys	Thr	Lys	Gly	Arg	Pro	Lys	Ala	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Ile	Pro	Pro
Pro	Lys	Glu	Gln	Met	Ala	Lys	Asp	Lys	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Met	Ile
Thr	Asp	Phe	Phe	Pro	Glu	Asp	Ile	Thr	Val	Glu	Trp	Gln	Trp	Asn	Gly
Gln	Pro	Ala	Glu	Asn	Tyr	Lys	Asn	Thr	Gln	Pro	Ile	Met	Asp	Thr	Asp
Gly	Ser	Tyr	Phe	Val	Tyr	Ser	Lys	Leu	Asn	Val	Gln	Lys	Ser	Asn	Trp
Glu	Ala	Gly	Asn	Thr	Phe	Thr	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Gly	Leu	His
Asn	His	His	Thr	Glu	Lys	Ser	Leu	Ser	His	Ser	Pro	Gly	Lys		

<210> 148
 <211> 705
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length 1F3 Light
 Chain Sequence (1F3 Capa Variable Region and Constant Region)
 <400> 148

atgagtgtgc	ccactcaggt	cctgggggttg	ctgctgctgt	ggcttacaga	tgccagatgt	60
gacatccaga	tgactcagtc	tccagcctcc	ctatctgtat	ctgtgggaga	aactgtcacc	120
atcacatgtc	gagcaagtga	gaatattttac	agtaatttag	catggtatca	gcagaaacag	180
ggaaaatctc	ctcagctcct	ggtctatgat	gcaacacact	taccagatgg	tgtgccatca	240
aggttcagtg	gcagtgatc	aggcacacag	ttttccctca	agatcaacag	cctgcagtct	300
gaagattttg	ggagttatta	ctgtcaacat	ttttggggta	ctccgtacac	gtttggaggg	360
gggaccagac	tggaatttaa	acgggctgat	gctgcaccaa	ctgtatccat	cttcccacca	420
tccagtgagc	agttaacatc	tggaggtgcc	tcagtcgtgt	gcttcttgaa	caacttctac	480
cccaaagaca	tcaatgtcaa	gtggaagatt	gatggcagtg	aacgacaaaa	tggcgtcctg	540

aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg 600
 ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca 660
 tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gttag 705

<210> 149

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Protein Sequence Defining synthetic Full Length 1F3 Light
 Chain Sequence (1F3 Capa Variable Region and Constant Region)
 (without signal sequence)

<400> 149

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

<210> 150

<211> 1398

<212> DNA

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length 3A12
 Heavy Chain Sequence (3A12 Heavy Chain Variable Region and IgG1
 Constant Region)

<400> 150

atgaactttg ggctcagatt gattttcctt gtccttggtt taaaagggtg gaagtgtgaa 60
 gtgcagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcctg gagggctcct gaaaatctcc 120
 tgtcagcct ctggatttac tttcagtaac tatttcatgt cttgggttcg ccagactcca 180
 gagaagaggc tggagtgggt cgcatacatt agtagtggtg gtggtagcac ctactatcca 240
 gacagtgtga agggctcgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg 300
 caaatgaaca gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgtaag acaaggagat 360
 gggtactatg gggactatgc tatggactac tggggtaag gaacctcagt caccgtctcc 420
 tcagccaaaa cgacaccccc atctgtctat ccactggccc ctggatctgc tgccaaact 480
 aactccatgg tgaccctggg atgcctggtc aagggctatt tccctgagcc agtgacagtg 540
 acctggaact ctggatccct gtccagcggg gtgcacacct tcccagctgt cctgcagtct 600
 gacctctaca ccttgagcag ctccagtact gtccctcca gcacctggcc cagcgagacc 660
 gtacactgca acgttgccca cccggccagc agcaccaagg tggacaagaa aattgtgcc 720
 agggattgtg gttgtaagcc ttgcatatgt acagtcccag aagtatcatc tgtcttcac 780
 ttcccccaa agccaagga tgtgtcacc attactctga ctctaaggc cactgtgtgt 840
 gtggtagaca tcagcaagga tgatcccgag gtccagttca gctggttgt agatgatgtg 900

```

gaggtgcaca cagctcagac gcaacccccg gaggagcagt tcaacagcac tttccgctca 960
gtcagtgaac ttcccatcat gcaccaggac tggctcaatg gcaaggagtt caaatgcagg 1020
gtcaacagtg cagctttccc tgcccccacg gagaaaacca tctccaaaac caaaggcaga 1080
ccgaaggctc cacaggtgta caccattcca cctcccaagg agcagatggc caaggataaa 1140
gtcagtctga cctgcgatg aacagacttc ttccctgaag acattactgt ggagtggcag 1200
tggaatgggc agccagcgga gaactacaag aacactcagc ccatcatgga cacagatggc 1260
tcttacttcg tctacagcaa gctcaatgtg cagaagagca actgggaggc aggaaatact 1320
ttcacctgct ctgtgttaca tgagggcctg cacaaccacc atactgagaa gagcctctcc 1380
cactctcctg gtaaataa 1398
<210> 151
<211> 446
<212> PRT
<213> Sequência artificial
<220>
<223> Protein Sequence Defining synthetic Full Length 3A12 Heavy
Chain Sequence (3A12 Heavy Chain Variable Region and IgG1 Constant Region)
(without signal sequence)
<400> 151
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Phe Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Gln Gly Asp Gly Tyr Tyr Gly Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro
115 120 125
Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met
130 135 140
Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His
195 200 205
Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys
210 215 220
Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe
225 230 235 240
Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro
245 250 255
Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val
260 265 270
Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr
275 280 285
Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu
290 295 300
Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys
305 310 315 320
Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro
340 345 350
Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile
355 360 365

```

Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp
 405 410 415
 Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His
 420 425 430
 Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 152
 <211> 705
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length 3A12 Light
 Chain Sequence (3A12 Capa Variable Region and Constant Region)
 <400> 152
 atgagtgtgc ccactcaggt cctgggggttg ctgctgctgt ggcttacaga tgccagatgt 60
 gacatccaga tgactcagtc gccagcctcc ctatctgtat ctgtgggaga aactgtcacc 120
 atcacatgtc gagcaagtga gaatatctac attaatctag catggtatca gcagaaacag 180
 ggaaaatctc ctcagctcct ggtccatgct gcaacaaagt tagcagatgg tgtgccatca 240
 aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag tattccctca agatcaacag cctgcagtct 300
 gaagattttg ggagttatta ctgtcaacat ttttgggta ctccgtacac gttcggaggg 360
 gggaccaaac tagaaataaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca 420
 tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac 480
 cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgctcctg 540
 aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg 600
 ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca 660
 tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gttag 705
 <210> 153
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Protein Sequence Defining synthetic Full Length 3A12 Light
 Chain Sequence (3A12 Capa Variable Region and Constant Region)
 (without signal sequence)
 <400> 153
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ile Asn
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
 35 40 45
 His Ala Ala Thr Lys Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
 100 105 110
 Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
 115 120 125
 Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
 130 135 140
 Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
 145 150 155 160
 Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
 180 185 190
 Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys

210

<210> 154

<211> 1404

<212> DNA

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length Chimeric
2B8 Heavy Chain (Mouse Variable Region and Human IgG1 Constant Region)
(allotype G1m(17,1))

<400> 154

atgggatgga gctatatcat cctcttttttg gtagcaacag ctacagatgt ccactcccag 60

gtccaactgc agcagcctgg ggctgaactg gtgaagcctg ggacttcagt gaagctgtcc 120

tgcaaggctt ctggctacac ctccaccacc tactggatgc actgggtgaa tcagaggcct 180

ggacaaggcc ttgagtggat tggagagatt aatcctacca acggtcatatc taactacaat 240

gagaagtcca agagcaaggc cacactgact gtagacaaat cctccagcac agcctacatg 300

caactcagca gcctgacatc tgaggactct gcggtctatt actgtgcaag aaactatgtt 360

ggtagcatct ttgactactg gggccaaggc accactctca ccgtctcttc agcctccacc 420

aaggggccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 480

gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 540

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggtgtgct tacagtcttc aggactctac 600

tccttcagca gcgtgggtgac cgtgccttc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 660

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 720

gacaaaactc acacatgccc accgtgcccc gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 780

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 840

tgctgtgtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac 900

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 960

cgtgtgggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020

tgcaagggtc ccaacaaaag cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1080

ggcgagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag 1140

aaccaggtca gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1200

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1260

gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg 1320

aacgtcttct catgtccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1380

ctctccctgt ctccgggtaa atga 1404

<210> 155

<211> 448

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Protein Sequence Defining synthetic Full Length Chimeric
2B8 Heavy Chain (Chimeric 2B8 IgG1 (G1m(17,1) allotype) (without
signal sequence)

<400> 155

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Met His Trp Val Asn Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asn Tyr Val Gly Ser Ile Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

```

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

<210>      156
<211>      705
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length Chimeric
2B8 Light Chain (Mouse Variable Region and Human Constant Region)
(Chimeric 2B8 Capa (Km(3)))
<400>      156
atggaatcac agactctggt cttcatatcc atactgctct gggttatatgg tgctgatggg      60
aacattgtaa tgacccaatc tcccaaatcc atgtccatgt cagtaggaga gagggtcacc      120
ttgagctgca aggccagtga gaatgtggtt tcttatgtat cctggtatca acagaaacca      180
gcgcagtctc cttaaactgct gatatacggg gcatccaacc ggaacactgg ggtccccgat      240
cgcttcacag gcagtggatc tgcaacagat ttcaactctga ccatcagcag tgtgcgggct      300
gaagaccttg cagattatca ctgtgggcag agttacaact atccgtacac gttcggaggg      360
gggaccaggc tggaaataaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccccca      420
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat      480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggt gataacgccc tccaatcggg taactcccag      540
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg      600
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc      660
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttga      705
<210>      157
<211>      214
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Protein Sequence Defining synthetic Full Length Chimeric 2B8

```

Light Chain (Chimeric 2B8 Capa) (without signal sequence)

<400> 157
 Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser Met Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Val Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Val Ser Tyr
 20 25 30
 Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Ala Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Asn Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Ala Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Arg Ala
 65 70 75 80
 Glu Asp Leu Ala Asp Tyr His Cys Gly Gln Ser Tyr Asn Tyr Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 158

<211> 412

<212> DNA

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Humanized Hu2B8

Hv1-f.1 Heavy Chain Variable Region

<400> 158
 atggactgca cctggaggat cctcctcttg gtggcagcag ctacaggcac ccacgccgag 60
 gtccagctgg tacagtctgg ggctgaggtg aagaagcctg gggctacagt gaaaatctcc 120
 tgcaagggtt ctggatacac cttcaccacc tactggatgc actgggtgca acaggcccct 180
 gaaaaagggc ttgagtggat gggagagatt aatcctacca acggtcatal taactacaat 240
 gagaagtcc agggcagagt caccataacc gcggacacgt ctacagacac agcctacatg 300
 gagctgagca gcctgagatc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgcaac aaactatgtt 360
 ggtagcatct ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctctc ag 412

<210> 159

<211> 118

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Protein Sequence Defining synthetic Humanized Hu2B8 Hv1-f.1

Heavy Chain Variable Region (without signal sequence)

<400> 159
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30
 Trp Met His Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Asn Tyr Val Gly Ser Ile Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115
<210> 160
<211> 992
<212> DNA
<213> Sequência artificial
<220>
<223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Human IgG1 Heavy
Chain Constant Region (Glm(17,1) allotype)
<400> 160
cctccaccaa gggcccatcg gtcttccccc tggcaccctc ctccaagagc acctctgggg 60
gcacagcggc cctgggctgc ctgggtcaagg actacttccc cgaaccggtg acggtgtcgt 120
ggaactcagg cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta cagtccctcag 180
gactctactc cctcagcagc gtggtgaccg tgcctccag cagcttgggc acccagacct 240
acatctgcaa cgtgaatcac aagcccagca acaccaagggt ggacaagaaa gttgagccca 300
aatcttgtga caaaactcac acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc ctgggggggac 360
cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacacctt catgatctcc cggaccctctg 420
aggtcacatg cgtgggtggtg gacgtgagcc acgaagaccc tgaggtcaag ttcaactggt 480
acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcc aagacaaagcc gcgggaggag cagtacaaca 540
gcacgtaccg tgtggtcagc gtcttcaccg tcctgcacca ggactggctg aatggcaagg 600
agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca 660
aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacacctt gcccccatcc cgggatgagc 720
tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tgggtcaaagg cttctatccc agcgacatcg 780
ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc 840
tggaactccg cggctccttc ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc 900
agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcattgaggc tctgcacaac cactacacgc 960
agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaat ga 992
<210> 161
<211> 330
<212> PRT
<213> Sequência artificial
<220>
<223> Protein Sequence Defining synthetic Human IgG1 Heavy Chain
Constant Region (Glm(17,1) allotype)
<400> 161
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 225 230 235 240
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330
 <210> 162
 <211> 1404
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length Heavy
 Chain Humanized Hu2B8 Hv1f.1 Variable Region and Human IgG1
 (Glm(17,1) allotype) Heavy Chain Constant Region
 <400> 162
 atggactgca cctggaggat cctcctcttg gtggcagcag ctacaggcac ccacgccgag 60
 gtccagctgg tacagtctgg ggctgagggtg aagaagcctg gggctacagt gaaaatctcc 120
 tgcaagggtt ctggatacac cttcaccacc tactggatgc actgggtgca acaggcccct 180
 ggaaaagggc ttgagtggat gggagagatt aatcctacca acggtcatac taactacaat 240
 gagaagttcc agggcagagt caccataacc gcggacacgt ctacagacac agcctacatg 300
 gagctgagca gcctgagatc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgcaac aaactatgtt 360
 ggtagcatct ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctctc agcctccacc 420
 aaggggcccat cgggtcttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 480
 gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca 540
 ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtctc aggactctac 600
 tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttg gcaccagac ctacatctgc 660
 aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 720
 gacaaaactc acacatgccc accgtgccc gcacctgaac tctgggggg accgtcagtc 780
 ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 840
 tgcggtggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 900
 ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 960
 cgtgtgggtc cgcctctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020
 tgcaagggtc ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1080
 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag 1140
 aaccaggtca gcctgacctg cctgggtcaa ggcttctatc ccagcgacat cgcctggag 1200
 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1260
 gacggctcct tcttctctta cagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg 1320
 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1380
 ctctccctgt ctccgggtaa atga 1404
 <210> 163
 <211> 448
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Protein Sequence Defining synthetic Full Length Heavy Chain
 Humanized Hu2B8 Hv1f.1 Variable Region and Human IgG1 Heavy Chain
 Constant Region (Glm(17,1) allotype) (without signal sequence)
 <400> 163
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Tyr
 20 25 30
 Trp Met His Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Asn Tyr Val Gly Ser Ile Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120 125
 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 145 150 155 160
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 165 170 175
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 164
 <211> 412
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Humanized Hu2B8
 Hv5a.1 Heavy Chain Variable Region
 <400> 164
 atgggggtcaa cgcctatcct cgccctctctc ctggctgttc tccaaggagt ctgtgccgaa 60
 gtgcagctgg tgcaagtctgg agcagaggtg aaaaagcccg gggagtctct gaggatctcc 120
 tgtaagggtt ctggatacag ctttaccacc tactggatgc actgggtgcg ccagatgcc 180
 gggaaaggcc tggagtggat gggggagatt aatcctacca acggtcatac taactacaat 240
 ccgtccttcc aaggccacgt caccatctca gctgacaagt ccatcagcac tgcctacctg 300
 cagtggagca gcctgaaggc ctcggacacc gccatgtatt actgtgagag aaactatgtt 360

```

ggtagcatct ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcctc ag      412
<210>      165
<211>      118
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Protein Sequence Defining synthetic Humanized Hu2B8 Hv5a.1
Heavy Chain Variable Region (without signal sequence)
<400>      165
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1          5          10          15
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Thr Tyr
20         25         30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35         40         45
Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Phe
50         55         60
Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65         70         75         80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85         90         95
Ala Arg Asn Tyr Val Gly Ser Ile Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100        105        110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115
<210>      166
<211>      1404
<212>      DNA
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length Humanized
Hu2B8 Hv5a.1 Heavy Chain Variable Region and Human IgG1 (G1m(17,1)
allotype) Heavy Chain Constant Region
<400>      166
atgggggtcaa cgcgcacatcct cgccctcctc ctggctgttc tccaaggagt ctgtgccgaa      60
gtgcagctgg tgcagtctgg agcagaggtg aaaaagcccg gggagtctct gaggatctcc      120
tgtaagggtt ctggatacag ctttaccacc tactggatgc actgggtgcg ccagatgccc      180
gggaaaggcc tggagtggat gggggagatt aatcctacca acggtcatac taactacaat      240
ccgtccttcc aaggccacgt caccatctca gctgacaagt ccatcagcac tgcctacctg      300
cagtggagca gcctgaaggc ctcggaacacc gccatgtatt actgtgcgag aaactatgtt      360
ggtagcatct ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcctc agcctccacc      420
aagggcccat ttgcttctcc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg      480
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca      540
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc cgggctgtcc tacagtctc aggactctac      600
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc      660
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttagacc caaatcttgt      720
gacaaaactc acacatgccc accgtgccc gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc      780
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca      840
tgcgtgggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac      900
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac      960
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag      1020
tgcaagggtc ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa      1080
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag      1140
aaccagggtc gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag      1200
tgggagagca atgggcagcc ggagaacca tacaagacca cgctcccggt gctggactcc      1260
gacggctcct tcttctctta cagcaagctc accgtggaca agagcagggt gcagcagggg      1320
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc      1380
ctctccctgt ctccgggtaa atga
1404
<210>      167
<211>      448
<212>      PRT
<213>      Sequência artificial
<220>
<223>      Protein Sequence Defining synthetic Full Length Humanized

```

Hu2B8 Hv5a.1 Heavy Chain Variable Region and Human IgG1 (G1m(17,1) allotype) Heavy Chain Constant Region (without signal sequence)

```

<400>          167
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1          5          10          15
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Thr Tyr
20          25          30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35          40          45
Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Phe
50          55          60
Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65          70          75          80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85          90          95
Ala Arg Asn Tyr Val Gly Ser Ile Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100          105          110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115          120          125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130          135          140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145          150          155          160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165          170          175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180          185          190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195          200          205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210          215          220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225          230          235          240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245          250          255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260          265          270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275          280          285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290          295          300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305          310          315          320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325          330          335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340          345          350
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355          360          365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370          375          380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385          390          395          400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405          410          415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420          425          430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435          440          445

<210>          168
<211>          412
<212>          DNA
<213>          Sequência artificial
<220>

```

<223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Humanized Hu2B8
Hv5-51.1 Heavy Chain Variable Region

<400> 168
atgggggtcaa cgcgccatcct cgcctctctc ctggctgttc tccaaggagt ctgtgccgaa 60
gtgcagctgg tgcagtctgg agcagaggtg aaaaagcccg gggagtctct gaagatctcc 120
tgtaaggggtt ctggatacag ctttaccacc tactggatgc actgggtgcg ccagatgccc 180
gggaaaggcc tggagtggat gggggagatt aatcctacca acggtcatac taactacaat 240
ccgtccttcc aaggccaggt caccatctca gctgacaagt ccatcagcac tgcctacctg 300
cagtggagca gcctgaaggc ctggacacc gccatgtatt actgtgagag aaactatgtt 360
ggtagcatct ttgactactg gggccaagga accctgggtc ccgtctctc ag 412

<210> 169

<211> 118

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Protein Sequence Defining synthetic Humanized Hu2B8 Hv5-51.1
Heavy Chain Variable Sequence (without signal sequence)

<400> 169
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Thr Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asn Tyr Val Gly Ser Ile Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 170

<211> 1404

<212> DNA

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length Humanized
Hu2B8 Hv5-51.1 Heavy Chain Variable Region and Human IgG1 (Glm(17,1)
allotype) Heavy Chain Constant Region

<400> 170
atgggggtcaa cgcgccatcct cgcctctctc ctggctgttc tccaaggagt ctgtgccgaa 60
gtgcagctgg tgcagtctgg agcagaggtg aaaaagcccg gggagtctct gaagatctcc 120
tgtaaggggtt ctggatacag ctttaccacc tactggatgc actgggtgcg ccagatgccc 180
gggaaaggcc tggagtggat gggggagatt aatcctacca acggtcatac taactacaat 240
ccgtccttcc aaggccaggt caccatctca gctgacaagt ccatcagcac tgcctacctg 300
cagtggagca gcctgaaggc ctggacacc gccatgtatt actgtgagag aaactatgtt 360
ggtagcatct ttgactactg gggccaagga accctgggtc ccgtctctc agcctccacc 420
aaggggcccat cggctcttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 480
gcctggggt gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 540
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggtgtgtc tacagtctc aggactctac 600
tccctcagca gcgtggtgac cgtgcccttc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 660
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gctgacaaga aagttagacc caaatcttgt 720
gacaaaactc acacatgccc accgtgccc gcacctgaac tctgggggg accgtcagtc 780
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 840
tgcgtgggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 900
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 960
cgtgtgggtc gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaa 1020
tgcaagggtc ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1080
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccgggatga gctgaccaag 1140
aaccagggtc gcctgacctg cctgggtcaa ggcttctatc ccagcgacat cgcctgggag 1200
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt gctggactcc 1260

gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1320
 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1380
 ctctccctgt ctccgggtaa atga 1404

<210> 171

<211> 448

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Protein Sequence Defining synthetic Full Length Humanized

Hu2B8 Hv5-51.1 Heavy Chain Variable Region and Human IgG1 (Glm(17,1)

allotype) Heavy Chain Constant Region (without signal sequence)

<400> 171

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

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

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

Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Phe
 50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 172
 <211> 388
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Humanized Hu2B8
 Kv1-39.1 Capa Chain Variable Region
 <400> 172
 atggacatga ggggtcccccgc tcagctcctg ggggtcctgc tactctggct ccgaggtgcc 60
 agatgtgaca tccagatgac ccagtcctcca tcctccctgt ctgcatctgt aggagacaga 120
 gtcacccatca cttgcaaggc cagtgagaat gtgggtttctt atgtatcctg gtatcagcag 180
 aaaccaggga aagccccctaa gctcctgatc tatggggcat ccaaccggaa cactggggtc 240
 ccatcaaggt tcagtggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagtctg 300
 caacctgaag attttgcaac ttactactgt gggcagagtt acaactatcc gtacacgttt 360
 ggccagggga ccaagctgga gatcaaac 388
 <210> 173
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Protein Sequence Defining synthetic Humanized Hu2B8 Kv1-39.1
 Capa Chain Variable Region (without signal sequence)
 <400> 173
 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 Lys Ala Ser Glu Asn Val Val Ser Tyr
 20 25 30
 Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Asn Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gln Ser Tyr Asn Tyr Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 174
 <211> 323
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Human Capa Chain
 Constant Region (Km(3) allotype) (allele 2)
 <400> 174
 gaactgtggc tgcaccatct gtcttcatct tcccgccatc tgatgagcag ttgaaatctg 60
 gaactgcctc tgttgtgtgc ctgctgaata acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt 120
 ggaaggtgga taacgcctc caatcgggta actccagga gagtgtcaca gagcaggaca 180
 gcaaggacag cacctacagc ctcagcagca ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga 240
 aacacaaagt ctacgcctgc gaagtcaccc atcagggcct gagctcgccc gtcacaaaga 300
 gcttcaacag gggagagtgt tga 323
 <210> 175
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Protein Sequence Defining synthetic Human Capa Chain
 Constant Region (Km(3) allotype) (allele 2)
 <400> 175
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

```

1           5           10           15
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20           25           30
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35           40           45
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50           55           60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65           70           75           80
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85           90           95
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100           105
<210>           176
<211>           711
<212>           DNA
<213>           Sequência artificial
<220>
<223>           Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length Humanized
Hu2B8 Kv-39.1 Light Chain Variable Region and Human Capa Chain
Constant Region (Km(3) allotype) (allele 2)
<400>           176
atggacatga ggggtccccgc tcagctcctg gggctcctgc tactctggct ccgaggtgcc      60
agatgtgaca tccagatgac ccagttctcca tcctccctgt ctgcatctgt aggagacaga      120
gtcaccatca cttgcaaggc cagtggagaat gtggtttctt atgtatcctg gtatcagcag      180
aaaccaggga aagcccctaa gctcctgata tatggggcat ccaaccggaa cactgggggtc      240
ccatcaagggt tcagtggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagctctg      300
caacctgaag attttgcaac ttactactgt gggcagagtt acaactatcc gtacacgttt      360
ggccaggggga ccaagctgga gatcaaacga actgtggctg caccatctgt cttcatcttc      420
ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac      480
ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca atcgggtaac      540
tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc      600
ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaggtct acgcctgcga agtcacccat      660
cagggcctga gctcgcccggt cacaagagac ttcaacaggg gagagtgttg a      711
<210>           177
<211>           214
<212>           PRT
<213>           Sequência artificial
<220>
<223>           Protein Sequence Defining synthetic Full Length Humanized
Hu2B8 Kv1-39.1 Light Chain Variable Region and Human Capa Chain
Constant Region (Km(3) allotype) (allele 1)
<400>           177
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 Lys Ala Ser Glu Asn Val Val Ser Tyr
20           25           30
Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35           40           45
Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Asn Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gln Ser Tyr Asn Tyr Pro Tyr
85           90           95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100           105           110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115           120           125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130           135           140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145           150           155           160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

```

165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 178
 <211> 382
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Humanized Hu2B8
 Kv3-15.1 Light Chain Variable Region
 <400> 178
 atggaagccc cagcgcagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccactgga 60
 gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 120
 ctctcctgca aggcagtgga gaatgtggtt tcttatgtat cctggtacca gcagaaacct 180
 ggccaggctc ccaggctcct catctatggg gcatccaacc ggaacactgg tatcccagcc 240
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 300
 gaagattttg cagtttatta ctgtgggcag agttacaact atccgtacac gtttggccag 360
 gggaccaagc tggagatcaa ac 382
 <210> 179
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Protein Sequence Defining synthetic Humanized Hu2B8 Kv3-15.1
 Light Chain Variable Region (without signal sequence)
 <400> 179
 Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Val Ser Tyr
 20 25 30
 Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Asn Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Ser Tyr Asn Tyr Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 180
 <211> 705
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Encoding synthetic Full Length Humanized Hu2B8
 Kv3-15.1 Light Chain Variable Region and Human Capa Chain Constant
 Region (Km(3) allotype) (allele 2)
 <400> 180
 atggaagccc cagcgcagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccactgga 60
 gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 120
 ctctcctgca aggcagtgga gaatgtggtt tcttatgtat cctggtacca gcagaaacct 180
 ggccaggctc ccaggctcct catctatggg gcatccaacc ggaacactgg tatcccagcc 240
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 300
 gaagattttg cagtttatta ctgtgggcag agttacaact atccgtacac gtttggccag 360
 gggaccaagc tggagatcaa acgaactgtg gctgcacccat ctgtcttcat cttcccgcga 420
 tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480
 ccagagaggg ccaaagtaca gtggaagggt gataacgccc tccaatcggg taactcccag 540
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 660

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttga 705

<210> 181
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Protein Sequence Defining synthetic Humanized Hu2B8 Kv3-15.1
 Light Chain Variable Region and Human Capa Chain Constant Region
 (Km(3) allotype) (allele 2) (without signal sequence)
 <400> 181
 Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Val Ser Tyr
 20 25 30
 Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Asn Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Ser Tyr Asn Tyr Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 182
 <211> 412
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Humanized LR2B8HC
 Heavy Chain Variable Region
 <400> 182
 atgggctggt catatattat tctctttctt gttgctaccg ctaccgatgt gcactctcaa 60
 gtccaactcg tacaaccagg cgctgaagtc gtaaaacccg gaacatctgt taaactctca 120
 tgcaaagcct caggatacac tttcacaact tactggatgc attgggtcaa tcaagcccc 180
 ggacaaggcc tcgaatggat tggcgaaatt aacccaacta acggacatac taattataat 240
 gaaaaattta agggcaaagc tacactcacc gtcgataaat caacctctac agcttatatg 300
 gaactttcat ccctgagatc agaagataca gccgtctact attgcgccag aaactacgta 360
 ggatcaatat tcgattactg ggggtcaaggc actctcctca cagtcagctc ag 412
 <210> 183
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Protein Sequence Defining synthetic Humanized LR2B8HC Heavy
 Chain Variable Region (without signal sequence)
 <400> 183
 Gln Val Gln Leu Val Gln Pro Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Thr
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

20 25 30
 Trp Met His Trp Val Asn Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val 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 Asn Tyr Val Gly Ser Ile Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Leu Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 184
 <211> 992
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Human IgG1 Heavy Chain
 Constant Region (Glm(3) allotype) (allele 1)
 <400> 184
 ccagcacaaa gggcccatcg gtcttccccc tggcaccctc ctccaagagc acctctgggg 60
 gcacagcggc cctgggctgc ctggtcaagg actacttccc cgaaccggtg acggtgtcgt 120
 ggaactcagg cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta cagtctcag 180
 gactctactc cctcagcagc gtggtgaccg tgccctccag cagcttgggc acccagacct 240
 acatctgcaa cgtgaatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga gttgagccca 300
 aatcttgtga caaaactcac acatgtccac cgtgcccagc acctgaactc ctgggggggac 360
 cgtcagtcct cctcttcccc ccaaaaccca aggacacct catgatctcc cggaccctctg 420
 aggtcacatg cgtggtggtg gacgtgagcc acgaagaccc tgaggtcaag ttcaactggt 480
 acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagtacaaca 540
 gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg aatggcaagg 600
 agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca 660
 aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacacct gccccatcc cgggaggaga 720
 tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tgggtcaaagg cttctatccc agcgacatcg 780
 ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc 840
 tggactccga cggctccttc ttctctata gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc 900
 agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcattgaggc tctgcacaac cactacacgc 960
 agaagagcct ctccctgtcc ccgggtaaat ga 992
 <210> 185
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Protein Sequence Defining synthetic Human IgG1 Heavy Chain
 Constant Region (Glm(3) allotype) (allele 1 or 2)
 <400> 185
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140

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

<210> 186
 <211> 1404
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length Heavy Chain Humanized LR2B8HC Heavy Chain Variable Region and Human IgG1 Heavy Chain Constant Region (G1m(3) allotype) (allele 1)
 <400> 186

atgggctggt	catatattat	tctctttctt	gttgctaccg	ctaccgatgt	gcactctcaa	60
gtccaactcg	tacaaccagg	cgctgaagtc	gtaaaaccgc	gaacatctgt	taaactctca	120
tgcaaagcct	caggatacac	tttcacaact	tactggatgc	attgggtcaa	tcaagcccc	180
ggacaaggcc	tcgaatggat	tggcgaaatt	aacccaacta	acggacatac	taattataat	240
gaaaaattta	agggcaaagc	tacactcacc	gtcgataaat	caacctctac	agcttatatg	300
gaactttcat	ccctgagatc	agaagataca	gccgtctact	attgcgccag	aaactacgta	360
ggatcaatat	tcgattactg	gggtcaaggc	actctoctca	cagtcagctc	agccagcaca	420
aagggcccat	cggtcttccc	cctggcaccc	tcctccaaga	gcacctctgg	gggcacagcg	480
gccctgggct	gcctgggtcaa	ggactacttc	cccgaaccgg	tgacgggtgc	gtggaactca	540
ggcgccctga	ccagcggcgt	gcacaccttc	cgggctgtcc	tacagtccct	aggactctac	600
tcctctcagca	gcgtgggtgac	cgtgccctcc	agcagcttgg	gcacccagac	ctacatctgc	660
aacgtgaatc	acaagcccag	caacaccaag	gtggacaaga	gagttgagcc	caaactctgt	720
gacaaaactc	acacatgtcc	accgtgccca	gcacctgaac	tcctgggggg	accgtcagtc	780
ttcctcttcc	ccccaaaacc	caaggacacc	ctcatgatct	cccggacccc	tgaggtcaca	840
tgcgtgggtg	tggacgtgag	ccacgaagac	cctgaggtca	agttcaactg	gtacgtggac	900
ggcgtggagg	tgcataatgc	caagacaaag	ccgcggggagg	agcagtacaa	cagcacgtac	960
cgtgtgggtca	gcgtcctcac	cgtcctgcac	caggactggc	tgaatggcaa	ggagtacaag	1020
tgcaagggtct	ccaacaaagc	cctcccagcc	cccatcgaga	aaaccatctc	caaagccaaa	1080
gggcagcccc	gagaaccaca	ggtgtacacc	ctgcccccat	cccggggagg	gatgaccaag	1140
aaccagggtca	gcctgacctg	cctgggtcaaa	ggcttctatc	ccagcgacat	cgccgtggag	1200
tgggagagca	atgggcagcc	ggagaacaac	tacaagacca	cgctcccgtg	gctggactcc	1260
gacggctcct	tcttctctca	tagcaagctc	accgtggaca	agagcagggtg	gcagcagggg	1320
aacgtcttct	catgctccgt	gatgcatgag	gctctgcaca	accactacac	gcagaagagc	1380
ctctccctgt	ccccgggtaa	atga				1404

<210> 187
 <211> 448
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Protein Sequence Defining synthetic Full Length Heavy Chain Humanized LR2B8HC Heavy Chain Variable Region and Human IgG1 Heavy

Chain Constant Region (Glm(3) allotype) (allele 1) (without signal sequence)

```

<400>          187
Gln Val Gln Leu Val Gln Pro Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Thr
1          5          10          15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20          25          30
Trp Met His Trp Val Asn Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35          40          45
Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50          55          60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val 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 Asn Tyr Val Gly Ser Ile Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100         105         110
Leu Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115         120         125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130         135         140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145         150         155         160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165         170         175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180         185         190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195         200         205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210         215         220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225         230         235         240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245         250         255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260         265         270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275         280         285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290         295         300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305         310         315         320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325         330         335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340         345         350
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355         360         365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370         375         380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385         390         395         400
Ser Asp Gly Ser Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405         410         415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420         425         430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435         440         445

<210>          188
<211>          412
<212>          DNA
<213>          Sequência artificial
<220>

```

<223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Humanized LRMR2B8HC Heavy Chain Variable Region

<400> 188
 atgggttgggt catatattat actctttctc gtagccaccg ccaccgacgt acactctcag 60
 gttcaactcg tacaaccg cgccgaagtc aagaaaccag gaacatcagt caaactctca 120
 tgtaaagcaa gcggatacac ctttactact tattggatgc attgggtaag acaagcccc 180
 ggacaaggac tcgaatggat aggcgaaata aatcccacta atggacatac aaattataat 240
 caaaaatttc aaggacgcgc tacactcacc gtcgataaat caacctcaac cgcatacatg 300
 gaactcagct ccctccgac cgaagacact gccgtttatt attgtgccag aaactatgta 360
 ggatctattt tcgattactg gggacaagga acacttctca ccgtaagctc ag 412

<210> 189

<211> 118

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Protein Sequence Defining synthetic Humanized LRMR2B8HC Heavy Chain Variable Region (without signal sequence)

<400> 189
 Gln Val Gln Leu Val Gln Pro Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Thr
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30
 Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val 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 Asn Tyr Val Gly Ser Ile Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Leu Thr Val Ser Ser
 115

<210> 190

<211> 1404

<212> DNA

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length Heavy Chain Humanized LRMR2B8HC Heavy Chain Variable Region and Human IgG1 Heavy Chain Constant Region (G1m(3) allotype) (allele 1)

<400> 190
 atgggttgggt catatattat actctttctc gtagccaccg ccaccgacgt acactctcag 60
 gttcaactcg tacaaccg cgccgaagtc aagaaaccag gaacatcagt caaactctca 120
 tgtaaagcaa gcggatacac ctttactact tattggatgc attgggtaag acaagcccc 180
 ggacaaggac tcgaatggat aggcgaaata aatcccacta atggacatac aaattataat 240
 caaaaatttc aaggacgcgc tacactcacc gtcgataaat caacctcaac cgcatacatg 300
 gaactcagct ccctccgac cgaagacact gccgtttatt attgtgccag aaactatgta 360
 ggatctattt tcgattactg gggacaagga acacttctca ccgtaagctc agccagcaca 420
 aagggcccat cggtcttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 480
 gccctgggct gcctgggcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca 540
 ggcgccttga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 600
 tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 660
 aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagcc caaatcttgt 720
 gacaaaactc acacatgtcc accgtgcccc gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 780
 ttctcttccc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 840
 tgcgtgggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 900
 ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 960
 cgtgtgggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020
 tgcaaggctc ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1080
 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 1140
 aaccaggtca gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgcctgggag 1200
 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1260

```

gacggctcct tcttctctta tagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1320
aacgtcttct catgtccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1380
ctctccctgt ccccggttaa atga 1404
<210> 191
<211> 448
<212> PRT
<213> Sequência artificial
<220>
<223> Protein Sequence Defining synthetic Full Length Heavy Chain
Humanized LRMR2B8HC Heavy Chain Variable Region and Human IgG1 Heavy
Chain Constant Region (Glm(3) allotype) (allele 1) (without signal
sequence)
<400> 191
Gln Val Gln Leu Val Gln Pro Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Thr
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val 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 Asn Tyr Val Gly Ser Ile Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

```

405 410 415
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 192
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Humanized LR2B8LC
 Light Chain Variable Region
 <400> 192
 atggaaagtc agacccttgt attcatctct attcttcttt ggttgatgg agcagacggc 60
 gacattgtga tgacccaatc ccccgatagt atggccatga gtgtaggaga aagagtcacc 120
 cttaattgca aagcctccga aaatgtcggt tcatatgtgt cttggtatca acaaaaaccc 180
 ggccaatcac ccaaacttct catatacggc gcttcaaaca gaaacacagg cgttcccgac 240
 agatttagtg gatccggtc agctacagat ttcaccctta ccatcagttc agttcaagca 300
 gaagacgttg cagactatca ttgaggacaa tcttataact acccttacac attcggacaa 360
 <210> 193
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Protein Sequence Defining synthetic Humanized LR2B8LC Light
 Chain Variable Region (without signal sequence)
 <400> 193
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Met Ala Met Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Val Thr Leu Asn Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Val Ser Tyr
 20 25 30
 Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Asn Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Ala Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
 65 70 75 80
 Glu Asp Val Ala Asp Tyr His Cys Gly Gln Ser Tyr Asn Tyr Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 194
 <211> 323
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Human Capa Chain
 Constant Region (Km(3) allotype) (allele 1)
 <400> 194
 gtacgggtggc tgcaccatct gtcttcatct tcccgcacac tgatgagcag ttgaaatctg 60
 gaactgcctc tgttggtgtc ctgctgaata acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt 120
 ggaaggtgga taacgcctc caatcgggta actcccagga gagtgtcaca gagcaggaca 180
 gcaaggacag cacctacagc ctcagcagca ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga 240
 aacacaaagt ctacgcctgc gaagtcaccc atcagggcct gagctcgcgc gtcacaaaaga 300
 gcttcaacag gggagagtgt tag 323
 <210> 195
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Protein Sequence Encoding synthetic Human Capa Chain Constant
 Region (Km(3) allotype) (allele 1)
 <400> 195
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

1 5 10 15
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 20 25 30
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 35 40 45
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 65 70 75 80
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 100 105
 <210> 196
 <211> 705
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length Humanized
 LR2B8LC Light Chain Variable Region and the Human Capa Chain Constant
 Region (Km(3) allotype) (allele 1)
 <400> 196
 atggaaagtc agacccttgt attcatctct attcttcttt ggttgatg agcagacggc 60
 gacattgtga tgacccaatc ccccgatagt atggccatga gtgtaggaga aagagtcacc 120
 cttaattgca aagcctccga aaatgtcggt tcatatgtgt cttggtatca acaaaaaccc 180
 ggccaatcac ccaaacttct catatacggc gcttcaaaca gaaacacagg cgttcccgcac 240
 agatttagtg gatccggatc agctacagat ttcaccctta ccatcagttc agttcaagca 300
 gaagacggtg cagactatca ttgctggacaa tcttataact acccttacac attcggacaa 360
 ggaaccaaac tcgaaattaa acgtacgggt gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcga 420
 tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggt gataacgccc tccaatcggg taactcccag 540
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 660
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 705
 <210> 197
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Protein Sequence Encoding synthetic Full Length Humanized
 LR2B8LC Light Chain Variable Region and the Human Capa Chain
 Constant Region (Km(3) allotype) (allele 1)
 <400> 197
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Met Ala Met Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Val Thr Leu Asn Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Val Ser Tyr
 20 25 30
 Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Asn Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Ala Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
 65 70 75 80
 Glu Asp Val Ala Asp Tyr His Cys Gly Gln Ser Tyr Asn Tyr Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 198
 <211> 382
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Humanized LRMR2B8LC
 Light Chain Variable Region
 <400> 198
 atggaatccc aaacccttgt tttcatctct atccttctct ggctttatgg cgccgacgga 60
 gacatcgtaa tgacacaatc cctgactct cttgctatga gcttgggcga acgagtaaca 120
 cttaactgca aagcatccga aaatgtcgta tcttacgtat cctggatatca gcaaaaacct 180
 ggtcaaagtc ctaaacttct tatatatggg gcaagtaatc gtgaaagtgg cgtcccagac 240
 agatttagcg gttcaggttc agcaactgac tttacactta caatttctag cgttcaggcc 300
 gaagacgttg cagactatca ttgtggacaa tcttataact atccttatac tttcggacaa 360
 ggcactaaac ttgaaattaa ac 382
 <210> 199
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Protein Sequence Defining synthetic Humanized LRMR2B8LC Light
 Chain Variable Region (without signal sequence)
 <400> 199
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Met Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Val Thr Leu Asn Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Val Ser Tyr
 20 25 30
 Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Ala Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
 65 70 75 80
 Glu Asp Val Ala Asp Tyr His Cys Gly Gln Ser Tyr Asn Tyr Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 200
 <211> 705
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length Humanized
 LRMR2B8LC Light Chain Variable Region and the Human Capa Chain Constant
 Region (Km(3) allotype) (allele 1)
 <400> 200
 atggaatccc aaacccttgt tttcatctct atccttctct ggctttatgg cgccgacgga 60
 gacatcgtaa tgacacaatc cctgactct cttgctatga gcttgggcga acgagtaaca 120
 cttaactgca aagcatccga aaatgtcgta tcttacgtat cctggatatca gcaaaaacct 180
 ggtcaaagtc ctaaacttct tatatatggg gcaagtaatc gtgaaagtgg cgtcccagac 240
 agatttagcg gttcaggttc agcaactgac tttacactta caatttctag cgttcaggcc 300
 gaagacgttg cagactatca ttgtggacaa tcttataact atccttatac tttcggacaa 360
 ggcactaaac ttgaaattaa acgtacgggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 420
 tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 540
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 660

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 705

<210> 201

<211> 214

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Protein Sequence Defining synthetic Full Length Humanized LRMR2B8LC Light Chain Variable Region and the Human Capa Chain Constant Region (Km(3) allotype) (allele 1)

<400> 201

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 202

<211> 17

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Heavy Chain CDR2 sequence (Kabat Definition) of synthetic humanized Hu2B8 Hv1f.1 antibody

<400> 202

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

Gly

<210> 203

<211> 17

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Heavy Chain CDR2 sequence (Kabat Definition) of synthetic humanized Hu2B8 Hv5a.1 antibody

<400> 203

Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 204

<211> 17

<212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Heavy Chain CDR2 sequence (Kabat Definition) of synthetic humanized LR2B8HC antibody
 <400> 204
 Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 205
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Heavy Chain CDR2 sequence (Kabat Definition) of synthetic humanized LRMR2B8HC antibody
 <400> 205
 Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 206
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Light Chain CDR2 sequence (Kabat Definition) of synthetic humanized LRMR2B8LC antibody
 <400> 206
 Gly Ala Ser Asn Arg Glu Ser
 1 5

<210> 207
 <211> 992
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Human IgG1 Heavy Chain Constant Region (Glm(3) allotype) (allele 2)
 <400> 207
 cctccaccaa gggcccatcg gtcttccccc tggcaccctc ctccaagagc acctctgggg 60
 gcacagcggc cctgggctgc ctgggtcaagg actacttccc cgaaccggtg acggtgtcgt 120
 ggaactcagg gcacctgacc agcggcgctgc acaccttccc ggctgtccta cagtcctcag 180
 gactctactc cctcagcagc gtgggtgaccg tgccctccag cagcttgggc acccagacct 240
 acatctgcaa cgtgaatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga gttgagccca 300
 aatcttgtga caaaactcac acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc ctgggggggac 360
 cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc cggacccctg 420
 aggtcacatg cgtgggtggtg gacgtgagcc acgaagacct tgaggtcaag ttcaactggt 480
 acgtggacgg cgtggagggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagtacaaca 540
 gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg aatggcaagg 600
 agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaag accatctcca 660
 aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacacct gcccccatcc cgggaggaga 720
 tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tgggtcaaagg cttctatccc agcgacatcg 780
 ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc 840
 tggactccga cggctccttc ttctcttaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc 900
 agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcattgaggc tctgcacaac cactacacgc 960
 agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaat ga 992

<210> 208
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Protein Sequence Defining synthetic Human IgG1 Heavy Chain Constant Region (Glm(3) allotype) (allele 1 or 2)

<400> 208
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 209

<211> 1404

<212> DNA

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Nucleic Acid Sequence Encoding synthetic Full Length Chain Con-
 taining Humanized Hu2B8 Hv5-51.1 Heavy Chain Variable Region and the Human
 IgG1 Heavy Chain Constant Region G1m(3) allotype (allele 2)

<400> 209
 atgggggtcaa cgcgcacacct cgcctctctc ctggctgttc tccaaggagt ctgtgccgaa 60
 gtgcagctgg tgcagctctgg agcagaggtg aaaaagcccg gggagtctct gaagatctcc 120
 tgtaagggtt ctggatacag ctttaccacc tactggatgc actgggtgcg ccagatgccc 180
 gggaaaggcc tggagtggat gggggagatt aatcctacca acggtcatac taactacaat 240
 ccgtccttcc aaggccaggt caccatctca gctgacaagt ccatacagac tgcctacctg 300
 cagtggagca gcctgaaggc ctcgacacac gccatgtatt actgtgagag aaactatggt 360
 ggtagcatct ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctctc agcctccacc 420
 aaggggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 480
 gccctgggct gccctggtaa ggactacttc ccgaaccgg tgacggtgct gtggaactca 540
 ggcgccttga ccagcggcgt gcacaccttc ccggtgtgct tacagtctc aggactctac 600
 tccctcagca gcgtggtgac cgtgccttcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 660
 aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagcc caaatcttgt 720

```

gacaaaaactc acacatgccc accgtgcccga gcacctgaac tcctggggggg accgtcagtc 780
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 840
tgcgtaggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 900
ggcgtaggagg tgcataatgc caagacaaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 960
cgtgtgggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020
tgcaaggtct ccaacaaaag cctcccagcc cccatcgaga agaccatctc caaagccaaa 1080
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 1140
aaccaggtca gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1200
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccg tctggactcc 1260
gacggctcct tcttctctta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1320
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1380
ctctccctgt ctccgggtaa atga 1404

```

<210> 210

<211> 448

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Protein Sequence Defining synthetic Full Length Heavy Chain Containing Humanized Hu2B8 Hv5-51.1 and the Human IgG1 Heavy Chain Constant Region G1m(3) allotype (allele 2) (without signal sequence)

<400> 210

```

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

```

340	345	350	
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys			
355	360	365	
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser			
370	375	380	
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp			
385	390	395	400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser			
405	410	415	
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala			
420	425	430	
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
435	440	445	

<210> 211
 <211> 2209
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Synthetic HGF mhm (V495-L585)
 <400> 211

atgatgtggg	ggaccaaact	tctgcccgtc	ctgttgctgc	agcatgtcct	cctgcacctc	60
ctcctgcttc	atgtcgccat	cccctatgca	gaaggacaga	agaaaagaag	aaatacactt	120
catgaattta	aaaagtcagc	aaaaactact	cttaccaagg	aagaccatt	actgaagatt	180
aaaaccaaaa	aagtgaactc	tgcagatgag	tgtgccaca	ggtgtatcag	gaacaggggc	240
tttacgttca	cttgcaaggc	cttcgttttt	gataagtcaa	gaaaacgatg	ctactggtat	300
cctttcaata	gtatgtcaag	tggagtgaag	aaagggtttg	gccatgaatt	tgacctctat	360
gaaaacaaag	actatattag	aaactgcatc	atttgtaaag	gaggcagcta	taaagggacg	420
gtatccatca	ctaagagtgg	catcaaatgc	cagccttgga	attccatgat	cccccatgaa	480
cacagctttt	tgccttcgag	ctatcgcggt	aaagacctac	aggaaaacta	ctgtcgaaat	540
cctcgagggg	aagaagggg	accctggtgt	ttcacaagca	atccagaggt	acgctacgaa	600
gtctgtgaca	ttcctcagtg	ttcagaagtt	gaatgcatga	cctgcaatgg	tgaaagctac	660
agaggtccca	tggatcacac	agaatcaggc	aagacttgtc	agcgtctgga	ccagcagaca	720
ccacaccggc	acaagttcct	gccagaaaga	tatcccagca	agggctttga	tgataattat	780
tgccgcaatc	ctgatggcaa	gccgaggcca	tgggtgtaca	ctcttgacct	tgacaccact	840
tgggagtatt	gtgcaattaa	aacgtgcgct	cacagtgtgt	tgaatgagac	tgatgtccct	900
atggaaacaa	ctgaatgcat	tcaaggccaa	ggagaagggt	acaggggaac	cagcaatacc	960
atttggaaatg	gaattccctg	tcagcgttgg	gattcgcatg	accctcacaa	gcattgatct	1020
actcccagaga	acttcaaatg	caaggacctt	agagaaaatt	attgccgcaa	tccagatggg	1080
gctgaatcac	catggtgttt	taccactgac	ccaaacatcc	gagttggcta	ctgctctcag	1140
attcccaagt	gtgacgtgtc	aagtggacaa	gattgttatc	gtggcaatgg	gaaaaattac	1200
atgggcaact	tatccaaaac	aaggtctgga	cttacatggt	ccatgtggga	caagaatatg	1260
gaggattttac	accgtcatat	cttctgggag	ccagatgcta	gcaaattgaä	taagaattac	1320
tgccggaatc	ctgatgatga	tgcccatgga	ccttggtgct	acacggggaa	tcctcttatt	1380
ccttgggatt	attgccctat	ttcccgttgt	gaaggagata	ctacacctac	aattgtcaat	1440
ttggaccatc	ctgtaatatc	ctgtgccaaa	acaaaacaac	tgccgggtgt	aaatgggatt	1500
ccaacacgaa	caaacatagg	atggatggtt	agtttgagat	acagaaataa	acatatctgc	1560
ggaggatcat	tgataaagga	gagttgggtt	cttactgcac	gacagtgttt	cccttctcga	1620
gacttgaaag	attatgaagc	ttggcttgga	attcatgatg	tccacggaag	aggagatgag	1680
aaatgcaaac	aggttctcaa	tgtttcccag	ctggtatatg	gccctgaagg	atcagatctg	1740
gttttaatatg	agcttgctcg	acctgcaatc	ctggataact	ttgtcagtac	aattgattta	1800
cctagttatg	gttgtacaat	ccctgaaaag	accacttgca	gtattttacg	ctggggctac	1860
actggattga	tcaacgcgga	tggtttatta	cgagtagctc	atctgtatat	tatggggaat	1920
gagaaatgca	gtcagcacca	tcaaggcaag	gtgactttga	atgagtctga	gttatgtgct	1980
ggggctgaaa	agattggatc	aggaccatgt	gagggagatt	atggtggccc	actcatttgt	2040
gaacaacaca	aaatgagaat	ggttcttggt	gtcattgttc	ctggtcgtgg	atgtgccatc	2100
ccaaatcgtc	ctgttatatt	tgttcgagta	gcatattatg	caaatgggat	acacaaagta	2160
attttgacat	acaagttgtg	cggccgccat	caccatcacc	atcactaag		2209

<210> 212
 <211> 680
 <212> PRT
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Synthetic HGF mhm495-585 active
 <400> 212

Pro	Leu	Leu	Lys	Ile	Lys	Thr	Lys	Lys	Val	Asn	Ser	Ala	Asp	Glu	Cys
1				5					10					15	
Ala	Asn	Arg	Cys	Ile	Arg	Asn	Arg	Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	Cys	Lys	Ala
			20					25					30		
Phe	Val	Phe	Asp	Lys	Ser	Arg	Lys	Arg	Cys	Tyr	Trp	Tyr	Pro	Phe	Asn
		35					40					45			
Ser	Met	Ser	Ser	Gly	Val	Lys	Lys	Gly	Phe	Gly	His	Glu	Phe	Asp	Leu
	50					55					60				
Tyr	Glu	Asn	Lys	Asp	Tyr	Ile	Arg	Asn	Cys	Ile	Ile	Gly	Lys	Gly	Gly
65					70					75					80
Ser	Tyr	Lys	Gly	Thr	Val	Ser	Ile	Thr	Lys	Ser	Gly	Ile	Lys	Cys	Gln
				85					90						95
Pro	Trp	Asn	Ser	Met	Ile	Pro	His	Glu	His	Ser	Phe	Leu	Pro	Ser	Ser
			100					105					110		
Tyr	Arg	Gly	Lys	Asp	Leu	Gln	Glu	Asn	Tyr	Cys	Arg	Asn	Pro	Arg	Gly
		115					120					125			
Glu	Glu	Gly	Gly	Pro	Trp	Cys	Phe	Thr	Ser	Asn	Pro	Glu	Val	Arg	Tyr
	130					135					140				
Glu	Val	Cys	Asp	Ile	Pro	Gln	Cys	Ser	Glu	Val	Glu	Cys	Met	Thr	Cys
145					150					155					160
Asn	Gly	Glu	Ser	Tyr	Arg	Gly	Pro	Met	Asp	His	Thr	Glu	Ser	Gly	Lys
				165					170						175
Thr	Cys	Gln	Arg	Trp	Asp	Gln	Gln	Thr	Pro	His	Arg	His	Lys	Phe	Leu
			180					185						190	
Pro	Glu	Arg	Tyr	Pro	Asp	Lys	Gly	Phe	Asp	Asp	Asn	Tyr	Cys	Arg	Asn
		195					200					205			
Pro	Asp	Gly	Lys	Pro	Arg	Pro	Trp	Cys	Tyr	Thr	Leu	Asp	Pro	Asp	Thr
	210					215					220				
Thr	Trp	Glu	Tyr	Cys	Ala	Ile	Lys	Thr	Cys	Ala	His	Ser	Ala	Val	Asn
225					230					235					240
Glu	Thr	Asp	Val	Pro	Met	Glu	Thr	Thr	Glu	Cys	Ile	Gln	Gly	Gln	Gly
			245						250					255	
Glu	Gly	Tyr	Arg	Gly	Thr	Ser	Asn	Thr	Ile	Trp	Asn	Gly	Ile	Pro	Cys
		260						265					270		
Gln	Arg	Trp	Asp	Ser	Gln	Tyr	Pro	His	Lys	His	Asp	Ile	Thr	Pro	Glu
		275					280					285			
Asn	Phe	Lys	Cys	Lys	Asp	Leu	Arg	Glu	Asn	Tyr	Cys	Arg	Asn	Pro	Asp
	290					295					300				
Gly	Ala	Glu	Ser	Pro	Trp	Cys	Phe	Thr	Thr	Asp	Pro	Asn	Ile	Arg	Val
305					310					315					320
Gly	Tyr	Cys	Ser	Gln	Ile	Pro	Lys	Cys	Asp	Val	Ser	Ser	Gly	Gln	Asp
			325						330					335	
Cys	Tyr	Arg	Gly	Asn	Gly	Lys	Asn	Tyr	Met	Gly	Asn	Leu	Ser	Lys	Thr
		340						345					350		
Arg	Ser	Gly	Leu	Thr	Cys	Ser	Met	Trp	Asp	Lys	Asn	Met	Glu	Asp	Leu
		355					360					365			
His	Arg	His	Ile	Phe	Trp	Glu	Pro	Asp	Ala	Ser	Lys	Leu	Asn	Lys	Asn
	370					375						380			
Tyr	Cys	Arg	Asn	Pro	Asp	Asp	Asp	Ala	His	Gly	Pro	Trp	Cys	Tyr	Thr
385					390					395					400
Gly	Asn	Pro	Leu	Ile	Pro	Trp	Asp	Tyr	Cys	Pro	Ile	Ser	Arg	Cys	Glu
			405						410					415	
Gly	Asp	Thr	Thr	Pro	Thr	Ile	Val	Asn	Leu	Asp	His	Pro	Val	Ile	Ser
			420					425					430		
Cys	Ala	Lys	Thr	Lys	Gln	Leu	Arg	Val	Val	Asn	Gly	Ile	Pro	Thr	Arg
		435					440					445			
Thr	Asn	Ile	Gly	Trp	Met	Val	Ser	Leu	Arg	Tyr	Arg	Asn	Lys	His	Ile
	450					455					460				
Cys	Gly	Gly	Ser	Leu	Ile	Lys	Glu	Ser	Trp	Val	Leu	Thr	Ala	Arg	Gln
465					470					475					480
Cys	Phe	Pro	Ser	Arg	Asp	Leu	Lys	Asp	Tyr	Glu	Ala	Trp	Leu	Gly	Ile
				485					490					495	
His	Asp	Val	His	Gly	Arg	Gly	Asp	Glu	Lys	Cys	Lys	Gln	Val	Leu	Asn
			500					505					510		

Val Ser Gln Leu Val Tyr Gly Pro Glu Gly Ser Asp Leu Val Leu Met
 515 520 525
 Lys Leu Ala Arg Pro Ala Ile Leu Asp Asn Phe Val Ser Thr Ile Asp
 530 535 540
 Leu Pro Ser Tyr Gly Cys Thr Ile Pro Glu Lys Thr Thr Cys Ser Ile
 545 550 555 560
 Tyr Gly Trp Gly Tyr Thr Gly Leu Ile Asn Ala Asp Gly Leu Leu Arg
 565 570 575
 Val Ala His Leu Tyr Ile Met Gly Asn Glu Lys Cys Ser Gln His His
 580 585 590
 Gln Gly Lys Val Thr Leu Asn Glu Ser Glu Leu Cys Ala Gly Ala Glu
 595 600 605
 Lys Ile Gly Ser Gly Pro Cys Glu Gly Asp Tyr Gly Gly Pro Leu Ile
 610 615 620
 Cys Glu Gln His Lys Met Arg Met Val Leu Gly Val Ile Val Pro Gly
 625 630 635 640
 Arg Gly Cys Ala Ile Pro Asn Arg Pro Val Ile Phe Val Arg Val Ala
 645 650 655
 Tyr Tyr Ala Lys Trp Ile His Lys Val Ile Leu Thr Tyr Lys Leu Cys
 660 665 670
 Gly Arg His His His His His His
 675 680

<210> 213
 <211> 2194
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Synthetic HGF mhm (I499-R556)
 <400> 213

atgatgtggg	ggaccaaact	tctgccggtc	ctgttgctgc	agcatgtcct	cctgcacctc	60
ctcctgcttc	atgtcgccat	cccctatgca	gaaggacaga	agaaaagaag	aaatacactt	120
catgaattta	aaaagtcagc	aaaaactact	cttaccaagg	aagaccatt	actgaagatt	180
aaaacaaaa	aagtgaactc	tgcagatgag	tgtgccaca	ggtgtatcag	gaacaggggc	240
tttacgttca	cttgcaaggc	cttcggtttt	gataagtcaa	gaaaacgatg	ctactggtat	300
cctttcaata	gtatgtcaag	tggagtgaag	aaagggtttg	gccatgaatt	tgacctctat	360
gaaaacaaag	actatattag	aaactgcac	attggtaaag	gaggcagcta	taaagggacg	420
gtatccatca	ctaagagtgg	catcaaagtc	cagccttgga	attccatgat	cccccatgaa	480
cacagctatc	gcggtaaaga	cctacaggaa	aactactgtc	gaaatcctcg	aggggaagaa	540
gggggaccct	ggtgtttcac	aagcaatcca	gaggtacgct	acgaagtctg	tgacattcct	600
cagtgttcag	aagttgaatg	catgacctgc	aatggtgaaa	gctacagagg	tcccatggat	660
cacacagaat	caggcaagac	ttgtcagcgc	tgggaccagc	agacaccaca	ccggcacaag	720
ttcttgccag	aaagatatcc	cgacaagggc	tttgatgata	attattgccg	caatcctgat	780
ggcaagccga	ggccatggtg	ctacactctt	gacctgaca	ccccttgga	gtattgtgca	840
attaaaacgt	gcgctcacag	tgctgtgaat	gagactgatg	tccctatgga	aacaactgaa	900
tgcatccaag	gccaaggaga	aggttacagg	ggaaccagca	ataccatttg	gaatggaatt	960
ccctgtcagc	gttgggattc	gcagtaccct	cacaagcatg	atatcactcc	cgagaacttc	1020
aaatgcaagg	accttagaga	aaattattgc	cgcaatccag	atggggctga	atcaccatgg	1080
tgttttacca	ctgacccaaa	catccgagtt	ggctactgct	ctcagattcc	caagtgtgac	1140
gtgtcaagtg	gacaagattg	ttatcgtggc	aatgggaaaa	attacatggg	caacttatcc	1200
aaaacaagg	ctggacttac	atgttccatg	tgggacaaga	atatggagga	tttacaccgt	1260
catatcttct	gggagccaga	tgctagcaaa	ttgaataaga	attactgccg	gaatcctgat	1320
gatgatgccc	atggaccttg	gtgctacacg	gggaatcctc	ttattccttg	ggattattgc	1380
cctattttccc	gttgtgaagg	agatactaca	cctacaattg	tcaatttgga	ccatcctgta	1440
ataticctgtg	ccaaaacaaa	acaactgcgg	gttgtaaatg	ggattccaac	acgaacaaac	1500
ataggatgga	tggttagttt	gagatcacaga	aataaacata	tctgcggagg	atcattgata	1560
aaggagagtt	gggttcttac	tgcaagcagc	tggttccctt	ctcgagactt	gaaagattat	1620
gaagcttggc	ttggaattca	tgatgtccac	ggaagaggag	aggagaaaag	aaaacagatt	1680
ctcaatattt	cccagctggg	atatggccct	gaaggatcag	atctggtttt	actgaagctt	1740
gctcgacctg	caatcctgga	taactttgtc	agtacaattg	atttacctag	ttatggttgt	1800
acaatccctg	aaaagaccac	ttgcagtatt	tacggctggg	gctacactgg	attgatcaac	1860
cgggatgggt	tattacgagt	agctcatctg	tatattatgg	ggaatgagaa	atgcagtcag	1920
caccatcaag	ccaaggtgac	tttgaatgag	tctgagttat	gtgctggggc	tgaaaagatt	1980
ggatcaggac	catgtgaggg	agattatggt	ggcccaactc	tttgtgaaca	acacaaaatg	2040
agaatgggtc	ttggtgtcat	tgttcctggt	cgtggatgtg	ccatcccaaa	tcgtcctggt	2100

```

atttttgttc gagtagcata ttatgcaaaa tggatacaca aagtaatttt gacatacaag 2160
ttgtgcggcc gccatcacca tcaccatcac taag 2194
<210> 214
<211> 675
<212> PRT
<213> Sequência artificial
<220>
<223> Synthetic HGF mhm 499-556 active
<400> 214
Pro Leu Leu Lys Ile Lys Thr Lys Lys Val Asn Ser Ala Asp Glu Cys
1 5 10 15
Ala Asn Arg Cys Ile Arg Asn Arg Gly Phe Thr Phe Thr Cys Lys Ala
20 25 30
Phe Val Phe Asp Lys Ser Arg Lys Arg Cys Tyr Trp Tyr Pro Phe Asn
35 40 45
Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Gly Phe Gly His Glu Phe Asp Leu
50 55 60
Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Ile Arg Asn Cys Ile Ile Gly Lys Gly Gly
65 70 75 80
Ser Tyr Lys Gly Thr Val Ser Ile Thr Lys Ser Gly Ile Lys Cys Gln
85 90 95
Pro Trp Asn Ser Met Ile Pro His Glu His Ser Tyr Arg Gly Lys Asp
100 105 110
Leu Gln Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Arg Gly Glu Glu Gly Gly Pro
115 120 125
Trp Cys Phe Thr Ser Asn Pro Glu Val Arg Tyr Glu Val Cys Asp Ile
130 135 140
Pro Gln Cys Ser Glu Val Glu Cys Met Thr Cys Asn Gly Glu Ser Tyr
145 150 155 160
Arg Gly Pro Met Asp His Thr Glu Ser Gly Lys Thr Cys Gln Arg Trp
165 170 175
Asp Gln Gln Thr Pro His Arg His Lys Phe Leu Pro Glu Arg Tyr Pro
180 185 190
Asp Lys Gly Phe Asp Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Lys Pro
195 200 205
Arg Pro Trp Cys Tyr Thr Leu Asp Pro Asp Thr Pro Trp Glu Tyr Cys
210 215 220
Ala Ile Lys Thr Cys Ala His Ser Ala Val Asn Glu Thr Asp Val Pro
225 230 235 240
Met Glu Thr Thr Glu Cys Ile Gln Gly Gln Gly Glu Gly Tyr Arg Gly
245 250 255
Thr Ser Asn Thr Ile Trp Asn Gly Ile Pro Cys Gln Arg Trp Asp Ser
260 265 270
Gln Tyr Pro His Lys His Asp Ile Thr Pro Glu Asn Phe Lys Cys Lys
275 280 285
Asp Leu Arg Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Ala Glu Ser Pro
290 295 300
Trp Cys Phe Thr Thr Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln
305 310 315 320
Ile Pro Lys Cys Asp Val Ser Ser Gly Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn
325 330 335
Gly Lys Asn Tyr Met Gly Asn Leu Ser Lys Thr Arg Ser Gly Leu Thr
340 345 350
Cys Ser Met Trp Asp Lys Asn Met Glu Asp Leu His Arg His Ile Phe
355 360 365
Trp Glu Pro Asp Ala Ser Lys Leu Asn Lys Asn Tyr Cys Arg Asn Pro
370 375 380
Asp Asp Asp Ala His Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Gly Asn Pro Leu Ile
385 390 395 400
Pro Trp Asp Tyr Cys Pro Ile Ser Arg Cys Glu Gly Asp Thr Thr Pro
405 410 415
Thr Ile Val Asn Leu Asp His Pro Val Ile Ser Cys Ala Lys Thr Lys
420 425 430
Gln Leu Arg Val Val Asn Gly Ile Pro Thr Arg Thr Asn Ile Gly Trp

```

435	Met Val Ser Leu Arg Tyr Arg Asn Lys His Ile Cys Gly Gly Ser Leu	440	445
450	Ile Lys Glu Ser Trp Val Leu Thr Ala Arg Gln Cys Phe Pro Ser Arg	455	460
465	Asp Leu Lys Asp Tyr Glu Ala Trp Leu Gly Ile His Asp Val His Gly	470	475
	485	490	495
Arg Gly Glu Glu Lys Arg Lys Gln Ile Leu Asn Ile Ser Gln Leu Val	500	505	510
Tyr Gly Pro Glu Gly Ser Asp Leu Val Leu Leu Lys Leu Ala Arg Pro	515	520	525
Ala Ile Leu Asp Asn Phe Val Ser Thr Ile Asp Leu Pro Ser Tyr Gly	530	535	540
Cys Thr Ile Pro Glu Lys Thr Thr Cys Ser Ile Tyr Gly Trp Gly Tyr	545	550	555
Thr Gly Leu Ile Asn Ala Asp Gly Leu Leu Arg Val Ala His Leu Tyr	565	570	575
Ile Met Gly Asn Glu Lys Cys Ser Gln His His Gln Gly Lys Val Thr	580	585	590
Leu Asn Glu Ser Glu Leu Cys Ala Gly Ala Glu Lys Ile Gly Ser Gly	595	600	605
Pro Cys Glu Gly Asp Tyr Gly Gly Pro Leu Ile Cys Glu Gln His Lys	610	615	620
Met Arg Met Val Leu Gly Val Ile Val Pro Gly Arg Gly Cys Ala Ile	625	630	635
Pro Asn Arg Pro Gly Ile Phe Val Arg Val Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp	645	650	655
Ile His Lys Val Ile Leu Thr Tyr Lys Leu Cys Gly Arg His His His	660	665	670

His His His
675

<210> 215
 <211> 2193
 <212> DNA
 <213> Sequência artificial
 <220>
 <223> Synthetic HGF mhm (W507-L585)
 <400> 215

atgatgtggg	ggaccaaact	tctgccggtc	ctgttgctgc	agcatgtcct	cctgcacctc	60
ctcctgcttc	atgtcgccat	cccctatgca	gaaggacaga	agaaaagaag	aaatacactt	120
catgaattta	aaaagtcagc	aaaaactact	cttaccacag	aagaccatt	actgaagatt	180
aaaacaaaa	aagtgaactc	tgcagatgag	tgtgccaa	ggtgtatcag	gaacaggggc	240
tttacgttca	cttgcaaggc	cttcgttttt	gataagtcaa	gaaaacgatg	ctactggtat	300
cctttcaata	gtatgtcaag	tggagtga	aaagggtttg	gccatgaatt	tgacctctat	360
gaaaacaaag	actatattag	aaactgcac	atttgtaaag	gaggcagcta	taaagggacg	420
gtatccatca	ctaagagtgg	catcaaatgc	cagccttgga	attccatgat	cccccatgaa	480
cacagctatc	gcggtaaaga	cctacaggaa	aactactgtc	gaaatcctcg	aggggaagaa	540
gggggacct	ggtgtttcac	aagcaatcca	gaggtacgct	acgaagtctg	tgacattcct	600
cagtgttcag	aagttgaatg	catgacctgc	aatggtgaaa	gctacagagg	tcccatggat	660
cacacagaat	caggcaagac	ttgtcagcgc	tgggaccagc	agacaccaca	ccggcacaa	720
ttcttgccag	aaagatatcc	cgacaagggc	tttgatgata	attattgccg	caatcctgat	780
ggcaagccga	ggccatggtg	ctacactctt	gacctgaca	ccccttgga	gtattgtgca	840
attaaaacgt	gcgctcacag	tgctgtgaat	gagactgatg	tccctatgga	aacaactgaa	900
tgcattcaag	gccaaggaga	aggttacagg	ggaaccagca	ataccatttg	gaatggaatt	960
ccctgtcagc	gttggattc	gcagtaccct	cacaagcatg	atatcactcc	cgagaacttc	1020
aatgcaagg	accttagaga	aaattattgc	cgcacatccag	atggggctga	atcaccatgg	1080
tgttttacca	ctgacccaaa	catccgagtt	ggctactgct	ctcagattcc	caagtgtgac	1140
gtgtcaagtg	gacaagattg	ttatcgtggc	aatgggaaaa	attacatggg	caacttatcc	1200
aaaacaagg	ctggacttac	atgttccatg	tgggacaaga	atatggagga	tttacaccgt	1260
catatcttct	gggagccaga	tgctagcaaa	ttgaataaga	attactgccg	gaatcctgat	1320
gatgatccc	atggaccttg	gtgctacacg	gggaatcctc	ttattccttg	ggattattgc	1380
cctatttccc	gttgtgaagg	agatactaca	cctacaattg	tcaatttgga	ccatcctgta	1440
atatcctgtg	ccaaaacaaa	acaactgcgg	gttgtaaatg	ggattccaac	acaaacacaa	1500
gtaggatgga	tggttagttt	gagatacaga	aataaacata	tctgcggagg	atcattgata	1560

```

aaggagaggtt gggttctttac tgcacgacag tgtttccctt ctcgagactt gaaagattat 1620
gaagcttggtc ttggaattca tgatgtccac ggaagaggag atgagaaatg caaacagggtt 1680
ctcaatgtttt cccagctggt atatggccct gaaggatcag atctggtttt aatgaagctt 1740
gctcgacctg caatcctgga taactttgtc agtacaattg atttacctag ttatggttgt 1800
acaatccctg aaaagaccac ttgcagtatt tacggctggg gctacactgg attgatcaac 1860
gcggatgggtt tattacgagt agctcatctg tatattatgg ggaatgagaa atgcagtcag 1920
caccatcaag gcaaggtgac tttgaatgag tctgagttat gtgctggggc tgaaaagatt 1980
ggatcaggac catgtgaggg agattatggt ggcccactca tttgtgaaca acacaaaatg 2040
agaatgggttc ttggtgtcat tgttcctggt cgtggatgtg ccatcccaa tcgtcctggt 2100
atttttgttc gagtagcata ttatgcaaaa tggatacaca aagtaatttt gacatacaag 2160
ttgtgcggcc gccatcacca tcaccatcac taag 2194
<210> 216
<211> 675
<212> PRT
<213> Sequência artificial
<220>
<223> Synthetic HGF mhm507-585 active
<400> 216
Pro Leu Leu Lys Ile Lys Thr Lys Lys Val Asn Ser Ala Asp Glu Cys
1 5 10 15
Ala Asn Arg Cys Ile Arg Asn Arg Gly Phe Thr Phe Thr Cys Lys Ala
20 25 30
Phe Val Phe Asp Lys Ser Arg Lys Arg Cys Tyr Trp Tyr Pro Phe Asn
35 40 45
Ser Met Ser Ser Gly Val Lys Lys Gly Phe Gly His Glu Phe Asp Leu
50 55 60
Tyr Glu Asn Lys Asp Tyr Ile Arg Asn Cys Ile Ile Gly Lys Gly Gly
65 70 75 80
Ser Tyr Lys Gly Thr Val Ser Ile Thr Lys Ser Gly Ile Lys Cys Gln
85 90 95
Pro Trp Asn Ser Met Ile Pro His Glu His Ser Tyr Arg Gly Lys Asp
100 105 110
Leu Gln Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Arg Gly Glu Glu Gly Gly Pro
115 120 125
Trp Cys Phe Thr Ser Asn Pro Glu Val Arg Tyr Glu Val Cys Asp Ile
130 135 140
Pro Gln Cys Ser Glu Val Glu Cys Met Thr Cys Asn Gly Glu Ser Tyr
145 150 155 160
Arg Gly Pro Met Asp His Thr Glu Ser Gly Lys Thr Cys Gln Arg Trp
165 170 175
Asp Gln Gln Thr Pro His Arg His Lys Phe Leu Pro Glu Arg Tyr Pro
180 185 190
Asp Lys Gly Phe Asp Asp Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Lys Pro
195 200 205
Arg Pro Trp Cys Tyr Thr Leu Asp Pro Asp Thr Pro Trp Glu Tyr Cys
210 215 220
Ala Ile Lys Thr Cys Ala His Ser Ala Val Asn Glu Thr Asp Val Pro
225 230 235 240
Met Glu Thr Thr Glu Cys Ile Gln Gly Gln Gly Glu Gly Tyr Arg Gly
245 250 255
Thr Ser Asn Thr Ile Trp Asn Gly Ile Pro Cys Gln Arg Trp Asp Ser
260 265 270
Gln Tyr Pro His Lys His Asp Ile Thr Pro Glu Asn Phe Lys Cys Lys
275 280 285
Asp Leu Arg Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Ala Glu Ser Pro
290 295 300
Trp Cys Phe Thr Thr Asp Pro Asn Ile Arg Val Gly Tyr Cys Ser Gln
305 310 315 320
Ile Pro Lys Cys Asp Val Ser Ser Gly Gln Asp Cys Tyr Arg Gly Asn
325 330 335
Gly Lys Asn Tyr Met Gly Asn Leu Ser Lys Thr Arg Ser Gly Leu Thr
340 345 350
Cys Ser Met Trp Asp Lys Asn Met Glu Asp Leu His Arg His Ile Phe
355 360 365

```

Trp	Glu	Pro	Asp	Ala	Ser	Lys	Leu	Asn	Lys	Asn	Tyr	Cys	Arg	Asn	Pro	370	375	380
Asp	Asp	Asp	Ala	His	Gly	Pro	Trp	Cys	Tyr	Thr	Gly	Asn	Pro	Leu	Ile	385	390	395
Pro	Trp	Asp	Tyr	Cys	Pro	Ile	Ser	Arg	Cys	Glu	Gly	Asp	Thr	Thr	Pro	405	410	415
Thr	Ile	Val	Asn	Leu	Asp	His	Pro	Val	Ile	Ser	Cys	Ala	Lys	Thr	Lys	420	425	430
Gln	Leu	Arg	Val	Val	Asn	Gly	Ile	Pro	Thr	Gln	Thr	Thr	Val	Gly	Trp	435	440	445
Met	Val	Ser	Leu	Arg	Tyr	Arg	Asn	Lys	His	Ile	Cys	Gly	Gly	Ser	Leu	450	455	460
Ile	Lys	Glu	Ser	Trp	Val	Leu	Thr	Ala	Arg	Gln	Cys	Phe	Pro	Ser	Arg	465	470	475
Asp	Leu	Lys	Asp	Tyr	Glu	Ala	Trp	Leu	Gly	Ile	His	Asp	Val	His	Gly	485	490	495
Arg	Gly	Asp	Glu	Lys	Cys	Lys	Gln	Val	Leu	Asn	Val	Ser	Gln	Leu	Val	500	505	510
Tyr	Gly	Pro	Glu	Gly	Ser	Asp	Leu	Val	Leu	Met	Lys	Leu	Ala	Arg	Pro	515	520	525
Ala	Ile	Leu	Asp	Asn	Phe	Val	Ser	Thr	Ile	Asp	Leu	Pro	Ser	Tyr	Gly	530	535	540
Cys	Thr	Ile	Pro	Glu	Lys	Thr	Thr	Cys	Ser	Ile	Tyr	Gly	Trp	Gly	Tyr	545	550	555
Thr	Gly	Leu	Ile	Asn	Ala	Asp	Gly	Leu	Leu	Arg	Val	Ala	His	Leu	Tyr	565	570	575
Ile	Met	Gly	Asn	Glu	Lys	Cys	Ser	Gln	His	His	Gln	Gly	Lys	Val	Thr	580	585	590
Leu	Asn	Glu	Ser	Glu	Leu	Cys	Ala	Gly	Ala	Glu	Lys	Ile	Gly	Ser	Gly	595	600	605
Pro	Cys	Glu	Gly	Asp	Tyr	Gly	Gly	Pro	Leu	Ile	Cys	Glu	Gln	His	Lys	610	615	620
Met	Arg	Met	Val	Leu	Gly	Val	Ile	Val	Pro	Gly	Arg	Gly	Cys	Ala	Ile	625	630	635
Pro	Asn	Arg	Pro	Gly	Ile	Phe	Val	Arg	Val	Ala	Tyr	Tyr	Ala	Lys	Trp	645	650	655
Ile	His	Lys	Val	Ile	Leu	Thr	Tyr	Lys	Leu	Cys	Gly	Arg	His	His	His	660	665	670
His	His	His														675		

REIVINDICAÇÕES

1. Proteína de ligação isolada que se liga ao fator de crescimento de hepatócito humano (HGF), caracterizada pelo fato de que compreende:

5 (a) uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina que compreende a estrutura CDR_{H1}-CDR_{H2}-CDR_{H3}, em que

(i) CDR_{H1} compreende a seqüência de aminoácidos SEQ ID NO: 15 (**2B8**)

10 (ii) CDR_{H2} compreende uma seqüência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NO:204 (**LR2B8HC**) e SEQ ID NO: 205 (**LRMR2B8HC**) e

(iii) CDR_{H3} compreende uma seqüência de aminoácidos SEQ ID NO: 17 (**2B8**); e

15 (b) uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina compreendendo a estrutura CDR_{L1}-CDR_{L2}-CDR_{L3}, em que

(i) CDR_{L1} compreende a seqüência de aminoácidos SEQ ID NO: 18 (**2B8**)

(ii) CDR_{L2} compreende uma seqüência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NO:19 (**2B8**) e SEQ ID NO: 206 (**LRMR2B8LC**) e

20 (iii) CDR_{L3} compreende uma seqüência de aminoácidos SEQ ID NO: 20 (**2B8**),

25 em que a região variável da cadeia pesada de imunoglobulina e a região variável da cadeia leve de imunoglobulina juntas definem um sítio de ligação único para ligação a HGF humano.

2. Proteína de ligação de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que as CDRs estão interpostas entre regiões de arcabouço de imunoglobulina humana ou humanizada.

30 3. Proteína de ligação de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que a proteína de ligação é um anticorpo ou um fragmento de ligação ao antígeno deste.

4. Proteína de ligação isolada de acordo com a reivindicação 1,

caracterizada pelo fato de que o anticorpo é um anticorpo monoclonal.

5. Ácido nucléico isolado, caracterizado pelo fato de que compreende uma seqüência de nucleotídeos que codifica uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina como definida na reivindicação 1.

5 6. Ácido nucléico isolado, caracterizado pelo fato de que compreende uma seqüência de nucleotídeos que codifica a região variável da cadeia pesada de imunoglobulina como definida na reivindicação 1.

7. Vetor de expressão, caracterizado pelo fato de que contém a seqüência de ácido nucléico como definida na reivindicação 5.

10 8. Célula hospedeira, caracterizada pelo fato de que compreende pelo menos um vetor de expressão que codifica uma região variável da cadeia pesada ou leve de imunoglobulina como definida na reivindicação 1.

9. Método de produzir uma proteína de ligação, caracterizado pelo fato de que compreende:

15 (i) cultivar a célula hospedeira como definida na reivindicação 8 sob condições tais que a célula hospedeira expresse uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina; e

(ii) coletar a região variável da cadeia leve de imunoglobulina.

20 10. Proteína de ligação isolada de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a proteína de ligação se liga ao fator de crescimento de hepatócito humano com um k_d de $4,0 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ ou menor.

11. Proteína de ligação isolada de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a proteína de ligação se liga ao fator de crescimento de hepatócito humano com um K_D de 20 pM ou menor.

25 12. Método de inibir ou reduzir a proliferação de uma célula tumoral, caracterizado pelo fato de que compreende expor a célula a uma quantidade eficaz da proteína de ligação como definida na reivindicação 1 para inibir ou reduzir a proliferação da célula tumoral.

30 13. Método de inibir ou reduzir o crescimento de tumor em um mamífero, caracterizado pelo fato de que compreende expor o mamífero a uma quantidade eficaz da proteína de ligação como definida na reivindicação 1 para inibir ou reduzir a proliferação do tumor.

14. Proteína de ligação isolada que se liga ao fator de cresci-

mento de hepatócito humano (HGF), caracterizada pelo fato de que compreende uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina e uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina selecionada do grupo que consiste em:

- 5 (a) uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina compreendendo a seqüência de aminoácidos da SEQ ID NO: 193 (**região variável da cadeia leve LR2B8LC**), e uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina compreendendo a seqüência de aminoácidos da SEQ ID NO: 183 (**região variável da cadeia pesada LR2B8HC**),
- 10 (b) uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina compreendendo a seqüência de aminoácidos da SEQ ID NO: 193 (**região variável da cadeia leve LR2B8LC**), e uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina compreendendo a seqüência de aminoácidos da SEQ ID NO: 189 (**região variável da cadeia pesada LRMR2B8HC**),
- 15 (c) uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina compreendendo a seqüência de aminoácidos da SEQ ID NO: 199 (**região variável da cadeia leve LRMR2B8LC**), e uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina compreendendo a seqüência de aminoácidos da SEQ ID NO: 183 (**região variável da cadeia pesada LR2B8HC**); e
- 20 (d) uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina compreendendo a seqüência de aminoácidos da SEQ ID NO: 199 (**região variável da cadeia leve LRMR2B8LC**), e uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina compreendendo a seqüência de aminoácidos da SEQ ID NO: 189 (**região variável da cadeia pesada LRMR2B8HC**).
- 25 15. Proteína de ligação de acordo com a reivindicação 14, caracterizada pelo fato de que a região variável da cadeia leve de imunoglobulina compreende a seqüência de aminoácidos da SEQ ID NO 199 (**região variável da cadeia leve LRMR2B8LC**), e a região variável da cadeia pesada de imunoglobulina compreende a seqüência de aminoácidos da SEQ ID NO:
- 30 189 (**região variável da cadeia pesada LRMR2B8HC**).

16. Método de tratar um tumor em um mamífero, caracterizado pelo fato de que compreende administrar uma quantidade eficaz da proteína de ligação como definida na reivindicação 15.

17. Proteína de ligação isolada que se liga ao fator de crescimento de hepatócito humano (HGF), caracterizada pelo fato de que compreende uma sequência da cadeia leve de imunoglobulina e uma sequência da cadeia pesada de imunoglobulina selecionada do grupo que consiste em:

- 5 (a) uma sequência da cadeia leve de imunoglobulina compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 197 (**LR2B8LC + constante Capa (alótipo Km(3) (alelo 1))**), e uma sequência da cadeia pesada de imunoglobulina compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 187 (**LR2B8HC + Constante de IgG1 (alótipo G1m(3)) (alelo 1))**);
- 10 (b) uma sequência da cadeia leve de imunoglobulina compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 197 (**LR2B8LC + constante Capa (alótipo Km(3) (alelo 1))**), e uma sequência da cadeia pesada de imunoglobulina compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 191 (**LRMR2B8HC + Constante de IgG1 (alótipo G1m(3)) (alelo 1))**);
- 15 (c) uma sequência da cadeia leve de imunoglobulina compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 201 (**LRMR2B8LC + constante Capa (alótipo Km(3) (alelo 1))**), e uma sequência da cadeia pesada de imunoglobulina compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 187 (**LR2B8HC + Constante de IgG1 (alótipo G1m(3)) (alelo 1))**); e
- 20 (d) uma sequência da cadeia leve de imunoglobulina compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 201 (**LRMR2B8LC + constante Capa (alótipo Km(3) (alelo 1))**), e uma sequência da cadeia pesada de imunoglobulina compreendendo a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 191 (**LRMR2B8HC + Constante de IgG1 (alótipo G1m(3)) (alelo 1))**).

18. Proteína de ligação de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que a cadeia leve de imunoglobulina compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 201 (**LRMR2B8LC + constante Capa (alótipo Km(3) (alelo 1))**), e a cadeia pesada de imunoglobulina compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 191 (**LRMR2B8HC + Constante de IgG1 (alótipo G1m(3)) (alelo 1))**).

19. Método de tratar um tumor em um mamífero, caracterizado

pelo fato de que compreende administrar uma quantidade eficaz de uma proteína de ligação como definida na reivindicação 18.

20. Vetor de expressão, caracterizado pelo fato de que contem a sequência de ácido nucléico como definida na reivindicação 6.

5 21. Método de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de que compreende ainda:

(iii) ligar covalentemente a região variável da cadeia leve de imunoglobulina a uma região variável da cadeia pesada de imunoglobulina para que as regiões variáveis de cadeia leve e pesada se liguem juntas ao
10 HGF humano.

22. Método de produzir uma proteína de ligação, caracterizado pelo fato de que compreende:

(i) cultivar a célula hospedeira como definida na reivindicação 8 sob condições tais que a célula hospedeira expresse uma
15 região variável da cadeia pesada de imunoglobulina; e
(ii) coletar a região variável da cadeia pesada de imunoglobulina.

23. Método de acordo com a reivindicação 22, caracterizado pelo fato de que compreende:

20 (iii) ligar covalentemente a região variável da cadeia pesada de imunoglobulina a uma região variável da cadeia leve de imunoglobulina para que as regiões variáveis de cadeia pesada e leve se liguem juntas ao HGF humano.

RESUMO

Patente de Invenção: **"PROTEÍNA DE LIGAÇÃO ISOLADA QUE SE LIGA AO FATOR DE CRESCIMENTO DE HEPATÓCITO HUMANO (HGF), ÁCIDO NUCLEÍCO ISOLADO, VETOR DE EXPRESSÃO, CÉLULA HOSPEDEIRA E MÉTODO DE PRODUZIR UMA PROTEÍNA DE LIGAÇÃO".**

A presente invenção refere-se uma família de proteínas de ligação que se ligam e neutralizam a atividade do fator de crescimento de hepatócito (HGF), em particular, HGF humano. As proteínas de ligação podem ser usadas como agentes de diagnóstico ou terapêuticos. Com relação a sua

10 atividade terapêutica, as proteínas de ligação podem ser usadas para tratar certas desordens responsivas a HGF, por exemplo, certos tumores responsivos a HGF.