



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

(21) PI 0715017-2 A2



(22) Data de Depósito: 19/09/2007
(43) Data da Publicação: 28/05/2013
(RPI 2212)

(51) Int.Cl.:
C07K 16/28
A61K 39/395
C12N 15/13
A61P 3/08

(54) Título: COMPOSIÇÕES E MÉTODOS RELATIVOS AOS ANTICORPOS RECEPTORES DE GLUCAGON

(30) Prioridade Unionista: 20/09/2006 US 60/846,202, 30/08/2007 US 60/968,977

(73) Titular(es): AMGEN INC

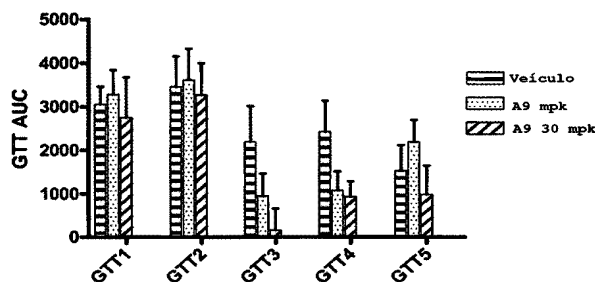
(72) Inventor(es): BOONE, THOMAS C., HU, SHAE-FEN SYLVIA, LINDBERG, RICHARD A., YAN, HAI

(74) Procurador(es): CRUZEIRO NEWMARC PATENTES E MARCAS LTDA

(86) Pedido Internacional: PCT US2007020349 de 19/09/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2008/036341de 27/03/2008

(57) Resumo: COMPOSIÇÕES E MÉTODOS RELATIVOS AOS ANTICORPOS RECEPTORES DE GLUCAGON. A presente revelação fornece as composições e métodos relacionados às proteínas de ligação ao antígeno, em particular os anticorpos que especificamente se ligam ao receptor de glucagon humano. A revelação fornece os ácidos nucleicos que codificam tais proteínas de ligação ao antígeno e anticorpo e os métodos para produzir e utilizar tais anticorpos, incluindo os métodos para tratar e prevenir o diabetes tipo 2 e distúrbios associados, administrando tais anticorpos a um sujeito que necessite de tal tratamento.



**"COMPOSIÇÕES E MÉTODOS RELATIVOS AOS ANTICORPOS
RECEPTORES DE GLUCAGON"**

REFERÊNCIA AOS PEDIDOS ASSOCIADOS

Este pedido reivindica o benefício do Serviço de
5 Pedidos Provisórios dos Estados Unidos Nº 60/846.202, depositado
em 20 de setembro de 2006, e o Serviço de Pedidos Provisórios dos
Estados Unidos Nº 60/968.977, depositado em 30 de agosto de 2007,
cuja descrição completa se baseia e é aqui incorporada por
referência.

10 **CAMPO DA INVENÇÃO**

O campo desta invenção se refere a composições e
métodos relativos aos anticorpos receptores de glucagon.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

O glucagon é um hormônio de 29 aminoácidos
15 processado a partir de sua pro forma nas células alfa pancreáticas
pela expressão celular específica da pró-hormônio convertase 2
(Furuta et al., J. Biol. Chem. 276: 27197-27202 (2001)). Durante o
jejum, a secreção de glucagon aumenta em resposta à queda dos
níveis de glicose. O aumento da secreção de glucagon estimula a
20 produção de glicose promovendo a glicogenólise hepática e a
gliconeogênese. Assim, o glucagon contrabalança os efeitos da
insulina na manutenção dos níveis normais de glicose em animais.

O receptor de glucagon (GCGR) é um membro da
subfamília de secretinas (família B) dos receptores acoplados à
25 proteína G (GCGR). O receptor de glucagon é predominantemente
expresso no fígado, onde regula a produção de glicose hepática, e
nos rins, refletindo seu papel na gliconeogênese. A ativação dos
receptores de glucagon no fígado estimula a atividade da adenil

ciclase e o giro de fosfoinositol que subsequentemente resulta em aumento da expressão de enzimas gliconeogênicas, incluindo a fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCK), a frutose-1,6-bisfosfatase (FBPase-1) e a glicose-6-fosfatase (G-6-Pase). Além
 5 disso, a sinalização do glucagon ativa a glicogênio fosforilase e inibe a glicogênio sintase.

Estudos mostraram que níveis basais mais altos de glucagon e ausência de supressão da secreção de glucagon pós-prandial contribuem para as condições diabéticas em humanos
 10 (Muller et al., N Eng J Med 283: 109-115 (1970)). Visar à produção ou função do glucagon pode ser um método para controlar e reduzir a glicemia. Há uma necessidade continua de fornecer tratamentos efetivos para o diabetes tipo 2. A presente invenção aborda esta necessidade fornecendo novas composições e métodos para tratar o
 15 diabetes tipo 2 e doenças associadas.

RESUMO DA INVENÇÃO

Em um aspecto, a presente invenção provê uma proteína de ligação a antígeno isolada consistindo em: a. uma CDR3 da cadeia leve consistindo em uma sequência selecionada do grupo
 20 consistindo em: i. uma sequência da CDR3 da cadeia leve que difere em não mais que um total de três adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR3 selecionada do grupo consistindo nas sequências da CDR3 da cadeia leve de L1-L23, N^os de ID das SEQ: 72; 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95,
 25 97, 100; ii. L Q X₂₁ N S X₂₂ P L T (N^o de IDA DA SEQ: 208), iii. Q A W D S X₂₃ T V X₂₄ (N^o de ID da SEQ: 209); e b. uma sequência da CDR3 da cadeia pesada consistindo em uma sequência selecionada do grupo consistindo em: i. uma sequência da CDR3 da cadeia pesada que

difere em não mais que um total de quatro adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR3 selecionada de um grupo consistindo nas sequências da CDR3 da cadeia pesada de H1-H23, N^{os} de ID das SEQ: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199; ii. E X₂₅ X₂₆ X₂₇ Y D I L T G Y X₂₈ X₂₉ Y Y G X₃₀ D V (N^o de ID da SEQ: 210) iii. X₃₁ G G G F D Y (N^o de ID da SEQ: 211); ou c. a sequência da CDR3 da cadeia leve de (a) e a sequência da CDR3 da cadeia pesada de (b); onde, X₂₁ é um resíduo de histidina, ou um resíduo de glutamina, X₂₂ é um resíduo de asparagina, um resíduo de aspartato, ou um resíduo de tirosina, X₂₃ é um resíduo de asparagina ou resíduo de serina, X₂₄ é um resíduo de isoleucina ou um resíduo de valina, X₂₅ é um resíduo de lisina, um resíduo de glutamato, ou um resíduo de prolina, X₂₆ é um resíduo de aspartato, um resíduo de treonina, um resíduo de glutamina, ou um resíduo de prolina, X₂₇ é um resíduo de histidina ou um resíduo de tirosina, X₂₈ é um resíduo de asparagina, um resíduo de histidina, um resíduo de aspartato, ou um resíduo de fenilalanina, X₂₉ é um resíduo de tirosina, um resíduo de histidina, ou um resíduo de asparagina, X₃₀ é um resíduo de leucina ou um resíduo de metionina, X₃₁ é um resíduo de leucina ou um resíduo de metionina, onde a dita proteína de ligação a antígeno especificamente se liga ao receptor de glucagon humano.

Em um outro aspecto, a proteína de ligação isolada consiste ainda em uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo consistindo em: a. uma sequência da CDR1 da cadeia leve selecionada do grupo consistindo em: i. uma CDR1 da cadeia leve que difere em não mais que três adições, substituições e/ou

eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR1 de L1-L23, N^os de ID da SEQ: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 e 41; ii. R S X₁ Q S L L D X₂ X₃ D G T Y T L D (N^o de ID da SEQ: 200); iii. R A S Q X₄ I R N D X₅ G (N^o de ID da SEQ: 201); e

5 iv. S G D K L G D K Y X₆ C (N^o de ID da SEQ: 202); onde X₁ é um resíduo de serina ou um resíduo de treonina, X₂ é um resíduo de arginina ou um resíduo de serina, X₃ é um resíduo de aspartato ou um resíduo de alanina, X₄ é um resíduo de glicina ou um resíduo de aspartato, X₅ é um resíduo de leucina ou um resíduo de

10 fenilalanina, X₆ é um resíduo de valina ou um resíduo de alanina,

b. uma sequência de CDR2 da cadeia leve selecionada do grupo consistindo em: i. uma CDR2 da cadeia leve que difere em não mais que duas adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência de CDR2 de L1-L23, N^os de ID da SEQ: 43, 45, 48, 50,

15 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68 e 70; ii. A A S S L X₉ S (N^o de ID da SEQ: 204); e iii. Q X₁₀ X₁₁ K R P S (N^o de ID da SEQ: 205); onde X₉ é um resíduo de glutamina ou um resíduo de glutamato, X₁₀ é um resíduo de serina ou um resíduo de treonina, X₁₁ é um resíduo de treonina, ou um resíduo de serina;

20 c. uma sequência da CDR1 da cadeia pesada selecionada do grupo consistindo em: i. uma CDR1 da cadeia pesada que difere em não mais que duas adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR1 de H1-H23, N^os de ID da SEQ: 102, 104, 106, 108, 111, 113, 115, 117, 118, 120 e 122, ii. X₇ Y X₈ M H (N^o de ID da SEQ: 203)

25 onde X₇ é um resíduo de serina ou um resíduo de treonina, X₈ é um resíduo de glicina ou um resíduo de aspartato; e d. uma CDR2 da cadeia pesada selecionada do grupo consistindo em: i. uma sequência pesada que difere em não mais que três adições,

substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência de CDR2 de H1-H23, N^os de ID da SEQ: 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 e 163; ii. X₁₂ I W X₁₃ D G S X₁₄ K Y Y X₁₅ D S V K G (N^o de ID da SEQ: 206); e iii. X₁₆ I S X₁₇ D G S X₁₈ K Y X₁₉ X₂₀ D S V K G (N^o de ID da SEQ: 207); onde X₁₂ é um resíduo de serina, um resíduo de fenilalanina, um resíduo de valina, ou um resíduo de glutamato, X₁₃ é um resíduo de tirosina ou um resíduo de asparagina, X₁₄ é um resíduo de asparagina ou um resíduo de glutamato, X₁₅ é um resíduo de valina ou um resíduo de alanina, X₁₆ é um resíduo de valina ou um resíduo de fenilalanina, X₁₇ é um resíduo de histidina, um resíduo de aspartato, ou um resíduo de tirosina, X₁₈ é um resíduo de aspartato, um resíduo de asparagina, ou um resíduo de histidina, X₁₉ é um resíduo de tirosina, ou um resíduo de serina, X₂₀ é um resíduo de alanina ou um resíduo de glicina, onde a dita proteína de ligação a antígeno especificamente se liga ao receptor de glucagon humano. Em um outro aspecto, a proteína de ligação isolada consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo consistindo em: a. uma sequência da CDR1 da cadeia leve que difere em não mais que duas adições, substituições e/ou adições de aminoácidos de uma sequência da CDR1 de L1-L23, N^os de ID da SEQ: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 e 41; b. uma sequência de CDR2 da cadeia leve que difere em não mais que uma adição, substituição e/ou eliminação de aminoácido de uma sequência de CDR2 de L1-L23, N^os de ID da SEQ: 43, 45, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68 e 70; c. uma sequência da CDR3 da cadeia leve que difere em não mais que duas adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR3 de L1-

L23, N^os de ID da SEQ: 72, 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97 e 100; d. uma sequência da CDR1 da cadeia pesada que difere em não mais que uma adição, substituição e/ou eliminação de aminoácidos de uma sequência da CDR1 de H1-H23, N^os de ID da SEQ:

5 102, 104, 106, 108, 111, 113, 115, 117, 118, 120 e 122; e. uma sequência de CDR2 da cadeia pesada que difere em não mais que duas adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência de CDR2 de H1-H23, N^os de ID da SEQ: 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157,

10 159, 161 e 163; e f. uma sequência da CDR3 da cadeia pesada que difere em não mais que três adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR3 de H1-H23, N^os de ID da SEQ: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197 e 199, onde a proteína de

15 ligação a antígeno especificamente se liga ao receptor de glucagon humano.

Em um outro aspecto, a proteína de ligação isolada consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo consistindo em: a. uma sequência da CDR1 da cadeia leve que

20 difere em não mais que uma adição, substituição e/ou eliminação de aminoácido de uma sequência da CDR1 de L1-L23, N^os de ID da SEQ: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 e 41; b. uma sequência de CDR2 da cadeia leve de L1-L23, N^os de ID da SEQ: 43, 45, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68 e 70; c.

25 uma sequência da CDR3 da cadeia leve que difere em não mais que uma adição, substituição e/ou eliminação de aminoácido de uma sequência da CDR3 de L1-L23, N^os de ID da SEQ: 72, 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97 e 100; d. uma sequência da CDR1 da

cadeia pesada de H1-H23, N^os de ID da SEQ: 102, 104, 106, 108, 111, 113, 115, 117, 118, 120 e 122; e. uma sequência de CDR2 da cadeia pesada que difere em não mais que uma adição, substituição e/ou eliminação de aminoácido de uma sequência de CDR2 de H1-H23, N^os de ID da SEQ: 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 e 163; e f. uma sequência da CDR3 da cadeia pesada que difere em não mais que duas adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR3 de H1-H23, N^os de ID da SEQ: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197 e 199, onde a proteína de ligação a antígeno especificamente se liga ao receptor de glucagon humano.

Em um outro aspecto, a proteína de ligação isolada consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo consistindo em: a. uma sequência da CDR1 da cadeia leve de L1-L23, N^os de ID da SEQ: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 e 41; b. uma sequência da CDR3 da cadeia leve de L1-L23, N^os de ID da SEQ: 72, 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97 e 100; c. uma sequência de CDR2 da cadeia pesada de H1-H23, N^os de ID da SEQ: 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 e 163; e d. uma sequência da CDR3 da cadeia pesada que difere em não mais que uma adição, substituição e/ou eliminação de aminoácidos de uma sequência da CDR3 de H1-H23, N^os de ID da SEQ: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197 e 199, onde a proteína de ligação a antígeno especificamente se liga ao receptor de glucagon humano.

Em ainda outro aspecto, a proteína de ligação

isolada consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo consistindo em: uma sequência da CDR3 da cadeia pesada de H1-H23, N^{os} de ID da SEQ: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197 e 199, onde a proteína
5 de ligação a antígeno especificamente se liga ao receptor de glucagon humano.

Em um outro aspecto, a proteína de ligação isolada consiste em duas sequências de aminoácidos selecionadas do grupo consistindo em: a. uma sequência da CDR1 da cadeia leve que
10 difere em não mais que três adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR1 de L1-L23, N^{os} de ID da SEQ: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 e 41; b. uma sequência de CDR2 da cadeia leve de CDR2 de L1-L23, N^{os} de ID da SEQ: 43, 45, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62,
15 64, 66, 68 e 70; c. uma sequência da CDR3 da cadeia leve que difere em não mais que três adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR3 de L1-L23, N^{os} de ID da SEQ: 72, 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97 e 100; d. uma sequência da CDR1 da cadeia pesada que difere em não
20 mais que duas adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR1 de H1-H23, N^{os} de ID da SEQ: 102, 104, 106, 108, 111, 113, 115, 117, 118, 120 e 122; e uma sequência de CDR2 da cadeia pesada que difere em não mais que três adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma
25 sequência de CDR2 de H1-H23, N^{os} de ID da SEQ: 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 e 163; e f. uma sequência da CDR3 da cadeia pesada que difere em não mais que quatro adições, substituições e/ou

eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR3 de H1-H23, N^{os} de ID da SEQ: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197 e 199, onde a proteína de ligação a antígeno especificamente se liga ao receptor de glucagon humano.

Em um outro aspecto, a proteína de ligação isolada consiste em três sequências de aminoácidos selecionadas do grupo consistindo em: a. uma sequência da CDR1 da cadeia leve que difere em não mais que três adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR1 de L1-L23, N^{os} de ID da SEQ: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 e 41; b. uma sequência de CDR2 da cadeia leve que difere em não mais que duas adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência de CDR2 de L1-L23, N^{os} de ID da SEQ: 43, 45, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68 e 70; c. uma sequência da CDR3 da cadeia leve que difere em não mais que três adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR3 de L1-L23, N^{os} de ID da SEQ: 72, 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97 e 100; d. uma sequência da CDR1 da cadeia pesada que difere em não mais que duas adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR1 de H1-H23, N^{os} de ID da SEQ: 102, 104, 106, 108, 111, 113, 115, 117, 118, 120 e 122; e. uma sequência de CDR2 da cadeia pesada que difere em não mais que três adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência de CDR2 de H1-H23, N^{os} de ID da SEQ: 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 e 163; e f. uma sequência da CDR3 da cadeia pesada que difere em não mais que

quatro adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR3 de H1-H23, N^ºs de ID da SEQ: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197 e 199, onde a proteína de ligação a antígeno especificamente se liga ao receptor de glucagon humano.

Em um outro aspecto, a proteína de ligação isolada consiste em quatro sequências de aminoácidos selecionadas do grupo consistindo em: a. uma sequência da CDR1 da cadeia leve que difere em não mais que três adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR1 de L1-L23, N^ºs de ID da SEQ: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 e 41; b. uma sequência de CDR2 da cadeia leve que difere em não mais que duas adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência de CDR2 de L1-L23, N^ºs de ID da SEQ: 43, 45, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68 e 70; c. uma sequência da CDR3 da cadeia leve que difere em não mais que três adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR3 de LI-L23, N^ºs de ID da SEQ: 72, 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97 e 100; d. uma sequência da CDR1 da cadeia pesada que difere em não mais que duas adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR1 de H1-H23, N^ºs de ID da SEQ: 102, 104, 106, 108, 111, 113, 115, 117, 118, 120 e 122; e. uma sequência de CDR2 da cadeia pesada que difere em não mais que três adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência de CDR2 de H1-H23, N^ºs de ID da SEQ: 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 e 163; e f. uma sequência da CDR3 da cadeia pesada que difere em não mais que

quatro adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR3 de H1-H23, N^{os} de ID da SEQ: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197 e 199, onde a proteína de ligação a antígeno especificamente se liga ao receptor de glucagon humano. Em um outro aspecto, a proteína de ligação isolada consiste em cinco sequências de aminoácidos selecionadas do grupo consistindo em: a. uma sequência da CDR1 da cadeia leve que difere em não mais que três adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR1 de L1-L23, N^{os} de ID da SEQ: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 e 41; b. uma sequência de CDR2 da cadeia leve que difere em não mais que duas adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência de CDR2 de L1-L23, N^{os} de ID da SEQ: 43, 45, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68 e 70; c. uma sequência da CDR3 da cadeia leve que difere em não mais que três adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR3 de L1-L23, N^{os} de ID da SEQ: 72, 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97 e 100; d. uma sequência da CDR1 da cadeia pesada que difere em não mais que duas adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR1 de H1-H23, N^{os} de ID da SEQ: 102, 104, 106, 108, 111, 113, 115, 117, 118, 120 e 122; e. uma sequência de CDR2 da cadeia pesada que difere em não mais que três adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência de CDR2 de H1-H23, N^{os} de ID da SEQ: 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 e 163; e f. uma sequência da CDR3 da cadeia pesada que difere em não mais que quatro adições, substituições e/ou eliminações de

aminoácidos de uma sequência da CDR3 de H1-H23, N^{os} de ID da SEQ: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197 e 199, onde a proteína de ligação a antígeno especificamente se liga ao receptor de glucagon humano.

5 Em um outro aspecto, a proteína de ligação isolada consiste em: a. uma sequência da CDR1 da cadeia leve que difere em não mais que três adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR1 de L1-L23, N^{os} de ID da SEQ: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34,
10 36, 38 e 41; b. uma sequência de CDR2 da cadeia leve que difere em não mais que duas adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência de CDR2 de L1-L23, N^{os} de ID da SEQ: 43, 45, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68 e 70; c. uma
15 sequência da CDR3 da cadeia leve que difere em não mais que três adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR3 de L1-L23, N^{os} de ID da SEQ: 72, 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97 e 100; d. uma sequência da CDR1 da
cadeia pesada que difere em não mais que duas adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da
20 CDR1 de H1-H23, N^{os} de ID da SEQ: 102, 104, 106, 108, 111, 113, 115, 117, 118, 120 e 122; e. uma sequência de CDR2 da cadeia pesada que difere em não mais que três adições, substituições e/ou
eliminações de aminoácidos de uma sequência de CDR2 de H1-H23, N^{os} de ID da SEQ: 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143,
25 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 e 163; e f. uma sequência da CDR3 da cadeia pesada que difere em não mais que quatro adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR3 de H1-H23, N^{os} de ID da SEQ: 165, 167, 169,

171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197 e 199, onde a proteína de ligação a antígeno especificamente se liga ao receptor de glucagon humano.

Em um outro aspecto, a proteína de ligação a antígeno isolada consiste em também: a. um domínio variável da cadeia leve consistindo em i. uma sequência da CDR1 da cadeia leve selecionada dos N^{os} de ID da SEQ: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 e 41; ii uma sequência de CDR2 da cadeia leve selecionada dos N^{os} de ID da SEQ: 43, 45, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68 e 70; e iii. uma sequência da CDR3 da cadeia leve selecionada dos N^{os} de ID da SEQ: 72, 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97 e 100; b. um domínio variável da cadeia pesada consistindo em: i. uma sequência da CDR1 da cadeia pesada selecionada dos N^{os} de ID da SEQ: 102, 104, 106, 108, 111, 113, 115, 117, 118, 120 e 122; ii. uma sequência de CDR2 da cadeia pesada selecionada dos N^{os} de ID da SEQ: 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 e 163; e iii. uma sequência da CDR3 da cadeia pesada selecionada dos N^{os} de ID da SEQ: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197 e 199; ou c. o domínio variável da cadeia leve de (a) e o domínio variável da cadeia pesada de (b), onde a proteína de ligação a antígeno especificamente se liga ao receptor de glucagon humano.

Em um outro aspecto, a proteína de ligação a antígeno isolada consiste em também: a. uma sequência do domínio variável da cadeia leve selecionada do grupo consistindo em: i. aminoácidos com uma sequência pelo menos 80% idêntica a uma sequência do domínio variável da cadeia leve selecionada de Ll-

L23, N^os de ID da SEQ: 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255 e 257; ii. uma sequência de aminoácidos codificados por uma sequência de polinucleotídeos que é pelo menos 80% idêntica a uma
5 sequência de polinucleotídeos que codificam a sequência do domínio variável da cadeia leve de L1-L23, N^os de ID da SEQ: 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254 e 256; iii. uma sequência de aminoácidos codificados por uma sequência de polinucleotídeos que
10 hibridiza sob condições moderadamente rígidas para o complemento de um polinucleotídeo consistindo em uma sequência do domínio variável da cadeia leve de L1-L23 dos N^os de ID da SEQ: 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254 e 256; b. uma sequência do
15 domínio variável da cadeia pesada selecionada do grupo consistindo em: i. uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 80% idêntica a uma sequência do domínio variável da cadeia pesada de H1-H23 dos N^os de ID da SEQ: 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301 e
20 303; ii. uma sequência de aminoácidos codificados por uma sequência de polinucleotídeos que é pelo menos 80% idêntica a uma sequência de polinucleotídeos que codificam a sequência do domínio variável da cadeia pesada de H1-H23, N^os de ID da SEQ: 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286,
25 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300 e 302; iii. uma sequência de aminoácidos codificados por uma sequência de polinucleotídeos que hibridizam sob condições moderadamente rígidas para o complemento de um polinucleotídeo consistindo em uma sequência do domínio

variável da cadeia pesada de H1-H23, N°s de ID da SEQ: 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300 e 302; ou c. o domínio variável da cadeia leve de (a) e o domínio variável da cadeia pesada de (b), onde a dita proteína de ligação ao antígeno especificamente se liga ao receptor de glucagon humano.

Em uma configuração, a proteína de ligação a antígeno isolada consiste também em: a. uma sequência do domínio variável da cadeia leve selecionada do grupo consistindo em: L1-L23 dos N°s de ID da SEQ: 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255 e 257; b. uma sequência do domínio variável da cadeia pesada selecionada do grupo consistindo em: H1-H23 dos N°s de ID da SEQ: 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301 e 303; ou c. o domínio variável da cadeia leve de (a) e o domínio variável da cadeia pesada de (b), onde a proteína de ligação a antígeno especificamente se liga ao glucagon humano.

Em uma outra configuração a proteína de ligação a antígeno consiste em uma combinação do domínio variável da cadeia leve e de um domínio variável da cadeia pesada selecionado do grupo de combinações consistindo em: L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22 e L23H23 onde a proteína de ligação a antígeno especificamente se liga ao receptor de glucagon humano. Em uma configuração, a proteína de ligação a antígeno isolada consiste ainda em: a sequência constante da cadeia leve do N° de ID da SEQ: 305; a

sequência constante da cadeia leve do N° de ID da SEQ: 307; a
sequência constante da cadeia pesada do N° de ID da SEQ: 309; a
sequência constante da cadeia leve do N° de ID da SEQ: 305 e a
sequência constante da cadeia pesada do N° de ID da SEQ: 309; ou a
5 sequência constante da cadeia leve do N° de ID da SEQ: 307 e a
sequência constante da cadeia pesada do N° de ID da SEQ: 309.

Em um aspecto, a proteína de ligação a antígeno
isolada é selecionada do grupo consistindo em um anticorpo humano,
um anticorpo humanizado, um anticorpo quimérico, um anticorpo
10 monoclonal, um anticorpo policlonal, um anticorpo recombinante, um
fragmento de anticorpo de ligação a antígeno, um anticorpo de
cadeia única, um diacorpo, um triacorpo, um tetracorpo, um
fragmento Fab, um fragmento F(fa')_x, um anticorpo de domínio, um
anticorpo IgD, um anticorpo IgE e o anticorpo IgM, o anticorpo
15 IgG1, o anticorpo IgG2, o anticorpo IgG3, o anticorpo IgG4, com o
anticorpo IgG4 tendo pelo menos uma mutação no ponto de junção
para aliviar a tendência a formar ligações dissulfídicas entre as
cadeias H. Em uma configuração, a proteína de ligação a antígeno é
um anticorpo humano.

20 Em um outro aspecto, a proteína de ligação a
antígeno isolada, quando ligada ao receptor de glucagon humano: a.
se liga ao receptor de glucagon humano com substancialmente o
mesmo K_d que o anticorpo de referência; b. inibe a estimulação do
glucagon do receptor de glucagon humano com substancialmente a
25 mesma CI₅₀ que o dito anticorpo de referência, ou c. compete pela
ligação com o dito anticorpo de referência, onde o dito anticorpo
de referência consiste em uma combinação das sequências do domínio
variável da cadeia leve e da cadeia pesada selecionadas do grupo

consistindo em L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L11H11, L12H12, L13H13, L15H15, L21H21, e L22H22.

Em um outro aspecto, é provido um anticorpo humano isolado que, quando ligado ao receptor de glucagon humano:

- 5 a. se liga ao receptor de glucagon humano com substancialmente o mesmo K_d que o anticorpo de referência; b. inibe a estimulação de glucagon do receptor de glucagon humano com substancialmente a mesma CI_{50} do dito anticorpo de referência, ou c. compete pela ligação com o dito anticorpo de referência, onde o dito anticorpo
- 10 de referência consiste em uma combinação de sequências do domínio variável da cadeia leve e da cadeia pesada selecionadas do grupo consistindo na A-1, A-2, A-3, A-4, A-5, A-6, A-7, A-8, A-9, A-11, A-12, A-13, A-15, A-21 e A-22.

Em um outro aspecto, é provido um anticorpo

- 15 humano isolado que, quando ligado ao receptor de glucagon humano:
- a. especificamente se liga à região Ser80 a Ser119 do receptor de glucagon humano; b. reduz a sinalização do glucagon com um valor de CI_{50} de 90 nM ou menos; c. reduz a glicemia em um modelo animal; d. tanto a como b, ou e. tanto a, como b e c. Em uma
- 20 configuração, o modelo animal é o modelo animal ob/ob.

Em um outro aspecto, é provida uma composição farmacêutica consistindo nas proteínas de ligação a antígeno em admistura com um transportador farmaceuticamente aceitável. Em uma outra configuração, a composição farmacêutica consiste em um

25 anticorpo humano isolado em admistura com um transportador farmaceuticamente aceitável.

Em um outro aspecto, é provida uma molécula de ácido nucléico isolada consistindo na sequência de

polinucleotídeos que codifica o domínio variável da cadeia leve, o domínio variável da cadeia pesada, ou ambos, de uma proteína de ligação a antígeno da invenção. Em uma configuração, o polinucleotídeo consiste em uma sequência de polinucleotídeos do domínio variável da cadeia leve L1-L23, N^{os} de ID da SEQ: 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254 e 256, uma sequência de polinucleotídeos do domínio variável da cadeia pesada H1-H23, N^{os} de ID da SEQ: 258, 260, 262, 264, 266, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300, 302, ou ambas.

Também providos são os vetores consistindo nos polinucleotídeos da presente invenção. Em uma configuração o vetor é um vetor de expressão. Também é provida uma célula hospedeira consistindo no vetor. Também é provido um hibridoma capaz de produzir a proteína de ligação a antígeno da invenção. Adicionalmente é provido um método para produzir a proteína de ligação a antígeno da presente invenção que compreende a cultura da célula hospedeira sob condições que permitem que a célula expresse a proteína de ligação a antígeno da invenção.

Também é provido um método para reduzir a glicemia em um sujeito com necessidade disto, que consiste na administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de composições farmacêuticas ao sujeito. Também é provido um método para melhorar a tolerância à glicose em um sujeito com necessidade disto, que consiste na administração de dosagem terapeuticamente eficaz de composições farmacêuticas ao sujeito. Também é provido um método para prevenir ou tratar o diabetes tipo 2 ou distúrbios

associados em um sujeito com necessidade disto, pela administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de composições farmacêuticas ao sujeito. Em uma configuração, o sujeito é um ser humano. Em uma outra configuração, o distúrbio associado é selecionado entre hiperglicemia, glicemia de jejum comprometida, tolerância à glicose diminuída, dislipidemia e síndrome metabólica. Também é provido o uso das composições farmacêuticas da invenção na preparação de um medicamento útil para reduzir a glicemia, prevenir e tratar o diabetes tipo 2 e distúrbios associados, incluindo hiperglicemia, glicose de jejum comprometida, tolerância à glicose diminuída, dislipidemia e síndrome metabólica.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

A Figura 1 mostra os níveis glicêmicos de camundongos ob/ob machos de 14 semanas após uma injeção única de anticorpo A-3 ou anticorpo A-4 comparados com solução tampão, a uma dose de 1 ou 3 mg/kg (n = 10 animais/grupo). A glicemia foi medida no momento 0 e 24, 48, 96, 120, 144, 192 e 240 horas após a injeção.

A Figura 2 mostra os níveis glicêmicos de camundongos ob/ob machos de 14 semanas após uma injeção única de anticorpo A-3, ou anticorpo A-9 comparados com solução tampão a uma dose de 1 ou 3 mg/kg (n = 10 animais/grupo). A glicemia foi medida no momento 0 e 24, 72, 120, 192 e 240 horas após a injeção.

A Figura 3 mostra os resultados de um teste de tolerância à glicose oral (GTT) mostrando os níveis de glicose sob a curva (AUC) antes (GTT1 e GTT2) e após (GTT3, 4 e 5) uma injeção subcutânea única de veículo ou anticorpo 9 (A9).

A Figura 4 mostra anticorpos não-marcados capazes de competir pela ligação com o anticorpo A-3 marcado (anticorpos superponíveis).

5 A Figura 5 mostra os anticorpos não-marcados capazes de competir parcialmente pela ligação com anticorpo A-3 marcado (anticorpos parcialmente superponíveis).

A Figura 6 mostra anticorpos não-marcados capazes de competir pela ligação com o anticorpo A-3 marcado (anticorpos não-superponíveis).

10 A Figura 7 mostra os resultados dos estudos da ligação de quatro anticorpos anti-GCGR a receptores quiméricos construídos a partir de receptores GCGR e GLP-1 humanos conforme indicado.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

15 A presente invenção refere-se a proteínas de ligação a antígeno tal como os anticorpos que especificamente se ligam ao receptor de glucagon humano (GCGR). Estes incluem proteínas de ligação a antígeno que inibem ou bloqueiam a ligação do glucagon ao GCGR humano e reduzem a sinalização do glucagon
20 através do receptor. Em uma configuração, são providos anticorpos humanos, incluindo anticorpos antagonistas capazes de reduzir a glicemia em modelos animais. As proteínas de ligação a antígeno são úteis para tratar o diabetes e doenças associadas.

A presente invenção provê ainda composições, kits
25 e métodos relacionados às proteínas de ligação a antígeno que especificamente se ligam ao receptor de glucagon humano. Também são providas moléculas de ácido nucléico e derivados e fragmentos do mesmo, consistindo em uma sequência de polinucleotídeos que

codificam todo ou parte de um polipeptídio que se liga ao receptor de glucagon, tal como um ácido nucléico que codifica todo ou parte de um anticorpo anti-receptor de glucagon, um fragmento de anticorpo ou derivado de anticorpo. A presente invenção provê
5 vetores e plasmídeos que consistem em tais ácidos nucléicos e células ou linhagens celulares que consistem em tais ácidos nucléicos e/ou vetores e plasmídeos. Os métodos providos incluem, por exemplo, métodos para preparar, identificar ou isolar proteínas de ligação a antígenos que se ligam ao GCGR humano, tal
10 como os anticorpos anti-GCGR, métodos para determinar se uma proteína de ligação a antígeno se liga ao GCGR, métodos para preparar composições, tal como as composições farmacêuticas, consistindo em uma proteína de ligação a anticorpos que se liga ao GCGR humano e métodos para administrar uma proteína de ligação a
15 antígeno que se liga ao GCGR a um sujeito, por exemplo, métodos para tratar uma condição mediada pelo GCGR e para modular uma atividade biológica associada à sinalização do glucagon in vivo ou in vitro.

DEFINIÇÕES

20 As sequências de polinucleotídeos e polipeptídios são indicadas usando abreviações padrões de uma ou três letras. A menos que indicado de outra forma, as sequências de polipeptídios têm terminações amino à esquerda e suas terminações carboxi à direita, e as sequências de ácido nucléico de filamento único e o
25 filamento superior das sequências de ácido nucléico de filamento duplo têm suas terminações 5' à esquerda e suas terminações 3' à direita. Uma seção particular de um polipeptídio pode ser designada pelo número de resíduos de aminoácidos, tal como os

aminoácidos 80 a 119, ou pelo resíduo real naquele sítio, tal como Ser80 a Ser119. Uma sequência particular de polipeptídios ou polinucleotídeos pode também ser descrita explicando-se como ela difere de uma sequência de referência. As sequências de polinucleotídeos e polipeptídios de domínios variáveis particulares da cadeia leve ou da cadeia pesada são designadas como L1 ("domínio variável da cadeia leve 1"), H1 ("domínio variável da cadeia pesada 1"). As proteínas de ligação a antígeno ou anticorpos que consistem em uma cadeia leve e uma cadeia pesada são indicadas combinando-se o nome dos domínios variáveis da cadeia leve e da cadeia pesada. Por exemplo, "L4H7," indica um anticorpo que consiste no domínio variável da cadeia leve L4 e o domínio variável da cadeia pesada H7.

A menos que definido de outra forma aqui, os termos científicos e técnicos usados em conexão com a presente invenção terão os significados comumente compreendidos por pessoas com habilidades comuns nessa técnica. Além disso, a menos que exigido de outra forma pelo contexto, os termos no singular incluirão o plural e os termos no plural incluirão o singular. Em geral, as nomenclaturas utilizadas em conexão com as técnicas de cultura celular e de tecido, biologia molecular, imunologia, microbiologia, genética e química protéica e de ácido nucléico e hibridização descritas aqui são aquelas bem conhecidas e comumente utilizadas na área. Os métodos e técnicas da presente invenção são geralmente realizadas de acordo com os métodos convencionais bem conhecidos na área e conforme descrito nas várias referências gerais e mais específicas que são citadas e discutidas em toda a presente especificação a menos que indicado de outra forma. Vide,

por exemplo, Sambrook et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989) e Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates (1992) e Harlow and Lane Antibodies: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990), que estão incorporados aqui por referência. As reações enzimáticas e as técnicas de purificação são realizadas de acordo com as especificações do fabricante, conforme comumente realizadas nessa técnica ou conforme descritas aqui. A terminologia e os procedimentos laboratoriais e técnicas da química analítica, química orgânica sintética, e química medicinal e farmacêutica usados e descritos aqui são aqueles bem conhecidos e comumente utilizados nessa técnica. As técnicas padrão podem ser utilizadas para sínteses químicas, análises químicas, preparação farmacêutica, formulação e entrega e tratamento dos pacientes.

Os seguintes termos, a menos que indicado de outra forma, deverão ser compreendidos como tendo os seguintes significados: o termo "molécula isolada" (onde a molécula é, por exemplo, um polipeptídeo, um polinucleotídeo ou um anticorpo) é uma molécula que em virtude de sua origem ou fonte de derivação (1) não está associada a componentes naturalmente associados que a acompanham em seu estado nativo, (2) é substancialmente isenta de outras moléculas da mesma espécie (3) é expressa por uma célula de uma espécie diferente, ou (4) não ocorre na natureza. Assim, uma molécula que é quimicamente sintetizada, ou expressa em um sistema celular diferente da célula do qual ela se origina naturalmente, estará "isolada" de seus componentes naturalmente associados. Uma

molécula pode também ser tornada substancialmente isenta dos componentes naturalmente associados através do isolamento, usando técnicas de purificação bem conhecidas nessa área. A pureza ou homogeneidade da molécula pode ser analisada por uma série de
5 meios bem conhecidos na técnica. Por exemplo, a pureza da amostra de polipeptídio pode ser analisada usando eletroforese de gel de poliacrilamida e coloração do gel para visualizar o polipeptídio usando técnicas bem conhecidas nessa área. Para certos propósitos, pode ser fornecida uma resolução mais alta usando HPLC ou outros
10 meios de purificação bem conhecidos nessa técnica.

Os termos "inibidor de glucagon" e "antagonista de glucagon" são utilizados intercambiavelmente. Cada um deles é uma molécula que detectavelmente inibe a sinalização do glucagon. A inibição causada por um inibidor não precisa ser completa desde
15 que seja detectável usando uma análise. Por exemplo, a análise em células descrita no Exemplo 4 abaixo, demonstra uma análise útil para determinar a inibição da sinalização do glucagon.

Cada um dos termos "peptídeo", "polipeptídio" e "proteína" se refere a uma molécula que consiste em dois ou mais
20 resíduos de aminoácido ligados uns aos outros por ligações de peptídeos. Esses termos englobam, por exemplo, proteínas nativas e artificiais, fragmentos de proteína e análogos de polipeptídios (tais como as muteínas, variantes e proteínas de fusão) de uma sequência protéica, assim como proteínas pós-translacionalmente ou
25 então co-valentemente ou não-covalentemente modificadas. Um peptídeo, polipeptídio ou proteína pode ser monomérico ou polimérico.

O termo "fragmento de polipeptídio" usado aqui se

refere a um polipeptídio com um terminal amino e/ou uma eliminação do terminal carboxi comparado com uma proteína no comprimento total correspondente. Os fragmentos podem ter, por exemplo, pelo menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 50, 70, 80, 90, 100, 150 ou 200 aminoácidos de comprimento. Os fragmentos podem também ter, por exemplo, no máximo 1.000, 750, 500, 250, 200, 175, 150, 125, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 15, 14, 13, 12, 11, ou 10 aminoácidos de comprimento. Um fragmento pode ainda consistir, em uma ou ambas as suas extremidades, em um ou mais aminoácidos adicionais, por exemplo, uma sequência de aminoácidos de uma proteína diferente que ocorra naturalmente (por exemplo, um domínio Fc ou domínio do zíper de leucina) ou uma sequência de aminoácidos artificial (por exemplo, a sequência de um ligador (*linker*) artificial).

Os polipeptídios da invenção incluem polipeptídios que foram modificados de alguma forma e por algum motivo, por exemplo, para: (1) reduzir a susceptibilidade à proteólise, (2) reduzir a susceptibilidade à oxidação, (3) alterar a afinidade de ligação para formar complexos protéicos, (4) alterar as afinidades de ligação e (4) conferir ou modificar outras propriedades físico-químicas ou funcionais. Os análogos incluem muteínas de um polipeptídio. Por exemplo, substituições simples ou múltiplas de aminoácidos (por exemplo, substituições conservadoras dos aminoácidos) podem ser feitas na sequência que ocorre naturalmente (por exemplo, na porção do polipeptídio fora do(s) domínio(s) que forma(s) os contatos intermoleculares). Uma "substituição conservadora de aminoácidos" é aquela que não altera substancialmente as características estruturais da sequência

original (por exemplo, a substituição de um aminoácido não deve
tender a quebrar a espiral que ocorre na sequência original ou
romper outros tipos de estrutura secundária que caracterizam a
sequência original ou que sejam necessários para sua
5 funcionalidade). Exemplos de estruturas secundárias e terciárias
de polipeptídios reconhecidas na técnica são descritos em
Proteins, Structures and Molecular Principles (Creighton, Ed., W.
H. Freeman and Company, New York (1984)); Introduction to Protein
Structure (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New
10 York, N.Y. (1991)); e em Thornton et al. Nature 354:105 (1991),
cada uma delas incorporada aqui por referência.

A presente invenção também provê análogos não-
peptídeos das proteínas de ligação a antígeno GCGR. Os análogos
não-peptídeos são comumente utilizados para fornecer medicamentos
15 com propriedades análogas àsquelas do peptídeo modelo. Esses tipos
de composto não-peptídeo são denominados "miméticos de peptídeo"
ou "peptidomiméticos". Fauchere, J. Adv. Drug Res. 15:29 (1986);
Veber and Freidinger TINS p.392 (1985); e Evans et al. J. Med.
Chem. 30:1229 (1987), que são incorporados aqui por referência. Os
20 miméticos de peptídeo que são estruturalmente similares aos
peptídeos terapeuticamente úteis podem ser usados para produzir um
efeito terapêutico ou profilático equivalente. Em geral, os
peptidomiméticos são estruturalmente similares a um polipeptídio
paradigma (isto é, um polipeptídio que tem uma propriedade
25 bioquímica ou atividade farmacológica desejada) tal como um
anticorpo humano, mas que têm uma ou mais ligações peptídicas
opcionalmente substituídas por uma ligação selecionada do grupo
consistindo em: --CH₂NH--, --CH₂S--, --CH₂-- CH₂--, --CH=CH-(cis e

trans), --COCH₂--, --CH(OH)CH₂-- e --CH₂SO--, por métodos bem conhecidos na técnica. A substituição sistemática de um ou mais aminoácidos de uma sequência consenso por um D-aminoácido do mesmo tipo (por exemplo, D-lisina em lugar de L-lisina) pode também ser usada para gerar peptídeos mais estáveis. Além disso, peptídeos compeltidos que consistem em uma sequência consenso ou uma variação substancialmente idêntica da sequência consenso podem ser gerados por métodos conhecidos na técnica (Rizo and Gierasch Ann. Rev. Biochem. 61:387 (1992), incorporado aqui por referência), por exemplo, adicionando resíduos de cisteína internos capazes de formar pontes dissulfídicas intramoleculares que efetuam a ciclização do peptídeo.

Uma "variante" de um polipeptídeo (por exemplo, um anticorpo) consiste em uma sequência de aminoácidos onde um ou mais resíduos de aminoácido é inserido, eliminado e/ou substituído na sequência de aminoácidos em relação a uma outra sequência de polipeptídios. Variantes da invenção incluem as proteínas de fusão.

Um "derivado" de um polipeptídeo é um polipeptídeo (por exemplo, um anticorpo) que foi quimicamente modificado, por exemplo, através de conjugação com outra metade química tal como, por exemplo, polietilenoglicol, albumina (por exemplo, albumina de soro humano), fosforilação e glicosilação. A menos que indicado de outra forma, o termo "anticorpo" inclui, além dos anticorpos que consistem em duas cadeias pesadas de comprimento total e duas cadeias leves de comprimento total, derivados, variantes, fragmentos e muteínas do mesmo, exemplos dos quais são descritos abaixo.

Uma "proteína de ligação a antígeno" é uma proteína que consiste em uma parte que se liga a um antígeno e, opcionalmente, uma parte de "esqueleto" ou estrutura que permite que a parte de ligação ao antígeno adote uma conformação que promove a ligação dessa proteína ao antígeno. Exemplos de proteínas de ligação a antígeno incluem os anticorpos, fragmentos de anticorpo (por exemplo, uma porção de ligação ao antígeno de um anticorpo), derivados de anticorpo e análogos de anticorpo. A proteína de ligação a antígeno consiste em, por exemplo, um esqueleto de proteína alternativa ou esqueleto artificial com CDRs enxertadas ou derivadas da CDR. Esses esqueletos incluem, sem limitação, esqueletos derivados de anticorpo que consistem em mutações introduzidas, por exemplo, para estabilizar as estruturas tridimensionais da proteína de ligação a antígeno, assim como esqueletos totalmente sintéticos que consistem em, por exemplo, um polímero biocompatível. Vide, por exemplo, Komdorfer et al., 2003, *Proteins: Structure, Function e Bioinformatics*, Volume 53, Issue 1:121-129; Roque et al., 2004, *Biotechnol. Prog.* 20:639-654. Além disso, podem ser utilizadas imitações dos anticorpos peptídeos ("PAMs"), assim como esqueletos baseados em imitações de anticorpo utilizando componentes de fibronectina como esqueleto.

Uma proteína de ligação a antígeno pode ter, por exemplo, a estrutura de uma imunoglobulina que ocorre naturalmente. Uma "imunoglobulina" é uma molécula tetramérica. Em uma imunoglobulina que ocorre naturalmente, cada tetrâmero é composto de dois pares idênticos de cadeias polipeptídicas, cada par tendo uma cadeia "leve" (aproximadamente 25 kDa) e uma cadeia "pesada" (aproximadamente 50-70 kDa). A porção amino-terminal de

cada cadeia inclui uma região variável de aproximadamente 100 a 110 ou mais aminoácidos responsáveis primariamente pelo reconhecimento do antígeno. A porção carboxi-terminal de cada cadeia define uma região constante responsável primariamente pela
5 função efetora. As cadeias leves humanas são classificadas como cadeias leves kappa e lambda. As cadeias pesadas são classificadas como mu, delta, gama, alfa, ou épsilon e definem o isótipo do anticorpo como IgM, IgD, IgG, IgA e IgE, respectivamente. Dentro das cadeias leves e pesadas, as regiões variáveis e constantes são
10 ligadas por uma região "J" de aproximadamente 12 ou mais aminoácidos, com a cadeia pesada incluindo também uma região "D" de aproximadamente mais 10 aminoácidos. Vide, em geral, Fundamental Immunology Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989)) (incorporado por referência em sua totalidade para
15 todas as finalidades). As regiões variáveis de cada par de cadeia leve/pesada formam o sítio de ligação do anticorpo e, portanto, uma imunoglobulina intacta tem dois sítios de ligação. As cadeias da imunoglobulina que ocorre naturalmente exibem a mesma estrutura geral de regiões estruturais (FR) relativamente conservadas
20 ligadas por três regiões hipervariáveis, também chamadas de regiões determinantes da complementaridade ou CDRs. Do terminal N ao terminal C, tanto as cadeias leves como as pesadas consistem nos domínios FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 e FR4. A atribuição de aminoácidos a cada domínio segue as definições de Kabat et al.
25 em Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., US Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, NIH Publication no. 91-3242, 1991.

Um "anticorpo" refere-se a uma imunoglobulina

intacta ou a uma porção de ligação a antígeno da mesma que compete com o anticorpo intacto pela ligação específica, a menos que especificado de outra forma. As porções de ligação ao antígeno podem ser produzidas por técnicas de DNA recombinante ou por
 5 clivagem enzimática ou química de anticorpos intactos. As porções de ligação ao antígeno incluem, entre outros, fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, fragmentos de anticorpos de domínio (dAbs), incluindo as regiões determinantes de complementaridade (CDRs), anticorpos de cadeia simples (scFv), anticorpos quiméricos,
 10 diacorpos, triacorpos, tetracorpos e polipeptídios que contenham pelo menos uma porção de imunoglobulina que seja suficiente para conferir ligação específica a antígeno ao polipeptídio.

Um fragmento Fab é um fragmento monovalente com os domínios V_L, V_H, C_L e C_{H1}; um fragmento F(ab')₂ é um fragmento
 15 bivalente com dois fragmentos Fab ligados por uma ponte dissulfídica na região de junção; um fragmento Fd tem os domínios V_H e C_{H1}; um fragmento Fv tem os domínios V_L e V_H de um ramo único de um anticorpo; e um fragmento dAb tem um domínio V_H, um domínio V_L, ou um fragmento de ligação a antígeno de um domínio V_H ou V_L
 20 (Patente Norte-americana Nº. 6.846.634, 6.696.245, US App. Pub. Nº 05/0202512, 04/0202995, 04/0038291, 04/0009507, 03/0039958, Ward et al., Nature 341:544-546, 1989).

Um anticorpo de cadeia simples (scFv) é um anticorpo no qual a região V_L e a região V_H são ligadas através de
 25 um ligador (por exemplo, uma sequência sintética de resíduos de aminoácidos) formando uma cadeia de proteína contínua onde o ligador é suficientemente longo para permitir que a cadeia de proteína se dobre sobre si mesma e forme um sítio de ligação a

antígeno monovalente (vide exemplo, Bird et al., 1988, Science 242:423-26 e Huston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-83). Diacorpos são anticorpos bivalentes que consistem em duas cadeias polipeptídicas, onde cada cadeia de polipeptídio
5 consiste nos domínios V_H e V_L ligados por um ligador que é muito curto para permitir o pareamento entre dois domínios da mesma cadeia, permitindo assim que cada domínio faça par com um domínio complementar ou uma outra cadeia de polipeptídio (vide, por exemplo, Holliger et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA
10 90:6444-48 e Poljak et al., 1994, Structure 2:1121-23). Se as duas cadeias polipeptídicas de um diacorpo são idênticas, então o diacorpo resultante de seu pareamento terá dois sítios idênticos de ligação a antígeno. As cadeias polipeptídicas com diferentes seqüências podem ser usadas para produzir um diacorpo com dois
15 sítios diferentes de ligação a antígeno. Similarmente, os tricorpos e tetracorpos são anticorpos que consistem em três ou quatro cadeias polipeptídicas, respectivamente, e que formam três e quatro sítios de ligação a antígeno, respectivamente, que podem ser os mesmos ou diferentes.

20 As regiões determinantes de complementaridade (CDRs) e as regiões estruturais (FR) de um determinado anticorpo podem ser identificadas usando o sistema descrito por Kabat et al. in Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., US Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, NIH Publication no.
25 91-3242, 1991. Um ou mais CDRs podem ser incorporados covalentemente ou não-covalentemente a uma molécula para torná-la uma proteína de ligação a antígeno. Uma proteína de ligação a antígeno pode incorporar CDR(s) como parte de uma cadeia

polipeptídica maior, pode ligar covalentemente a(s) CDR(s) a uma outra cadeia polipeptídica, ou pode incorporar a(s) CDR(s) não-covalentemente. As CDRs permitem que a proteína de ligação a antígeno se ligue especificamente a um antígeno particular de interesse.

Uma proteína de ligação a antígeno pode ter um ou mais sítios de ligação. Se houver mais de um sítio de ligação, os sítios de ligação podem ser idênticos a um outro ou podem ser diferentes. Por exemplo, uma imunoglobulina humana que ocorre naturalmente normalmente tem dois sítios de ligação idênticos, enquanto que um anticorpo "bi-específico" ou "bi-funcional" tem dois sítios de ligação diferentes.

O termo "anticorpo humano" inclui todos os anticorpos que têm uma ou mais regiões variáveis e constantes derivadas das seqüências de imunoglobulina humana. Em uma configuração, todos esses domínios variáveis e constantes são derivados das seqüências de imunoglobulina humana (um anticorpo totalmente humano). Esses anticorpos podem ser preparados de vários modos, cujos exemplos são descritos abaixo, incluindo através de imunização com um antígeno de interesse de um camundongo, que seja geneticamente modificado para expressar anticorpos derivados de genes codificadores de cadeia pesada e/ou leve.

Um anticorpo humanizado tem uma seqüência que difere da seqüência de um anticorpo derivado de uma espécie não-humana por uma ou mais substituições, eliminações e/ou adições de aminoácidos, de modo que o anticorpo humanizado é menos provável de induzir uma resposta imunológica e/ou induz uma resposta

imunológica menos grave, comparado ao anticorpo de espécies não-humanas, quando administrado a um indivíduo. Em uma configuração, certos aminoácidos dos domínios estruturais e constantes das cadeias pesadas e/ou leves do anticorpo das espécies não-humanas são mutados para produzir o anticorpo humanizado. Em uma outra configuração, o(s) domínio(s) constante(s) de um anticorpo humano são fundidos ao(s) domínio(s) variável(eis) de uma espécie não-humana. Em uma outra configuração, um ou mais resíduos de aminoácido em uma ou mais sequências de CDR de um anticorpo não-

10 humano são alterados para reduzir a provável imunogenicidade do anticorpo não-humano quando administrado a um ser humano, onde os resíduos de aminoácido alterados não são críticos para a ligação imuno-específica do anticorpo a seu antígeno, e as alterações feitas na sequência de aminoácidos não são alterações

15 conservadoras e assim a ligação do anticorpo humanizado ao antígeno não é significativamente pior do que a ligação do anticorpo não-humano ao antígeno. Exemplos de como preparar anticorpos humanizados podem ser encontrados nas Patentes Norte-americanas N^{os} 6.054,297, 5.886.152 e 5.877.293.

20 O termo "anticorpo quimérico" refere-se a um anticorpo que contém uma ou mais regiões de um anticorpo e uma ou mais regiões de um ou mais outros anticorpos. Em uma configuração, uma ou mais das CDRs são derivadas de um anticorpo anti-GCGR humano. Em uma outra configuração, todas as CDRs são derivadas de

25 um anticorpo anti-GCGR humano. Em uma outra configuração, as CDRs de mais de um anticorpo anti-GCGR humano são mescladas e combinadas em um anticorpo quimérico. Por exemplo, um anticorpo quimérico pode consistir em uma CDR1 da cadeia leve de um primeiro

anticorpo anti-GCGR humano, uma CDR2 e uma CDR3 da cadeia leve de um segundo anticorpo anti-GCGR humano e as CDRs da cadeia pesada de um terceiro anticorpo anti-GCGR. Adicionalmente, as regiões estruturais podem ser derivadas de um dos mesmos anticorpos anti-GCGR, de um ou mais anticorpos diferentes, tal como um anticorpo humano, ou de um anticorpo humanizado. Em um exemplo de anticorpo quimérico, uma porção da cadeia pesada e/ou da cadeia leve é idêntica, homóloga ou derivada de um anticorpo de uma espécie particular ou pertencente a uma classe ou subclasse de anticorpo particular, enquanto os restantes da(s) cadeia(s) são idênticos, homólogos ou derivados de um anticorpo ou anticorpos de uma outra espécie ou pertencentes a uma outra classe ou subclasse de anticorpo. Também incluídos estão os fragmentos de anticorpos que exibem a atividade biológica desejada (ou seja, a habilidade de ligar-se especificamente ao receptor de glucagon humano).

Um "anticorpo neutralizante" ou "anticorpo inibidor" se refere a um anticorpo que inibe a ligação do glucagon ao receptor de glucagon humano, e/ou inibe ou reduz a sinalização do glucagon, determinada, por exemplo, pelo ensaio em células descrito no Exemplo 4 abaixo. A inibição não precisa ser completa e pode ser, em uma configuração, uma redução da ligação ou da sinalização de pelo menos 20%. Em configurações adicionais, a redução na ligação ou na sinalização é de pelo menos 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% e 99.9%.

Fragmentos ou análogos de anticorpos podem ser prontamente preparados por pessoas com habilidades comuns na técnica. Os terminais amino e carboxi preferidos dos fragmentos ou análogos ocorrem perto dos limites dos domínios funcionais. Os

domínios estruturais e funcionais podem ser identificados por comparação dos dados dos nucleotídeos e/ou da sequência de aminoácidos com os bancos de dados públicos ou proprietários das seqüências. Os métodos de comparação computadorizada podem ser
5 utilizados para identificar os motivos da sequência ou domínios de conformação da proteína previstos que ocorrem em outras proteínas de estrutura e/ou função conhecida. Os métodos para identificar as seqüências protéicas que se dobram em uma estrutura tridimensional conhecida são conhecidos. Vide, por exemplo, Bowie et al., 1991,
10 Science 253:164.

Um "anticorpo enxertado em CDR" é um anticorpo que consiste em uma ou mais CDRs derivadas de um anticorpo de uma espécie ou isótipo particular e a estrutura de um outro anticorpo da mesma espécie ou isótipo ou de espécie ou isótipo diferente.

15 Um "anticorpo multiespecífico" é um anticorpo que reconhece mais de um epítopo em um ou mais antígenos. Uma subclasse deste tipo de anticorpo é um "anticorpo bi-específico" que reconhece dois epítopos distintos no mesmo antígeno ou em diferentes antígenos.

20 Uma proteína de ligação a antígeno que inclui um anticorpo "se liga especificamente" a um antígeno, tal como o receptor de glucagon humano se ela se ligar ao antígeno com uma alta afinidade de ligação, determinada por um valor de constante de dissociação (K_d , ou K_b correspondente, conforme definido
25 abaixo) de 10^{-7} M ou menos (100 nM ou menos). Uma proteína de ligação a antígeno que especificamente se liga ao receptor de glucagon humano pode ser capaz de se ligar também a receptores de glucagons de outras espécies com as mesmas afinidades ou

afinidades diferentes.

"Domínio de ligação a antígeno", "região de ligação a antígeno" ou "sítio de ligação a antígeno" é uma parte de uma proteína de ligação a antígeno que contém resíduos de aminoácidos (ou outros componentes) que interagem com um antígeno e contribuem para a especificidade e afinidade da proteína de ligação para o antígeno. Para um anticorpo que se liga especificamente a seu antígeno, isto incluirá pelo menos parte de pelo menos um de seus domínios da CDR.

Um "epítopo" é a parte de uma molécula que é ligada por uma proteína de ligação a antígeno (por exemplo, por um anticorpo). Um epítopo pode consistir em partes não-contíguas da molécula (por exemplo, em um polipeptídio, os resíduos de aminoácidos que não são contíguos na sequência primária do polipeptídio, mas que, no contexto da estrutura terciária e quaternária do polipeptídio, estão suficientemente perto uns dos outros para serem ligados por uma proteína de ligação a antígeno).

A "identidade percentual" de duas sequências de polinucleótídeos ou duas sequências de polipeptídios é determinada comparando as sequências através do programa de computador GAP (uma parte do GCG Wisconsin Package, versão 10.3 (Accelrys, San Diego, CA)) usando seus parâmetros padrão.

Os termos "polinucleotídeo" "oligonucleotídeo" e "ácido nucléico" são usados intercambiavelmente em toda parte e incluem moléculas de DNA (por exemplo, cDNA ou DNA genômico), moléculas de RNA (por exemplo, mRNA), análogos do DNA ou RNA gerados usando análogos de nucleotídeo (por exemplo, ácidos nucléicos peptídicos e análogos de nucleotídeo que ocorrem

naturalmente) e híbridos dos mesmos. A molécula de ácido nucléico pode ser de filamento simples ou duplo. Em uma configuração, as moléculas de ácido nucléico da invenção consistem em uma estrutura de leitura aberta contígua que codifica um anticorpo, ou um
5 fragmento, derivado, muteína ou variantes destes, da invenção.

Dois polinucleotídeos de filamento simples são "o complemento" um do outro se suas sequências puderem ser alinhadas em um sentido antiparalelo de tal modo que cada polinucleotídeo fique em oposição a seu nucleotídeo complementar no outro
10 polinucleotídeo, sem a introdução de espaços e sem nucleotídeos desparelhados na extremidade 5' ou 3' de qualquer uma das sequências. Um polinucleotídeo é "complementar" a outro se os dois polinucleotídeos puderem hibridizar um ao outro sob condições moderadamente rígidas. Assim, um polinucleotídeo pode ser
15 complementar a outro sem ser seu complemento.

Um "vetor" é um ácido nucléico que pode ser usado para introduzir um outro ácido nucléico ligado a ele em uma célula. Um tipo de vetor é um "plasmídeo" que se refere a uma molécula de DNA de filamento duplo linear ou circular à qual
20 segmentos de ácido nucléico adicionais podem ser ligados. Um outro tipo de vetor é um vetor viral (por exemplo, retrovírus de replicação defeituosa, adenovírus e vírus adeno-associados), onde segmentos de DNA adicionais podem ser introduzidos no genoma viral. Certos vetores são capazes de replicação autônoma em uma
25 célula hospedeira na qual são introduzidos (por exemplo, vetores bacterianos consistindo em uma origem bacteriana de replicação e vetores epissômicos de mamíferos). Outros vetores (por exemplo, vetores de mamíferos não-epissômicos) são integrados no genoma de

uma célula hospedeira após a introdução na célula hospedeira e são assim replicados juntamente com o genoma hospedeiro. Um "vetor de expressão" é um tipo de vetor que pode dirigir a expressão de um polinucleotídeo escolhido.

5 Uma sequência de nucleotídeos é "operacionalmente vinculada" a uma sequência reguladora se esta afetar a expressão (por exemplo, o nível, o tempo ou o local da expressão) da sequência de nucleotídeos. Uma "sequência reguladora" é um ácido nucléico que afeta a expressão (por exemplo, o nível, o tempo ou o

10 local da expressão) de um ácido nucléico ao qual está operacionalmente vinculado. A sequência reguladora pode, por exemplo, exercer seus efeitos diretamente sobre o ácido nucléico regulado, ou através da ação de uma ou mais outras moléculas (por exemplo, polipeptídios que se ligam à sequência reguladora e/ou ao

15 ácido nucléico). Exemplos de sequências reguladoras incluem elementos promotores, intensificadores e outros elementos de controle da expressão (por exemplo, sinais de poliadenilação). Mais exemplos de sequências reguladoras são descritos em, por exemplo, Goeddel, 1990, Gene Expression Technology: Methods in

20 Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA e Baron et al., 1995, Nucleic Acids Res. 23:3605-06.

 Uma "célula hospedeira" é uma célula que pode ser usada para expressar um ácido nucléico, por exemplo, um ácido nucléico da invenção. Uma célula hospedeira pode ser um

25 procariota, por exemplo, E. coli, ou um eucariota, por exemplo, um eucariota unicelular (por exemplo, uma levedura ou outro fungo), uma célula vegetal (por exemplo, uma célula da planta de fumo ou de tomate), uma célula animal (por exemplo, uma célula humana, uma

célula de macaco, uma célula de hamster, uma célula de rato, uma célula de camundongo ou uma célula de inseto) ou um hibridoma. Normalmente, uma célula hospedeira é uma célula cultivada que pode ser transformada ou transfectada com um ácido nucléico codificador de polipeptídio, que pode então ser expresso na célula hospedeira. A expressão "célula hospedeira recombinante" pode ser usada para denotar uma célula hospedeira que foi transformada ou transfectada com um ácido nucléico para ser expressa. Uma célula hospedeira pode também ser uma célula que compreende o ácido nucléico, mas não o expressa em um nível desejado a menos que seja introduzida uma sequência reguladora na célula hospedeira para que ela se torne operacionalmente vinculada ao ácido nucléico. Entende-se que o termo célula hospedeira se refere não só à célula objeto particular, mas à progênie ou progênie potencial dessa célula. Como certas modificações podem ocorrer nas gerações sucessoras devido a, por exemplo, mutação ou influência ambiental, essa progênie não pode, na verdade, ser idêntica à célula original, mas ainda assim é incluída no escopo do termo conforme usado aqui.

RECEPTORES DE GLUCAGON

O receptor de glucagon (GCGR) pertence à família 7-transmembrana de receptores que são acoplados a uma ou mais vias de sinalização intracelulares através de proteínas de ligação heterotriméricas de nucleotídeo de guanina (proteínas G) (Jelinek et al., Science 259: 1614-1616 (1993), Segre et al., Trends Endocrinol. Metab 4:309-314 (1993)). Aqui, "receptor de glucagon" e "GCGR" são usados intercambiavelmente. Outros membros deste grupo incluem os receptores para secretina, o peptídeo semelhante à glucagon (GLP-1), a proteína intestinal vasoativa (VIP) e o

fator de liberação do hormônio de crescimento. Esses receptores têm recursos estruturais altamente homólogos, incluindo um domínio N-terminal extracelular relativamente grande e uma série de domínios transmembrana, intracelulares e extracelulares.

5 Em uma configuração, os agentes de ligação a antígeno da presente invenção podem ser selecionados para ligar-se a receptores de glucagon ligados à membrana expressos nas células e inibir ou bloquear a sinalização do glucagon através do receptor de glucagon. Em uma configuração, os agentes de ligação a antígeno
10 da presente invenção especificamente se ligam ao receptor de glucagon humano. Em uma configuração adicional, as proteínas de ligação a antígeno que se ligam ao receptor de glucagon humano podem também ligar-se aos receptores de glucagon de outras espécies. Os Exemplos abaixo fornecem um método para gerar
15 anticorpos totalmente humanos que se ligam aos receptores de glucagon humanos ligados à membrana e em uma configuração adicional, se ligam a receptores de glucagon de outras espécies.

As seqüências de polinucleotídeos e polipeptídios de várias espécies de receptores de glucagons são conhecidas. A
20 Tabela 1 apresenta as seqüências para o homem, o camundongo e o rato. As seqüências dos receptores de glucagon dos cynomolgus são identificadas aqui e apresentadas abaixo.

TABELA 1

Polinucleotídeos humanos (Homo sapiens) (Nº de ID da SEQ: 1)					
número de adesão BC104854					
1	gtgcagcccc	tgccagatgt	gggaggcagc	tagctgccca	gaggcatgcc
	cccctgccag				

61	ccacagcgac	ccctgctgct	gttgctgctg	ctgctggcct	gccagccaca
	ggccccctcc				
121	gctcaggtga	tggacttcct	gtttgagaag	tggaagctct	acggtgacca
	gtgtcaccac				
181	aacctgagcc	tgctgcccc	tcccacggag	ctggtgtgca	acagaacctt
	cgacaagtat				
241	tcctgctggc	cggacacccc	cgccaatacc	acggccaaca	tctcctgccc
	ctggtacctg				
301	ccttggcacc	acaaagtgca	acaccgcttc	gtgttcaaga	gatgcggggc
	cgacggtcag				
361	tgggtgcgtg	gaccccgggg	gcagccttgg	cgtgatgcct	cccagtgcc
	gatggatggc				
421	gaggagattg	aggtccagaa	ggaggtggcc	aagatgtaca	gcagcttcca
	ggtgatgtac				
481	acagtgggct	acagcctgtc	cctggggggc	ctgctcctcg	ccttggccat
	cctggggggc				
541	ctcagcaagc	tgactgcac	ccgcaatgcc	atccacgcga	atctgtttgc
	gtccttcgtg				
601	ctgaaagcca	gctccgtgct	ggtcattgat	gggctgctca	ggacccgcta
	cagccagaaa				
661	attggcgacg	acctcagtgt	cagcacctgg	ctcagtgatg	gagcgggtggc
	tggctgccgt				
721	gtggccgcgg	tgttcattgca	atatggcatc	gtggccaact	actgctggct
	gctggtggag				
781	ggcctgtacc	tgcaaacct	gctgggcctg	gccaccctcc	ccgagaggag
	cttcttcagc				
841	ctctacctgg	gcatcggctg	gggtgcccc	atgctgttcg	tcgtcccctg
	ggcagtggtc				

```

901 aagtgtctgt  tcgagaacgt  ccagtgtctgg  accagcaatg  acaacatggg
cttctgggtgg
961 atcctgcggt  tccccgtctt  cctggccatc  ctgatcaact  tcttcatctt
cgtcgcgcatc
1021 gttcagctgc  tcgtggccaa  gctgcgggca  cggcagatgc  accacacaga
ctacaagttc
1081 cggctggcca  agtccacgct  gaccctcatc  cctctgctgg  gcgtccacga
agtggctcttc
1141 gccttcgtga  cggacgagca  cgcccagggc  accctgcgct  ccgccaagct
cttcttcgac
1201 ctcttctca  gctccttcca  gggcctgctg  gtggctgtcc  tctactgctt
cctcaacaag
1261 gaggtgcagt  cggagctgcg  gcggcggttg  caccgctggc  gcctgggcaa
agtgcctatgg
1321 gaggagcgga  acaccagcaa  ccacagggcc  tcattcttcgc  ccggccacgg
ccctcccagc
1381 aaggagctgc  agtttgggag  ggggtggtgg  agccaggatt  catctgcgga
gaccccttg
1441 gctggtggcc  tccctagatt  ggctgagagc  cccttctgaa  ccctgctggg
acccagcta
1501 gggctggact  ctggcaccc

```

Aminoácido humano (Homo sapiens) (N° de ID da SEQ: 2)

477 aa; adesão n° EAW89684

Met Pro Pro Cys Gln Pro Gln Arg Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu
Leu Ala Cys Gln Pro Gln Val Pro Ser Ala Gln Val Met Asp Phe Leu
Phe Glu Lys Trp Lys Leu Tyr Gly Asp Gln Cys His His Asn Leu Ser
Leu Leu Pro Pro Pro Thr Glu Leu Val Cys Asn Arg Thr Phe Asp Lys
Tyr Ser Cys Trp Pro Asp Thr Pro Ala Asn Thr Thr Ala Asn He Ser

Cys Pro Trp Tyr Leu Pro Trp His His Lys Val Gln His Arg Phe Val
 Phe Lys Arg Cys Gly Pro Asp Gly Gln Trp Val Arg Gly Pro Arg Gly
 Gln Pro Trp Arg Asp Ala Ser Gln Cys Gln Met Asp Gly Glu Glu lie
 Glu Val Gln Lys Glu Val Ala Lys Met Tyr Ser Ser Phe Gln Val Met
 Tyr Thr Val Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Gly Ala Leu Leu Leu Ala Leu
 Ala He Leu Gly Gly Leu Ser Lys Leu His Cys Thr Arg Asn Ala lie
 His Ala Asn Leu Phe Ala Ser Phe Val Leu Lys Ala Ser Ser Val Leu
 Val He Asp Gly Leu Leu Arg Thr Arg Tyr Ser Gln Lys He Gly Asp
 Asp Leu Ser Val Ser Thr Trp Leu Ser Asp Gly Ala Val Ala Gly Cys
 Arg Val Ala Ala Val Phe Met Gln Tyr Gly He Val Ala Asn Tyr Cys
 Trp Leu Leu Val Glu Gly Leu Tyr Leu His Asn Leu Leu Gly Leu Ala
 Thr Leu Pro Glu Arg Ser Phe Phe Ser Leu Tyr Leu Gly He Gly Trp
 Gly Ala Pro Met Leu Phe Val Val Pro Trp Ala Val Val Lys Cys Leu
 Phe Glu Asn Val Gln Cys Trp Thr Ser Asn Asp Asn Met Gly Phe Trp
 Trp He Leu Arg Phe Pro Val Phe Leu Ala He Leu He Asn Phe Phe He
 Phe Val Arg He Val Gln Leu Leu Val Ala Lys Leu Arg Ala Arg Gln
 Met His His Thr Asp Tyr Lys Phe Arg Leu Ala Lys Ser Thr Leu Thr
 Leu He Pro Leu Leu Gly Val His Glu Val Val Phe Ala Phe Val Thr
 Asp Glu His Ala Gln Gly Thr Leu Arg Ser Ala Lys Leu Phe Phe Asp
 Leu Phe Leu Ser Ser Phe Gln Gly Leu Leu Val Ala Val Leu Tyr Cys
 Phe Leu Asn Lys Glu Val Gln Ser Glu Leu Arg Arg Arg Trp His Arg
 Trp Arg Leu Gly Lys Val Leu Trp Glu Glu Arg Asn Thr Ser Asn His
 Arg Ala Ser Ser Ser Pro Gly His Gly Pro Pro Ser Lys Glu Leu Gln
 Phe Gly Arg Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ser Ser Ala Glu Thr Pro Leu
 Ala Gly Gly Leu Pro Arg Leu Ala Glu Ser Pro Phe

Polinucleotídeos de camundongos (*Mus musculus*) (Nº de ID da SEQ:

3)

número de adesão BC5057988

1	cgcgaggagc	gcagccctag	ccccggcgac	tgagcacacc	tgaggagagg
	tgcacacact				
61	ctgaggacct	aggtgtgcaa	cctctgccag	atgtggggcg	tggctacca
	gaggcatgcc				
121	cctcaccag	ctccactgtc	cccacctgt	gctgctgctg	ttggtgctgt
	catgtctgcc				
181	agaggcacc	tctgcccagg	taatggactt	tttgtttgag	aagtggaagc
	tctatagtga				
241	ccaatgccac	cacaacctaa	gcctgctgcc	cccacctact	gagctggtct
	gtaacagaac				
301	cttcgacaag	tactctgtct	ggcctgacac	ccctcccaac	accactgcca
	acatttcctg				
361	cccctggtac	ctaccttggt	accacaaagt	gcagcaccgc	ctagtgttca
	agaggtgtgg				
421	gcccgatggg	cagtgggttc	gagggccacg	ggggcagccg	tggcgcaacg
	cctcccaatg				
481	tcagttggat	gatgaagaga	tcgaggtcca	gaaggggggtg	gccaagatgt
	atagcagcca				
541	gcaggtgatg	tacaccgtgg	gctacagtct	gtccctgggg	gccttgctcc
	ttgcgctggt				
601	catcctgctg	ggcctcagga	agctgcactg	caccgaaac	tacatccatg
	ggaacctgtt				
661	tgcgtccttt	gtgctcaagg	ctggctctgt	gttggtcatc	gattggctgc
	tgaagacacg				
721	gtacagccag	aagattggcg	atgacctcag	tgtgagcgtc	tggctcagtg
	acggggcgat				
781	ggccggctgc	agagtggcca	cagtgatcat	gcagtacggc	atcatagcca
	actattgctg				

841	gttgctggtg	gagggcgtgt	acctgtacag	cctgctgagc	cttgccacct
	tctctgagag				
901	gagcttcttt	tccctctacc	tgggcattgg	ctggggtgcg	cccctgctgt
	ttgtcatccc				
961	ctgggtggtg	gtcaagtgtc	tgtttgagaa	tgttcagtgc	tggaccagca
	atgacaacat				
1021	gggattctgg	tggatcctgc	gtattcctgt	cttctctggc	ttactgatca
	atTTTTTcat				
1081	ctttgtccac	atcattcacc	ttcttgtggc	caagctgcgt	gcccatacaga
	tgcaatatgc				
1141	tgactataag	ttccggctgg	ccaggtccac	gctgaccctc	atccctctgc
	tgggggtcca				
1201	cgaggtggtc	tttgcctttg	tgactgacga	gcatgcccaa	ggcaccctgc
	gctccaccaa				
1261	gctctTTTTt	gacctgttcc	tcagctcctt	ccagggtctg	ctggtggctg
	ttctctactg				
1321	tttctcaac	aaggaggtgc	aggcagagct	gatgcggcgt	tggaggcaat
	ggcaagaagg				
1381	caaagctctt	caggaggaaa	ggttggccag	cagccatggc	agccacatgg
	cccagcagg				
1441	gccttgtcat	ggtgatccct	gtgagaaact	tcagcttatg	agtgcaggca
	gcagcagtgg				
1501	gactggctgt	gtgccctcta	tggagacctc	gctggccagt	agtctcccaa
	ggttggctga				
1561	cagccccacc	tgaatctcca	ctggagccta	gccaggctgc	gttcagaaaag
	ggcctcagag				
1621	gacaaccag	agccagatgc	ccggccaagg	ctgaagagac	aaagcagcaa
	gacagcagct				

1681 tgtactgtgc acactcccct aacctgtcct agcctggcac aggccacagt
gacagagtag

1741 gggttggata tgatggagaa gccatgttat ctatgaactc tgagtgttcc
catgtgtgtt

1801 gacatgggtcc ctgtaccag atatgtcctt cagtaaaaag ctcgagtggg
agctgctgca

1861 caaaaaaaaa aaaaaaaaaa

Aminoácido de camundongo (Mus musculus) (N° de ID da SEQ: 4)

485 aa adesão número AAH57988

Met Pro Leu Thr Gln Leu His Cys Pro His Leu Leu Leu Leu Leu Leu
Val Leu Ser Cys Leu Pro Glu Ala Pro Ser Ala Gln Val Met Asp Phe
Leu Phe Glu Lys Trp Lys Leu Tyr Ser Asp Gln Cys His His Asn Leu
Ser Leu Leu Pro Pro Pro Thr Glu Leu Val Cys Asn Arg Thr Phe Asp
Lys Tyr Ser Cys Trp Pro Asp Thr Pro Pro Asn Thr Thr Ala Asn He
Ser Cys Pro Trp Tyr Leu Pro Trp Tyr His Lys Val Gln His Arg Leu
Val Phe Lys Arg Cys Gly Pro Asp Gly Gln Trp Val Arg Gly Pro Arg
Gly Gln Pro Trp Arg Asn Ala Ser Gln Cys Gln Leu Asp Asp Glu Glu
He Glu Val Gln Lys Gly Val Ala Lys Met Tyr Ser Ser Gln Gln Val
Met Tyr Thr Val Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Gly Ala Leu Leu Leu Ala
Leu Val He Leu Leu Gly Leu Arg Lys Leu His Cys Thr Arg Asn Tyr
He His Gly AsnLeu Phe Ala Ser Phe Val Leu Lys Ala Gly Ser Val
Leu Val He Asp Trp Leu Leu Lys Thr Arg Tyr Ser Gln Lys He Gly
Asp Asp Leu Ser Val Ser Val Trp Leu Ser Asp Gly Ala Met Ala Gly
Cys Arg Val Ala Thr Val He Met Gln Tyr Gly He He Ala Asn Tyr Cys
Trp Leu Leu Val Glu Gly Val Tyr Leu Tyr Ser Leu Leu Ser Leu Ala
Thr Phe Ser Glu Arg Ser Phe Phe Ser Leu Tyr Leu Glylle Gly Trp
Gly Ala Pro Leu Leu Phe Val He Pro Trp Val Val Val Lys Cys Leu
Phe Glu Asn Val Gln Cys Trp Thr Ser Asn Asp Asn Met Gly Phe Trp

Trp He Leu Arg He Pro Val Phe Leu Ala Leu Leu He Asn Phe Phe He
Phe Val His He He His Leu Leu Val Ala Lys Leu Arg Ala His Gln
Met His Tyr Ala Asp Tyr Lys Phe Arg Leu Ala Arg Ser Thr Leu Thr
Leu He Pro Leu Leu GlyVal His Glu Val Val Phe Ala Phe Val Thr
Asp Glu His Ala Gln Gly Thr Leu Arg Ser Thr Lys Leu Phe Phe Asp
Leu Phe Leu Ser Ser Phe Gln Gly Leu Leu Val Ala Val Leu Tyr Cys
Phe Leu Asn Lys Glu Val Gln Ala Glu Leu Met Arg Arg Trp Arg Gln
Trp Gln Glu Gly Lys Ala Leu Gln Glu Glu Arg Leu Ala Ser Ser His
Gly Ser His Met Ala Pro Ala Gly Pro Cys His Gly Asp Pro Cys
GluLys Leu Gln Leu Met Ser Ala Gly Ser Ser Ser Gly Thr Gly Cys
Val Pro Ser Met Glu Thr Ser Leu Ala Ser Ser Leu Pro Arg Leu Ala
Asp Ser Pro Thr

Polinucleotídeos de ratos (*Rattus norvegicus*) (Nº de ID da SEQ:
5)

Adesão nº NM 172092

1	gaattcgcg	ccgccgccg	gccccagatc	ccagtgcgcg	aggagcccag
	tcctagaccc				
61	agcaacctga	ggagaggtgc	acacaccccc	aaggacccag	gcaccaacc
	tctgccagat				
121	gtgggggggt	ggctaccag	aggcatgctc	ctcaccagc	tccactgtcc
	ctacctgctg				
181	ctgctgctgg	tggtgctgtc	atgtctgcca	aaggcaccct	ctgcccaggt
	aatggacttt				
241	ttgtttgaga	agtggaagct	ctatagtgac	cagtgccacc	acaacctaa
	cctgctgcc				
301	ccacctactg	agctggtctg	caacagaact	ttcgacaagt	actcctgctg
	gcctgacacc				
361	cctcccaaca	ccactgccaa	catttctgtc	ccctggtacc	taccttggt

ccacaaagtg

421 cagcaccgcc tagtggtcaa gaggtgtggg cctgatgggc agtgggttcg
agggccacgg

481 gggcagtcac ggcgcgacgc ctcccaatgt cagatggatg atgacgagat
cgaggtccag

541 aagggggtag ccaagatgta tagcagctac caggtgatgt aactgtggg
ctacagtctg

601 tccctggggg ccttgctcct ggcgctggtc atcctgctgg gcctcaggaa
gctgcactgc

661 acccggaact acatccacgg gaacctgttc gcgtccttcg tgctcaaggc
tggctctgtg

721 ctggtcattg attggctgct caagacacgc tatagccaga agattggaga
tgacctcagt

781 gtgagcgtct ggctcagtga tggggcggtg gctggctgca gagtggccac
agtgatcatg

841 cagtacggca tcatagccaa ctactgctgg ttgctggtgg aggggtgtgta
cctgtacagc

901 ctgctgagca tcaccacctt ctcggagaag agcttcttct ccctctatct
gtgcatcggc

961 tggggatctc ccctgctggt tgtcatcccc tgggtggtgg tcaagtgtct
gtttgagaat

1021 gtccagtgct ggaccagcaa tgacaatatg ggattctggt ggatcctgcg
tatccctgta

1081 ctcttgacca tactgatcaa ttttttcac tttgtccgca tcattcatct
tcttgtggcc

1141 aagctgcgtg cccatcagat gcactatgct gattacaagt tccggctagc
caggtccacg

1201 ctgaccctca ttcctctgct gggagtccac gaagtgggtct ttgcctttgt

gactgatgag

1261 catgcccagg gcaccctgcg ctccaccaag ctcttttttg acctgttctt
cagctccttt

1321 cagggctctgc tgggtggctgt tctctactgt ttcctcaaca aggaggtgca
ggcagagcta

1381 ctgcggcggt ggaggcgatg gcaagaaggc aaagctcttc aggaggaaag
gatggccagc

1441 agccatggca gccacatggc cccagcaggg acttgatcatg gtgatccctg
tgagaaactt

1501 cagcttatga gtgcaggcag cagcagtggg actggctgtg agccctctgc
gaagacctca

1561 ttggccagta gtctcccaag gctggctgac agccccacct gaatctccac
tggactccag

1621 ccaagttgga ttcagaaagg gcctcacaag acaaccaga aacagatgcc
tggccaaggc

1681 tgaagaggca aagcagcaag acagcagctt gtactatcca cactccccta
acctgtcctg

1741 gccgggtaca ggccacattg atggagtagg ggctggatat gatggagtag
ccatgctatg

1801 aactatgggt gttcccatga gtgttgccat gttccatgca cacagatatg
accttcagta

1861 aagagctccc gtagg

Aminoácido de rato (*Rattus norvegicus*) (Nº de ID da SEQ: 6)

489 aa, adesão nº NM 172092

Met Leu Leu Thr Gln Leu His Cys Pro TyrLeu Leu Leu Leu Val
Val Leu Ser Cys Leu Pro Lys Ala Pro Ser Ala Gln Val Met Asp Phe
Leu Phe Glu Lys Trp Lys Leu Tyr Ser Asp Gln Cys His His Asn Leu
Ser Leu Leu Pro Pro Pro Thr Glu Leu Val Cys Asn Arg Thr Phe Asp

Lys Tyr Ser Cys Trp Pro Asp Thr Pro Pro Asn Thr Thr Ala Asn He
 Ser Cys Pro Trp Tyr Leu Pro Trp Tyr His Lys Val Gln His Arg Leu
 Val Phe Lys Arg Cys Gly Pro Asp Gly Gln Trp Val Arg Gly Pro Arg
 Gly Gln Ser Trp Arg Asp Ala Ser Gln Cys Gln Met Asp Asp Asp Glu
 He Glu Val Gln Lys Gly Val Ala Lys Met Tyr Ser Ser Tyr Gln Val
 Met Tyr Thr Val Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Gly Ala Leu Leu Leu Ala
 Leu Val He Leu Leu Gly Leu Arg Lys Leu His Cys Thr Arg Asn Tyr
 He His Gly Asn Leu Phe Ala Ser Phe Val Leu Lys Ala Gly Ser Val
 Leu Val lie Asp Trp Leu Leu Lys Thr Arg Tyr Ser Gln Lys He Gly
 Asp Asp Leu Ser Val Ser Val Trp Leu Ser Asp Gly Ala Val Ala Gly
 Cys Arg Val Ala Thr Val He Met Gln Tyr Gly He He Ala Asn Tyr Cys
 Trp Leu Leu Val Glu Gly Val Tyr Leu Tyr Ser Leu Leu Ser He Thr
 Thr Phe Ser Glu Lys Ser Phe Phe Ser Leu Tyr Leu Cys He Gly Trp
 Gly Ser Pro Leu Leu Phe Val He Pro Trp Val Val Val Lys Cys Leu
 Phe Glu Asn Val Gln Cys Trp Thr Ser Asn Asp Asn Met Gly Phe Trp
 Trp He Leu Arg He Pro Val Leu Leu Ala He Leu He Asn Phe Phe He
 Phe Val Arg lie He His Leu Leu Val Ala Lys Leu Arg Ala His Gln
 Met His Tyr Ala Asp Tyr Lys Phe Arg Leu Ala Arg Ser Thr Leu Thr
 Leu He Pro Leu Leu Gly Val His Glu Val Val Phe Ala Phe Val Thr
 Asp Glu His Ala Gln Gly Thr Leu Arg Ser Thr Lys Leu Phe Phe Asp
 Leu Phe Phe Ser Ser Phe Gln Gly Leu Leu Val Ala Val Leu Tyr Cys
 Phe Leu Asn Lys Glu Val Gln Ala Glu Leu Leu Arg Arg Trp Arg Arg
 Trp Gln Glu Gly Lys Ala Leu Gln Glu Glu Arg Met Ala Ser Ser His
 Gly Ser His Met Ala Pro Ala Gly Thr Cys His Gly Asp Pro Cys Glu
 Lys Leu Gln Leu Met Ser Ala Gly Ser Ser Ser Gly Thr Gly Cys Glu
 Pro Ser Ala Lys Thr Ser Leu Ala Ser Ser Leu Pro Arg Leu Ala Asp
 Ser Pro Thr

Polinucleotídeos de *Cynomolgus* (*Macaca fascicularis*) (Nº de ID

da SEQ: 7)

>ciano-20042028417-contigl (32bp - 1465bp, direto) 1434bp

atgccccctgtcagccacgtcgacccctgctactgttgctgctgctgctggcctgccagccac

ag

gccccctccgctcaggtgatggacttctgtttgagaagtggaaactctacggtgaccagtgtc

ac

cacaacctgagcctgctgccccccccacggagctgggtctgtaacagaaccttcgacaagtatt

cc

tgctggccagacacccccgccaataccacagccaacatctcctgcccctggtacctgccttggc

ac

cacaaagtgaacaccgcttcgtgttcaagagatgcgggcccgatggtcagtgggtgcgtggac

cc

cgggggcagccttggcgtgacgcctctcagtgccagatggacggcgaggagcttgaggtccaga

ag

gaggtggctaagatgtacagcagcttcaggtgatgtacacggtgggctacagcctgtccctgg

gg

gccctgctcctcgcccttggccatcctggggggcatcagcaagctgcactgcacccgcaacgcca

tc

cacgcgaacctgtttgtgtccttcgtgctgaaggccagctccgtgctggtcatcgatgggctgc

tc

aggacccgctacagccagaagattggcgacgacctcagtgtcagcatctggctcagtgatggag

cg

gtggccggctgccgtgtggccgcggtgttcattgcaatatggcgtcgtggccaactactgctggc

tg

ctggtggagggcctgtacctgcacaacctgctgggcctggccaccctccctgagaggagcttct

tc

agcctctacctgggcatcggctgggggtgcccccatgctgttcattcatccctgggtgggtggtca

gg

tgtctgttcgagaacatccagtgctggaccagcaatgacaacatgggcttctgggtggatcctgc
 gg
 ttccccgtcttctctggccatcctgatcaacttcttcatcttcatccgcattgttcacctgcttg
 tg
 gccaaagctgcgggcgcgaggatgcaccacacagactacaagttccgactggccaagtccacac
 tg
 accctcatccccctgctgggtgtccacgaagtgatcttcgccttcgtgacggacgagcacgccc
 ag
 ggcaccctgcgcttcgccaagctcttcttcgacctcttcctcagctccttcagggcctgctgg
 tg
 gctgtcctctactgcttcctcaacaaggaggtgcagtcggaacttcggcggcattggcaccgct
 gg
 cgcttgggcaaagtgctgcaggaggagcggggcaccagcaaccacaagaccccatctgcgcctg
 gc
 caaggccttcctggcaagaagctgcagtcctgggaggggtggtggcagccaggactcatctgcgg
 ag
 atccccttggctgggtggcctccctaggttggtgagagccccttctga

Aminoácidos de *Cynomolgus* (*Macaca fascicularis*) (Nº de ID da SEQ: 8)

478 aa

Met Pro Pro Cys Gln Pro Arg Arg Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu
 Leu Ala Cys Gln Pro Gln Ala Pro Ser Ala Gln Val Met Asp Phe Leu
 Phe Glu Lys Tip Lys Leu Tyr Gly Asp Gln Cys His His Asn Leu Ser
 Leu Leu Pro Pro Pro Thr Glu Leu Val Cys Asn Arg Thr Phe Asp Lys
 Tyr Ser Cys Trp Pro AspThr Pro Ala Asn Thr Thr Ala Asn He Ser
 Cys Pro Trp Tyr Leu Pro Trp His His Lys Val Gln His Arg Phe Val
 Phe Lys Arg Cys Gly Pro Asp Gly Gln Trp Val Arg Gly ProArg Gly
 Gln Pro Trp Arg Asp Ala Ser Gln Cys Gln Met Asp Gly Glu Glu Leu

Glu ValGln Lys Glu Val Ala Lys Met Tyr Ser Ser Phe Gln Val Met
 Tyr Thr Val Gly Tyr SerLeu Ser Leu Gly Ala Leu Leu Leu Ala Leu
 Ala He Leu Gly Gly lie Ser Lys Leu His Cys Thr Arg Asn Ala lie
 His Ala Asn Leu Phe Val Ser Phe Val Leu Lys Ala Ser SerVal Leu
 Val He Asp Gly Leu Leu Arg Thr Arg Tyr Ser Gln Lys He Gly Asp
 Asp Leu Ser Val Ser He Trp Leu Ser Asp Gly Ala Val Ala Gly Cys
 Arg Val Ala Ala Val Phe Met Gln Tyr Gly Val Val Ala Asn Tyr Cys
 Trp Leu Leu Val Glu Gly Leu Tyr Leu His Asn Leu Leu Gly Leu Ala
 Thr Leu Pro Glu Arg Ser Phe Phe Ser Leu Tyr Leu Gly He Gly Trp
 Gly Ala Pro Met Leu Phe He He Pro Trp Val Val Val Arg Cys Leu
 Phe Glu Asn He Gln Cys Trp Thr Ser Asn Asp Asn Met Gly Phe Trp
 Trp He Leu Arg Phe Pro Val Phe Leu Ala He Leu He Asn Phe Phe He
 Phe lie Arg He Val His Leu Leu Val Ala Lys Leu Arg Ala Arg Glu
 Met His His Thr Asp Tyr Lys Phe Arg Leu Ala Lys Ser Thr Leu Thr
 Leu He Pro Leu Leu Gly Val His Glu Val He Phe Ala Phe Val Thr
 Asp Glu His Ala Gln Gly Thr Leu Arg Phe Ala Lys Leu Phe Phe Asp
 Leu Phe Leu Ser Ser Phe Gln Gly Leu Leu Val Ala Val Leu Tyr Cys
 Phe Leu Asn Lys Glu Val Gln Ser Glu Leu Arg Arg His Trp His Arg
 Trp Arg Leu Gly Lys Val Leu Gln Glu Glu Arg Gly Thr Ser Asn His
 Lys Thr Pro Ser Ala Pro Gly Gln Gly Leu Pro Gly Lys Lys Leu Gln
 Ser Gly Arg Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ser Ser Ala Glu He Pro Leu
 Ala Gly Gly Leu Pro Arg Leu Ala Glu Ser Pro Phe

Proteínas de ligação a antígeno

Em um aspecto, a presente invenção provê
 proteínas de ligação a antígeno (por exemplo, anticorpos,
 fragmentos de anticorpo, derivados de anticorpo, muteínas de
 5 anticorpo e variantes de anticorpo), que especificamente se ligam
 ao receptor de glucagon humano. Em uma configuração, a proteína de

ligação a antígeno é um anticorpo humano.

As proteínas de ligação a antígeno, de acordo com a presente invenção, incluem proteínas de ligação a antígeno que especificamente se ligam ao receptor de glucagon humano e inibem a sinalização do glucagon através do receptor de glucagon. Em uma configuração, o valor da CI50 da proteína de ligação a antígeno é 90 nM ou menos. Em um outro aspecto, as proteínas de ligação a antígeno especificamente se ligam ao receptor de glucagon, inibem a sinalização e exibem efeitos biológicos terapêuticos, tais como a redução da glicemia em modelos animais, ou a melhora da eliminação da glicose (tolerância) em modelos animais. Em uma configuração, as proteínas de ligação a antígeno são anticorpos humanos que especificamente se ligam ao receptor de glucagon e inibem a sinalização através do receptor de glucagon. Em uma outra configuração, as proteínas de ligação a antígeno são anticorpos humanos que especificamente se ligam ao receptor de glucagon humano, inibem a sinalização através do receptor de glucagon e são capazes de reduzir a glicemia ou melhorar a eliminação da glicose (tolerância) em modelos animais.

Em uma configuração, a proteína de ligação a antígeno (por exemplo, anticorpo) consiste em seqüências que diferem cada uma independentemente em 5, 4, 3, 2, 1, ou 0 adições, substituições e/ou eliminações simples de aminoácido de uma seqüência de CDR de A1-A23 na Tabela 2 abaixo. Aqui, uma seqüência de CDR que difira em não mais que um total de, por exemplo, quatro adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma seqüência de CDR mostrada na Tabela 2 abaixo se refere a uma seqüência com 4, 3, 2, 1 ou 0 adições, substituições e/ou

eliminações simples de aminoácidos comparada às seqüências mostradas na Tabela 2.

Em uma outra configuração, a proteína de ligação a antígeno consiste em uma ou mais seqüências consenso de CDR mostradas abaixo. Sequências consenso são fornecidas para CDR1, CDR2, CDR3 de cadeia leve e CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada abaixo.

As CDRs de cadeia leve das proteínas de ligação a antígeno (anticorpos) A1-A23 e as CDRs de cadeia pesada de proteínas de ligação a antígeno exemplares (anticorpos) A1-A23 são mostradas abaixo na Tabela 2. A-1 a A-23 correspondem a L1 a L23 abaixo e H1 a H23 abaixo. Também são mostradas as seqüências de polinucleotídeos que codificam as seqüências de aminoácidos das CDRs.

15

TABELA 2

CADEIAS LEVES L1 a L23

Ab	CDR1	CDR 2	CDR 3
A-1	aggtctagtcagagcctcttg	acgctttcctatcgggc	atgcaacgtataga
NA	gatagagatgatggagacacc	ctct	gtttccattcact
	tatttggac	(N° de ID da SEQ: 42)	(N° de ID da SEQ: 71)
AA	RSSQSLLDRDDGDTYLD	TLSYRAS	MQRTEFPFT
	(N° de ID da SEQ: 10)	(N° de ID da SEQ: 43)	(N° de ID da SEQ: 72)
A-2	aggtctagtcagagcctcttg	acgctttcctatcgggc	atgcaacgtataga
NA	gatagtgctgatggagacacc	ctct	gtttccattcact
	tatttggac	(N° de ID da SEQ: 42)	(N° de ID da SEQ: 71)
	(N° de ID da SEQ: 11)		

AA	RSSQSLLDSDAGDITYLD (N° de ID da SEQ: 12)	TLSYRAS (N° de ID da SEQ: 43)	MQRIEFPFT (N° de ID da SEQ: 72)
A-3 NA	cgggcaagtcagggcattaga aatgatttaggc (N° de ID da SEQ: 13)	gctgcatccagtttgca aagt (N° de ID da SEQ: 44)	ctacagcataatag taaccctctcact (N° de ID da SEQ: 73)
AA	RASQG1RNDLG (N° de ID da SEQ: 14)	AASSLQS (N° de ID da SEQ: 45)	LQHNSNPLT (N° de ID da SEQ: 74)
A-4 NA	cgggcaagtcagggcattaga aatgatttaggc (N° de ID da SEQ: 13)	gctgcatccagtttgca aagt (N° de ID da SEQ: 44)	ctacagcataatag taaccctctcact (N° de ID da SEQ: 73)
AA	RASQGIRNDLG (N° de ID da SEQ: 14)	AASSLQS (N° de ID da SEQ: 45)	LQHNSNPLT (N° de ID da SEQ: 74)
A-5 NA	cgggcaagtcagggcattaga aatgatttaggc (N° de ID da SEQ: 13)	gctgcctccagtttgca aagt (N° de ID da SEQ: 46)	ctacagcataatag tgaccgcgtcacc (N° de ID da SEQ: 75)
AA	RASQGIRNDLG (N° de ID da SEQ: 14)	AASSLQS (N° de ID da SEQ: 45)	LQHNSDPLT (N° de ID da SEQ: 76)
A-6 NA	agggccagtcagagtgttagc agcaactacttagcc (N° de ID da SEQ: 15)	ggtgcatccagcagggc cact (N° de ID da SEQ: 47)	caacaatatggtaa ctcaccattcact (N° de ID da SEQ: 77)

AA	RASQSVSSNYLA (N° de ID da SEQ: 16)	GASSRAT (N° de ID da SEQ: 48)	QQYGNPFT (N° de ID da SEQ: 78)
A-7 NA	cgggcaagtcaggacattaga aatgattttggc (N° de ID da SEQ: 17)	gctgcatccagtttaca aagt (N° de ID da SEQ: 44)	ctacagcaaaatag ttaccgcgctcact (N° de ID da SEQ: 79)
AA	RASQDBRNDFG (N° de ID da SEQ: 18)	AASSLQS (N° de ID da SEQ: 45)	LQQNSYPLT (N° de ID da SEQ: 80)
A-8 NA	gggtctactcagagcctcttg gatagtgatgatggagacacc tatttggac (N° de ID da SEQ: 19)	acgctttcctatcgggc ctct (N° de ID da SEQ: 42)	atgcaacgtataga gtttccattcact (N° de ID da SEQ: 71)
AA	RSTQSLLDSDDGDTYLD (N° de ID da SEQ: 20)	TLSYRAS (N° de ID da SEQ: 43)	MQRIEFPFT (N° de ID da SEQ: 72)
A-9 NA	cgggcaagtcagggcattaga aatgatttaggc (N° de ID da SEQ: 13)	gctgcatccagtttgga aagt (N° de ID da SEQ: 49)	ctacagcataatag taaccctctcact (N° de ID da SEQ: 73)
AA	RASQGIRNDLG (N° de ID da SEQ: 14)	AASSLES (N° de ID da SEQ: 50)	LQHNSNPLT (N° de ID da SEQ: 74)
A-10 NA	caggcgagtcaggacattagt aagtatttaa (N° de ID da SEQ: 21)	gatgcatccaatttgga aaca (N° de ID da SEQ: 51)	caacagtatggtaa tctcccgatcacc (N° de ID da SEQ: 75)

AA	QASQDISKYLN (N° de ID da SEQ: 22)	DASNLET (N° de ID da SEQ: 52)	QQYGNLPIT (N° de ID da SEQ: 76)
A-11 NA	tctggagataaattgggggat aaatatgtttgc (N° de ID da SEQ: 23)	caaacttccaagcggcc ctca (N° de ID da SEQ: 53)	caggcgtgggacag caacactgtgatt (N° de ID da SEQ: 77)
AA	SGDKLGDKYVC (N° de ID da SEQ: 24)	QTSKRPS (N° de ID da SEQ: 54)	QAWDSNTVI (N° de ID da SEQ: 78)
A-12 NA	tctggagataaattgggggat aaatatgtttgc (N° de ID da SEQ: 23)	Caaacttccaagcggcc ctca (N° de ID da SEQ: 53)	caggcgtgggacag cagcactgtgggtt (N° de ID da SEQ: 79)
AA	SGDKLGDKYVC (N° de ID da SEQ: 24)	QTSKRPS (N° de ID da SEQ: 54)	QAWDSSTVV (N° de ID da SEQ: 80)
A-13 NA	tctggagataaattgggggat aaatatgcttgc (N° de ID da SEQ: 25)	caatctaccaagcggcc ctca (N° de ID da SEQ: 55)	caggcgtgggacag cagcactgtggta (N° de ID da SEQ: 81)
AA	SGDKLGDKYAC (N° de ID da SEQ: 26)	QSTKRPS (N° de ID da SEQ: 56)	QAWDSSTVV (N° de ID da SEQ: 80)
A-14 NA	acccgcagcagtggcagcatt gtcagcaactttgtgcaa (N° de ID da SEQ: 27)	gaggataaccaaagacc ctct (N° de ID da SEQ: 57)	cagtcttatgatac cagcaatcaggtg (N° de ID da SEQ: 82)

AA	TRSSGSIVSNFVQ (N° de ID da SEQ: 28)	EDNQRPS (N° de ID da SEQ: 58)	QSYDTSNQV (N° de ID da SEQ: 83)
A-15 NA	actggaatcacctccaacatc ggaagcaataactgtacac (N° de ID da SEQ: 29)	agtaataatcagcggcc ctca (N° de ID da SEQ: 59)	gcagcatgggatga cagcctgaatgggc cggtg (N° de ID da SEQ: 84)
AA	TGITSNIGSNTVH (N° de ID da SEQ: 30)	SNNQRPS (N° de ID da SEQ: 60)	AAWDDSLNGPV (N° de ID da SEQ: 85)
A-16 NA	tctggaagcaggtccaacatc ggaagtaattatgtatac (N° de ID da SEQ: 31)	aggaataatcagcggcc ctca (N° de ID da SEQ: 61)	gcagcatgggatga cagcctgagtaggc cggtg (N° de ID da SEQ: 86)
AA	SGRSNIGSNYVY (N° de ID da SEQ: 32)	RNNQRPS (N° de ID da SEQ: 62)	AAWDDSLSRPV (N° de ID da SEQ: 87)
A-17 NA	actgggagcagctccaacatc ggggcaggttatgctgtacac (N° de ID da SEQ: 33)	gataacaacaatcggcc ctca (N° de ID da SEQ: 63)	cagtcctatgacag cagcctgagtgcta ta (N° de ID da SEQ: 88)
AA	TGSSSNIGAGYAVH (N° de ID da SEQ: 34)	DNNNRP (N° de ID da SEQ: 64)	QSYDSSLIAI (N° de ID da SEQ: 89)

A-18 NA	aagtctagtcagagcctcctg catagtgatggaaagaactat ttgttt (N° de ID da SEQ: 35)	gaagtttcctaccggtt ctct (N° de ID da SEQ: 65)	atgcaaaatataca gcctcctctcacc (N° de ID da SEQ: 90)
AA	KSSQSLHSDGKNYLF (N° de ID da SEQ: 36)	EVSYRFS (N° de ID da SEQ: 66)	MQNIQPPLT (N° de ID da SEQ: 91)
A-19 NA	aggtctagtcagagcctcctg catagtaatggatacaactat ttggat (N° de ID da SEQ: 37)	ttgggttctaatcgggc ctcc (N° de ID da SEQ: 67)	atggaagctcttca aactatgtgcagt (N° de ID da SEQ: 92)
AA	RSSQSLHSHNGYNYLD (N° de ID da SEQ: 38)	LGSNRAS (N° de ID da SEQ: 68)	MEALQTMCS (N° de ID da SEQ: 93)
A-20 NA	cgggcaagtcagggcattaga aatgatttaggc (N° de ID da SEQ: 39)	gctgcatccagtttgca aagt (N° de ID da SEQ: 44)	ctacagcataatag ttaccctcgcagt (N° de ID da SEQ: 94)
AA	RASQGIRNDLG (N° de ID da SEQ: 14)	AASSLQS (N° de ID da SEQ: 45)	LQHNSYPRS (N° de ID da SEQ: 95)
A-21 NA	cgggcgagtcaggggtattagc agctggtttagcc (N° de ID da SEQ: 40)	gctgcatccagtttgca aagt (N° de ID da SEQ: 44)	caacaggctaacag tttcccgctcact (N° de ID da SEQ: 96)
AA	RASQGISSWLA (N° de ID da SEQ: 41)	AASSLQS (N° de ID da SEQ: 45)	QQANSFPLT (N° de ID da SEQ: 97)

A-22 NA	aggtctagtcagagcctcttg gatagagatgatggagacacc tatttggac (N° de ID da SEQ: 9)	acgctttcctatcgggc ctct (N° de ID da SEQ: 42)	atgcaacgtataga gtttccattcactt (N° de ID da SEQ: 98)
AA	RSSQSLDRDDGDTYLD (N° de ID da SEQ: 10)	TLSYRAS (N° de ID da SEQ: 43)	MQRIEFPFT (N° de ID da SEQ: 72)
A-23 NA	cgggcgagtcagggtattagc agctgggttagcc (N° de ID da SEQ: 40)	actgcatccactttgca aagt (N° de ID da SEQ: 69)	caacagtctaacag tttcccgtcact (N° de ID da SEQ: 99)
AA	RASQGISSWLA (N° de ID da SEQ: 41)	TASTLQS (N° de ID da SEQ: 70)	QQSNSFPLT (N° de ID da SEQ: 100)

CADEIAS PESADAS L1 a L23

Ab	CDR1	CDR2	CDR3
A-1 NA	agctatggcatgcac (N° de ID da SEQ: 101)	tctatatggtatgatgga agtaataaatattatgta gactccgtgaagggc (N° de ID da SEQ: 123)	cttggtggtggttttgactac (N° de ID da SEQ: 164)
AA	SYGMH (N° de ID da SEQ: 102)	SIWYDGSNKYYVDSVKG (N° de ID da SEQ: 124)	LGGGFDY (N° de ID da SEQ: 165)

A-2 NA	agctatggcatgcac (N° de ID da SEQ: 101)	tttatatggtatgatgga agtgaaaaatattatgta gactccgtgaagggc (N° de ID da SEQ: 125)	atgggagggcggtttgactac (N° de ID da SEQ: 166)
AA	SYGMH (N° de ID da SEQ: 102)	FIWYDGSEKYYVDSVKG (N° de ID da SEQ: 126)	MGGGFDY (N° de ID da SEQ: 167)
A-3 NA	agctatggcatgcac (N° de ID da SEQ: 101)	gttatgtggtatgatgga agtaataaagactatgta gactccgtgaagggc (N° de ID da SEQ: 127)	gaaaaagatcattacgacatt ttgactgggtataactactac tacggtctggacgtc (N° de ID da SEQ: 168)
AA	SYGMH (N° de ID da SEQ: 102)	VMWYDGSNKDYVDSVKG (N° de ID da SEQ: 128)	EKDHYDILTGYNNYYGLDV (N° de ID da SEQ: 169)
A-4 NA	agctatggcatgcac (N° de ID da SEQ: 101)	gttatgtggtatgatgga agtaataaagactatgta gactccgtgaagggc (N° de ID da SEQ: 127)	gaaaaagatcattacgacatt ttgactgggtataactactac tacggtctggacgtc (N° de ID da SEQ: 168)
AA	SYGMH (N° de ID da SEQ: 102)	VMWYDGSNKDYVDSVKG (N° de ID da SEQ: 128)	EKDHYDILTGYNNYYGLDV (N° de ID da SEQ: 169)
A-5 NA	acctatgggatgcac (N° de ID da SEQ: 103)	gttatatcagatgatgga agtcataaataactctgca gactccgtgaagggc (N° de ID da SEQ: 129)	gaggagacgtattacgatatt ttgactggctatcatcactac tacggtatggacgtc (N° de ID da SEQ: 170)

AA	TYGMH (N° de ID da SEQ: 104)	VISDDGSHKYSADSVKG (N° de ID da SEQ: 130)	EETYYDILTGYHHYYGMDV (N° de ID da SEQ: 171)
A-6 NA	agctatggcatgcac (N° de ID da SEQ: 101)	gaaatatggaatgatgga agtaataaatactatgca gactccgtgaagggc (N° de ID da SEQ: 131)	gagcctcagtattacgatatt ttgactgggttatgataactac tacggtatggacgtc (N° de ID da SEQ: 172)
AA	SYGMH (N° de ID da SEQ: 102)	EIWNDGSNKYYADSVKG (N° de ID da SEQ: 132)	EPQYYDILTGYDNYYGMDV (N° de ID da SEQ: 173)
A-7 NA	agctatggcatgcac (N° de ID da SEQ: 105)	gtgatatcacatgatgga agtgataaatactatgca gactccgtgaagggc (N° de ID da SEQ: 133)	gaaaaaccgtattacgatatt ttgactgggttatttctactac tatggatatggacgtc (N° de ID da SEQ: 174)
AA	SYDMH (N° de ID da SEQ: 106)	VISHDGS DKYYADSVKG (N° de ID da SEQ: 134)	EKPYYDILTGYFYYYGMDV (N° de ID da SEQ: 175)
A-8 NA	agctatggcatgcac (N° de ID da SEQ: 101)	ggtatatggtatgatgga aggaataaata ctatgtagactccgtgaa gggc (N° de ID da SEQ: 135)	ttagcagtggcctttgactac (N° de ID da SEQ: 176)
AA	SYGMH (N° de ID da SEQ: 102)	GIWYDGRNKYYVDSVKG (N° de ID da SEQ: 136)	LAVAFDY (N° de ID da SEQ: 177)

A-9 NA	agctatggcatgcac (N° de ID da SEQ: 101)	gttatgtggtatgatgga agtaataaagactatgta gactccgtgaagggc (N° de ID da SEQ: 127)	gaaaaagatcattacgacatt ttgactgggtataactactac tacggctctggacgtc (N° de ID da SEQ: 168)
AA	SYGMH (N° de ID da SEQ: 102)	VMWYDGSNKDYVDSVKG (N° de ID da SEQ: 128)	EKDHYDILTGYNNYYGLDV (N° de ID da SEQ: 169)
A-10 NA	agcaactatgctgct tggaac (N° de ID da SEQ: 107)	aggacatactacaggtcc aagtgggtataatgattat gcagtatctgtgagaagt (N° de ID da SEQ: 137)	gaagatggcagtggtggtac ggtgcttttgacatc (N° de ID da SEQ: 178)
AA	SNYAAWN (N° de ID da SEQ: 108)	RTYYRSKWYNDYAVSVRS (N° de ID da SEQ: 138)	EDGSGWYGAFDI (N° de ID da SEQ: 179)
A-11 NA	agctatgacatgcac (N° de ID da SEQ: 109)	tttatatcagatgatgga agtaataaatactatgga gactccgtgaagggc (N° de ID da SEQ: 139)	gatcaatacgaatattttgact ggttattcttctgatgctttt gatatc (N° de ID da SEQ: 180)
AA	SYDMH (N° de ID da SEQ: 106)	FISDDGSNKYYGDSVKG (N° de ID da SEQ: 140)	DQYDILTGYSSDAFDI (N° de ID da SEQ: 181)
A-12 NA	agctatgacatgcac (N° de ID da SEQ: 109)	tttatatcagatgatgga agtaataaatattatgga gactccgtgaagggc (N° de ID da SEQ: 141)	gatcaatacgaatattttgact ggttattcttctgatgctttt gatatc (N° de ID da SEQ: 180)

AA	SYDMH (N° de ID da SEQ: 106)	FISDDGSNKYYGDSVKG (N° de ID da SEQ: 140)	DQYDILTGYSSDAFDI (N° de ID da SEQ: 181)
A-13 NA	agctatgacatgcac (N° de ID da SEQ: 109)	gttatatcatatgatgga agtaataaatactatgga gactccgtgaagggc (N° de ID da SEQ: 142)	gatcaatacgatattttgact ggttattcttctgatgctttt gatatc (N° de ID da SEQ: 180)
AA	SYDMH (N° de ID da SEQ: 106)	VISYDGSNKYYGDSVKG (N° de ID da SEQ: 143)	DQYDILTGYSSDAFDI (N° de ID da SEQ: 181)
A-14 NA	aactatggcatgcac (N° de ID da SEQ: 110)	gttatatggtatgatgga agtaataaatactatgca gactccgtgaagggc (N° de ID da SEQ: 144)	gcctattacgatattttgact gattacccccagtatgactac tactacggtatggacgtc (N° de ID da SEQ: 182)
AA	NYGMH (N° de ID da SEQ: 111)	VIWYDGSNKYYADSVKG (N° de ID da SEQ: 145)	AYYDHTDYPQYDYYYGMDV (N° de ID da SEQ: 183)
A-15 NA	agctatggcatgcac (N° de ID da SEQ: 101)	cttatatcatttgatgga agtaataaatactatgca gactccgtgaagggc (N° de ID da SEQ: 146)	gatgggtattacgatattttg actggttatgaggatgatgct tttgatatc (N° de ID da SEQ: 184)
AA	SYGMH (N° de ID da SEQ: 102)	LISFDGSNKYYADSVKG (N° de ID da SEQ: 147)	DGYDILTGYEDDAFDI (N° de ID da SEQ: 185)

A-16 NA	ggctactatttgac (N° de ID da SEQ: 112)	tggatcatccctgacagt ggtggcacaaagtatgca cagaagtttcagggc (N° de ID da SEQ: 148)	gaagggtttcattacgatatt ttgactgggttcctacttctac tactacggtatggacgtc (N° de ID da SEQ: 186)
AA	GYYLH (N° de ID da SEQ: 113)	WIIPDSGGTKYAQKFQG (N° de ID da SEQ: 149)	EGFHYDILTGSYFYYYGMDV (N° de ID da SEQ: 187)
A-17 NA	agctatggtatcagt (N° de ID da SEQ: 114)	tggatcggcggtttacaat ggtcacacaaaatatgca cagaagttccagggc (N° de ID da SEQ: 150)	agggttagcagtggctgggtac tttgactac (N° de ID da SEQ: 188)
AA	SYGIS (N° de ID da SEQ: 115)	WIGVYNGHTKYAQKFQG (N° de ID da SEQ: 151)	RVAVAGYFDY (N° de ID da SEQ: 189)
A-18 NA	aagtctagtcagagc ctcctgcatagtgat ggaaagaactatttg ttt (N° de ID da SEQ: 116)	gaagtttcctaccggttc tct (N° de ID da SEQ: 152)	atgcaaaatatacagcctcct ctcacc (N° de ID da SEQ: 190)
AA	KSSQSLHSDGK NYLF (N° de ID da SEQ: 117)	VIWYDGSCHKYYEDSVKG (N° de ID da SEQ: 153)	VGYGSGWYEYYYHYGMDV (N° de ID da SEQ: 191)

A-19 NA	agctatggcatgcac (N° de ID da SEQ: 101)	attatatggtctgatgga attaacaaatactatgca gactccgtgaagggc (N° de ID da SEQ: 154)	gagagaggcctctacgatatt ttgactgggttattataactac tacgggtattgacgtc (N° de ID da SEQ: 192)
AA	SYGMH (N° de ID da SEQ: 102)	HWSDGINKYYADSVKG (N° de ID da SEQ: 155)	ERGLYDILTGYNYYGIDV (N° de ID da SEQ: 193)
A-20 NA	ggctataccttgaac (N° de ID da SEQ: 117)	aacattaatagtaggagt agtctcatatactacaca gactctgtgaagggc (N° de ID da SEQ: 156)	gatcagtataactggaactac tactacgggtatggacgtc (N° de ID da SEQ: 194)
AA	GYTLN (N° de ID da SEQ: 118)	NINSRSSLIYYTDSVKG (N° de ID da SEQ: 157)	DQYNWNYYYGMDV (N° de ID da SEQ: 195)
A-21 NA	agctatgccatgaac (N° de ID da SEQ: 119)	tacattggtagtagtagt agtgccatatactacgga gactctgtgaagggc (N° de ID da SEQ: 158)	tatagaagtggctgggtcccc ctctttgacttc (N° de ID da SEQ: 196)
AA	SYAMN (N° de ID da SEQ: 120)	YIGSSSSAIYYGDSVKG (N° de ID da SEQ: 159)	YRSGWSPLFDF (N° de ID da SEQ: 197)
A-22 NA	agctatggcatgcac (N° de ID da SEQ: 101)	tctatatggtatgatgga agtaataaatattatgta gactccgtgaagggc (N° de ID da SEQ: 160)	cttggtggtggttttgactac (N° de ID da SEQ: 164)

AA	SYGMH (N° de ID da SEQ: 102)	SIWYDGSNKYYVDSVKG (N° de ID da SEQ: 161)	LGGGFDY (N° de ID da SEQ: 165)
A-23 NA	agatatgccatgaac (N° de ID da SEQ: 121)	tacattggtagtagtagt agtgccatatactacgca gactctgtgaagggc (Nr de ID da SEQ:: 162)	Tatagcagtggtggtcccc ctctttgactac (N° de ID da SEQ:: 198)
AA	RYAMN (N° de ID da SEQ: 122)	YIGSSSSAIYYADSVKG (N° de ID da SEQ: 163)	YSSGWSPLFDY (N° de ID da SEQ: 199)

Sequências Consenso de CDR

Cadeia Leve CDR1

Grupo 1

RSSQSLLDRDDGDTYLD (N° de ID da SEQ: 10)

5 RSSQSLLDSADGDTYLD (N° de ID da SEQ: 12)

RSTQSLLDSDDGDTYLD (N° de ID da SEQ: 20)

X₁ X₂ X₃

R S S Q S L L D R D D G T Y T L D

T S A

10 i. R S X₁ Q S L L D X₂ X₃ D G T Y T L D (N° de ID da SEQ: 200)

X₁ é um resíduo de serina ou um resíduo de treonina,

X₂ é um resíduo de arginina ou um resíduo de serina,

X₃ é um resíduo de aspartato ou um resíduo de alanina,

Grupo 2

15 RASQDIRNDFG (N° de ID da SEQ: 18)

RASQGIRNDLG (N° de ID da SEQ: 14)

X₄ X₅

R A S Q G I R N D L G

D

F

ii. R A S Q X₄ I R N D X₅ G (N° de ID da SEQ: 201)

X₄ é um resíduo de glicina ou um resíduo de aspartato,

X₅ é um resíduo de leucina ou um resíduo de fenilalanina.

5 Grupo 3

SGDKLGDKYVC (N° de ID da SEQ: 24)

SGDKLGDKYAC (N° de ID da SEQ: 26)

X₆

S G D K L G D K Y V C

10

A

iii. S G D K L G D K Y X₆ C (N° de ID da SEQ: 202)

X₆ é um resíduo de valina ou um resíduo de alanina

Cadeia pesada de CDR1

Grupo 1

15 TYGMH- (N° de ID da SEQ: 104)

SYGMH- (N° de ID da SEQ: 102)

SYDMH- (N° de ID da SEQ: 106)

X ₇		X ₈		
S	Y	G	M	H
T		D		

i. X₇ Y X₈ M H (N° de ID da SEQ: 203)

X₇ é um resíduo de serina ou um resíduo de treonina

20 X₈ is um resíduo de glicina, ou um resíduo de aspartato,

Cadeia leve de CDR2

Grupo 1

AASSLQS (N° de ID da SEQ: 45)

AASSLES (N° de ID da SEQ: 50)

25

X₉

A A S S L Q S

E

i. A A S S L X₉ S (N° de ID da SEQ: 204)

X₉ is um resíduo de glutamina ou um resíduo de glutamato,

5 Grupo 2

QTSKRPS (SEQ ED NO: 54)

QSTKRPS (SEQ ED NO: 56)

X₁₀ X₁₁

Q T S K R P S

10 S T

ii. Q X₁₀ X₁₁ K R P S (N° de ID da SEQ: 205)

X₁₀ é um resíduo de serina ou um resíduo de treonina,

X₁₁ é um resíduo de treonina ou um resíduo de serina,

Cadeia pesada de CDR2

15 Grupo 1

SIWYDGSNKYYVDSVKG (N° de ID da SEQ: 124)

FIWYDGSEKYYVDSVKG (N° de ID da SEQ: 126)

VIWYDGSNKYYADSVKG (N° de ID da SEQ: 145)

EIWNDGSNKYYADSVKG (N° de ID da SEQ: 132)

20 X₁₂ X₁₃ X₁₄ X₁₅
S I W Y D G S N K Y Y V D S V K G
F N E A

V

E

25 i. X₁₂ I W X₁₃ D G S X₁₄ K Y Y X₁₅ D S V K G (N° de ID da SEQ: 206)

X₁₂ é um resíduo de serina, um resíduo de fenilalanina, um resíduo de valina, ou um resíduo de glutamato,

X₁₃ é um resíduo de tirosina ou um resíduo de asparagina,

X₁₄ é um resíduo de aspargina ou um resíduo de glutamato,

X₁₅ é um resíduo de valina ou um resíduo de alanina,

Grupo 2

VISHDGS DKYYADSVKG (N° de ID da SEQ: 134)

5 FISDDGS NKYYGDSVKG (N° de ID da SEQ: 140)

VISYDGS NKYYGDSVKG (N° de ID da SEQ: 143)

VISDDGS HKYSADSVKG (N° de ID da SEQ: 130)

X₁₆ X₁₇ X₁₈ X₁₉ X₂₀

V I S H D G S D K Y Y A D S V K G

10 F D N S G

Y H

ii. X₁₆ I S X₁₇ D G S X₁₈ K Y X₁₉ X₂₀ D S V K G (N° de ID da SEQ: 207)

X₁₆ é um resíduo de valina ou um resíduo de fenilalanina,

15 X₁₇ é um resíduo de histidina, um resíduo de aspartato, ou um resíduo de tirosina,

X₁₈ é um resíduo de aspartato, um resíduo de asparagina, ou um resíduo de histidina,

X₁₉ é um resíduo de tirosina ou um resíduo de serina,

20 X₂₀ é um resíduo de alanina ou um resíduo de glicina,

Cadeia leve de CDR3

Grupo 1

LQHNSDPLT (N° de ID da SEQ: 76)

LQQNSYPLT (N° de ID da SEQ: 80)

25 LQHNSNPLT (N° de ID da SEQ: 74)

X₂₁ X₂₂

L Q H N S N P L T

Q D

Y

i. L Q X₂₁ N S X₂₂ P L T (N° de ID da SEQ: 208)

X₂₁ é um resíduo de histidina, ou um resíduo de glutamina,

X₂₂ é um resíduo de aspargina, um resíduo de aspartato, ou um resíduo de tirosina,

Grupo 2

QAWDSNTVI (N° de ID da SEQ: 78)

QAWDSSTVV (N° de ID da SEQ: 80)

$$X_{23}$$
 X_{24}

10 Q A W D S N T V I

§

V

ii. Q A W D S X₂₃ T V X₂₄ (N° de ID da SEQ: 209)

X₂₃ é um resíduo de aspargina ou um resíduo de serina,

X₂₄ é um resíduo de isoleucina ou um resíduo de valina,

15 Cadeia pesada de CDR3

Grupo 1

EKDHYDILTGYNNYYGLDV (N° de ID da SEQ: 169)

EETYYDHTGYHHYYGMDV (N° de ID da SEQ: 171)

EPQYYDELTGYDNYYGMDV (N° de ID da SEQ: 173)

20 EKPYYDILTGYFYYYGMDV (N° de ID da SEQ: 175)

X₂₅ X₂₆ X₂₇

X₂₈ X₂₉ X_{30}

E K D H Y D I L T G Y N Y Y Y G L D V

E T Y

H H

M

P	Q
T	T
T	F
F	T
F	F

D N

25 P

F

i. E X₂₅ X₂₆ X₂₇ Y D I L T G Y X₂₈ X₂₉ Y Y G X₃₀ D V (N° de ID da
SEQ: 210)

X₂₅ é um resíduo de lisina, um resíduo de glutamato, ou um resíduo

de prolina,

X₂₆ é um resíduo de aspartato, um resíduo de treonina, um resíduo de glutamina, ou um resíduo de prolina,

X₂₇ é um resíduo de histidina ou um resíduo de tirosina,

5 X₂₈ é um resíduo de asparagina, um resíduo de histidina, um resíduo de aspartato, ou um resíduo de a fenilalanina,

X₂₉ é um resíduo de tirosina, um resíduo de histidina, ou um resíduo de asparagina,

X₃₀ é um resíduo de leucina ou um resíduo de metionina,

10 Grupo 2

LGGGFDY (N° de ID da SEQ: 165)

MGGGFDY (N° de ID da SEQ: 167)

X₃₁

L G G G F D Y

15 M

ii. X₃₁ G G G F D Y (N° de ID da SEQ: 211)

X₃₁ é um resíduo de leucina ou um resíduo de metionina.

Em um outro aspecto, a presente invenção provê proteínas de ligação a antígeno que consistem em uma região variável da cadeia leve selecionada do grupo consistindo em L1-L23 ou uma região variável da cadeia pesada selecionada do grupo consistindo em H1-H23 e fragmentos, derivados, muteínas e variantes dos mesmos. Essa proteína de ligação a antígeno pode ser denotada usando a nomenclatura "LxHy", onde "x" corresponde ao número da região variável da cadeia leve e "y" corresponde ao número da região variável da cadeia pesada. Por exemplo, L2H1 refere-se a uma proteína de ligação a antígeno com uma região variável da cadeia leve consistindo na sequência de aminoácidos de

L2 e uma região variável da cadeia pesada consistindo na sequência de aminoácidos de H1 como mostra a Tabela 3 abaixo. As regiões CDR e estruturais de cada uma dessas sequências de domínios variáveis são também identificadas na Tabela 3 abaixo. As proteínas de
 5 ligação a antígeno da invenção incluem, por exemplo, anticorpos com uma combinação de domínios variáveis da cadeia leve e da cadeia pesada selecionados do grupo de combinações consistindo em L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18,
 10 L19H19, L20H20, L21H21, L22H22 e L23H23. Em uma configuração, os anticorpos são os anticorpos humanos.

A Tabela 3 abaixo também provê as sequências de polinucleotídeos (DNA) que codificam as sequências de aminoácidos do domínio variável leve e domínio variável pesado para os
 15 anticorpos anti-GCGR exemplares.

TABELA 3

Sequências de Polinucleotídeos de Regiões Variáveis Anti-GCGR e Sequências de Aminoácidos.

Polinucleotídeos de Região Variável de Cadeia

20 Leve e Sequência de Aminoácido

L1 (A-1)

gatattgtgctgacccagactccactctccctgcccgtcaccctggagagccggcctccatctcc
 tgcaggtctagtcagagcctcttgatagagatgatggagacacctatcttgactgggtacctgcag
 aagccagggcagtcctccacagctcctgatctatacgctttcctatcgggcctctggagtcccagac
 25 aggttcagtgggcagtgggtcaggcactgatttctcactgaaaatcagcaggggtggaggctgaggat
 gttggagtttattactgcatgcaacgtatagagtttccattcactttccattcactttcggccctg
 ggaccaaagtggatatcaaa (N° de ID da SEQ: 212)

DIVLTQTPLSLPVTPEGPASISCRSSQSLDRDDGDTYLDWYLQKPGQSPQLLIYTL^{SYRAS}GV^{PD}

RFSGSGSGTDFSLKISRVEAEDVGVIYCMQRIEFPFTFGPGTKVDIK (N° de ID da SEQ: 213)

L2 (A-2)

agactccacctctcctgcccgtcacccctggagagccggcctccatctcctgcaggtctagtcaga
 5 gcctcttggatagtgctgatggagacacctatttggactggtacctgcagaagccagggcagtcctc
 cacagctcctgatctatacgcctttcctatcgggcctctggagtcccagacaggttcagtggcagtg
 ggtcagacactgatttctcactgaaaatcagcaggggtggaggctgaggatggttgagtttattact
 gcatgcaacgtatagagtttccattcacttttcggccctgggaccaagtggatatcaaa

(N° de ID da SEQ: 214)

10 DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLDSADGDTYLDWYLQKPGQSPQLLIYTL^{SYRAS}GVDP
 RFSGSGSDTDFSLKISRVEAEDVGVIYCMQRIEFPFTFGPGTKVDIK (N° de ID da SEQ: 215)

L3 (A-3)

gcatccagatgaccagtcctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcactt
 15 gccgggcaagtcagggcattagaaatgatttaggctggtatcagcagaaaccagggaaagccccta
 agcgcctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtggggctccatcaagggttcagcggcagtggtat
 ctgggacagaattcactctcacaatcagcagtgctgcagcctgaagattttgtaacttattactgtc
 tacagcataatagtaaccctctcacttttcggcggaggggaccaaggtggagatcaaa

(N° de ID da SEQ: 216)

20 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSG
 SGTEFTLTISVQPEDFVITYCLQHNSNPLTFGGGTKVEIK (N° de ID da SEQ: 217)

L4 (A-4)

gacatccagatgaccagtcctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcact
 tgccgggcaagtcagggcattagaaatgatttaggctggtatcagcagaaaccagggaaagcccct
 25 aagcgcctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtggggctccatcaagggttcagcggcagtgga
 tctgggacagaattcactctcacaatcagcagtgctgcagcctgaagattttgcaacttattactgt
 ctacagcataatagtaaccctctcacttttcggcggaggggaccaaggtggagatcaaa

(N° de ID da SEQ: 218)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAAASSLQSGVPSRFSSGSG
SGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSNPLTFGGGKVEIK (N° de ID da SEQ: 219)

L5 (A-5)

gacatccagatgaccagtcctccatcctccctgtctgcatttgtaggagacagagtcaccatcact
5 tgccgggcaagtcagggcattagaaatgatttaggctggtatcagcagaaaccagggaagccct
aagcgcctgctctatgctgcctccagtttgcaaagtggggtcccatcaaggttcagcggcagtggg
tctgggtcagaattcactctcacaatcagcagcctgcagcctgaagattttgcaacttattactgt
ctacagcataatagtgaccgcctcaccttcggccaagggacacgactggagattaaa

(N° de ID da SEQ: 220)

10 DIQMTQSPSSLSAFVGDRVITITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLLYAAASSLQSGVPSRFSSGSG
SGSEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSDPLTFGQGTRLEIK (N° de ID da SEQ: 221)

L6 (A-6)

gaaattgtgttgacgcagtcctccaggcaccctgtctttgtttccaggggaaagagccaccctctcc
tgccaggccagtcagagtgtagcagcaactacttagcctggtagcagcagaaatctggccaggct
15 cccaggctcctcatctatgggtgcatccagcagggccactggcatcccagacaggttcagtggcagt
gggtctgggacagacttcactctcaccatcagcagactggagcctgaagattttgcagtggtattac
tgtcaacaatatggtaactcaccattcactttcggccctgggaccaatgtggatatcaaa

(N° de ID da SEQ: 222)

EIVLTQSPGTLSLFPGERATLSCRASQSVSSNYLAWYQQKSGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGS
20 GSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGNSPFTFGPGTNVDIK (N° de ID da SEQ: 223)

L7 (A-7)

gacatccagatgaccagtcctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccgtcact
tgccgggcaagtcaggacattagaaatgattttggctggtagcagaaaaaccagggaagccct
aagcgcctgatctatgctgcatccagtttacaagtggggtcccatcaaggttcagcggcagtgga
25 tctgggacagaattcactctcacaatcagcagcctgcagcctgaagattttgcaacttattactgt
ctacagaaaatagttaccgcctcactttcgggggagggaccaagggtggaaatcaaa (N° de ID

da SEQ: 224)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTVTCRASQDIRNDFGWYQQKPGKAPKRLIYAAASSLQSGVPSRFSSGSG

SGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQQNSYPLTFGGGTKVEIK (N° de ID da SEQ: 225)

L8 (A-8)

gatattgtgatgaccagactccactctccctgcccgtcacccctggagagccggcctccatctcc
 tgcaggtctactcagagcctcttgatagtgatgatggagacacctatattggactggtacctgcag
 5 aagccggggcagctctccacagctcctgatctatacgctttcctatcgggcctctggagctccagac
 aggttcagtggtcagtggtcaggcactgatttcacactgaaaatcagcaggggtggaggctgaggat
 gttggagtttattactgcatgcaacgtatagagtttccattcactttcggccctgggaccaaagtg
 gatatcaaa (N° de ID da SEQ: 226)

DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSTQSLLDSDDGDTYLDWYLQKPGQSPQLLIYTLASYRASGVPD

10 RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQRIEFPFTFGPGTKVDIK (N° de ID da SEQ:
 227)

L9 (A-9)

gacatccagatgaccagctctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcact
 tgccgggcaagtcagggcattagaaatgatttaggctgggtatcagcagaaaccagggaagccct
 15 aagcgctgatctatgctgcatccagtttgaaagtgggggtcccatcaagggttcagfggcagtgga
 tctgggacagaattcactctcacaatcagcagtggtgcagcctgaagattttgtaacttattactgt
 ctacagcataatagtaaccctctcactttcggcggaggggaccaaggtggagatcaaa
 (N° de ID da SEQ: 228)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLESQVPSRFSGSG

20 SGTEFTLTISSVQPEDFVTTYCLQHNSNPLTFGGGTKVEIK (N° de ID da SEQ: 229)

L10 (A-10)

gacatccagatgaccagctctccatcctccctgtctgcatctgtgggagacagagtcaccatcact
 tgccaggcgagtcaggacattagtaagtatttaaattgggtatcagcagaaaccagggaagccct
 aagctcctcatctacgatgcatccaatttgaaacaggggtcccatcaagggttcagtggaagtga
 25 tctgggacagattttactttcaccatcagcagcctgcagcctgaagatattgcaacatattactgt
 caacagtatggtaatctcccgatcaccttcggccaaggggacacgactggagagtaaa
 (N° de ID da SEQ: 230)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISKYNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSG

SGTDFTFITISSLOPEDIATYYCQQYGNLPITFGQGTRLESK (N° de ID da SEQ: 231)

L11 (A-11)

tcctatgagctgactcagccaccctcagtgtccgtgtccccaggacagacagccagcatcacctgc
tctggagataaattgggggataaatatgtttgctgggtatcagcagaagccaggccaggtcccctgtg
 5 ctggtcatctatcaaacttccaagcgccctcagggatccctgagcggttctctggctccaactct
 gggaacacagccactctgaccatcagcgggaccaggctatggatgaggctgactattactgtcag
gcgtgggacagcaacactgtgattttcggcggagggaaccaagctgaccgtccta

(N° de ID da SEQ: 232)

SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYVCWYQQKPGQSPVLVIYQTSKRPSGIPERFSGSNS

10 GNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSNTVIFGGGTKLTVL (N° de ID da SEQ: 233)

L12 (A- 12)

tcctatgagctgactcagccaccctcagtgtccgtgtccccaggacagacagccagcatcacctgc
tctggagataaattgggggataaatatgtttgctgggtatcagcagaagccaggccaggtcccctgtg
 ctggtcatctatcaaacttccaagcgccctcagggatccctgagcggttctctggctccaactct
 15 gggaacacagccactctgaccatcagcgggaccaggctatggatgaggctgactattactgtcag
gcgtgggacagcagcactgtggttttcggcggagggaaccaagctgaccgtccta

(N° de ID da SEQ: 234)

SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYVCWYQQKPGQSPVLVIYQTSKRPSGIPERFSGSNS

GNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTVVFGGTKLTVL (N° de ID da SEQ: 235)

20 L13 (A- 13)

tcctatgagctgactcagccaccctcagtgtccgtgtccccaggacagacagccagcatcacctgc
tcteeaeataaattgeggataaatatgcttgctgggtatcagcagaagccaggccaggtcccctgta
 ctggtcatctatcaatctaccaagcgccctcagggatccctgagcggttctctggctccaactct
 gggaacacagccactctgaccatcagcgggaccaggctatggatgaggctgactattactgtcag
 25 gcgtgggacagcagcactgtggtatttcggcggagggaaccaagctgaccgtccta

(N° de ID da SEQ: 236)

SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQQKPGQSPVLVIYQSTKRPSGIPERFSGSNS

GNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTVVFGGTKLTVL (N° de ID da SEQ: 237)

L14 (A- 14)

at tt t t a t g c t g a c t c a g c c c c a c t c t g t g t c g g a g t c t c c g g g g a a g a c g g t a a c c a t c t c c t g c a
c c c g c a g c a g t g g c a g c a t t g t c a g c a a c t t t g t g c a a t g g t a c c a g c a g c g c c c g g g c a g t t c c c
 c c a c c a c t g t g a t c t a t g a g g a t a a c c a a g a c c c t c t g g g g t c c c t g a t c g g t t c t c t g g c t c c a
 5 t c g a c a g c t c c t c c a a c t c t g c c t c c c t c a c c a t c t c t g g a c t g a a g a c t g a g g a c g a g g c t g a c t
 a c t a c t g t c a g t c t t a t g a t a c c a g c a a t c a g g t g t t c g g c g g a g g g a c c a a g c t g a c c g t c c t g
 (N° de ID da SEQ: 238)

N F M L T Q P H S V S E S P G K T V T I S C T R S S G S I V S N F V Q W Y Q Q R P G S S P T T V I Y E D N Q R P S G V P D R F S G S
 I D S S S N S A S L T I S G L K T E D E A D Y Y C Q S Y D T S N Q V F G G G T K L T V L (N° de ID da SEQ:
 10 239)

L15 (A-15)

c a g t c t g t c c t g a c t c a g c c a c c c c c a g c g t c t g g g a c c c c c g g g c a g a g g g t c a c c a t c t c g t g t
a c t g g a a t c a c c t c c a a c a t c g g a a g c a a t a c t g t a c a c t g g t a c c a g c a g t t c c c a g g a a c g g c c
 c c c a a a c t c c t c a t c t a t a g t a a t a a t c a g c g g c c c t c a g g g g t c c c t g a c c g a t t c t c t g g c t c c
 15 a a g t c t g g c a c c t c a g c c t c c c t g g c c a t c a g t g g g c t c c a g t c t g a g g a t g a g g c t g a t t a t t a c
 t g t g c a g c a t g g g a t g a c a g c c t g a a t g g t c c g g t g t t c g g c g g a g g g a c c a a g c t g a c c g t c c t a
 (N° de ID da SEQ: 240)

Q S V L T Q P P P A S G T P G Q R V T I S C T G I T S N I G S N T V H W Y Q Q F P G T A P K L L I Y S N N Q R P S G V P D R F S G S
 K S G T S A S L A I S G L Q S E D E A D Y Y C A A W D D S L N G P V F G G G T K L T V L (N° de ID da SEQ:
 20 241)

L16 (A-16)

c a g t c t g t g c t g a c t c a g c c a c c c t c a g c g t c t g g g a c c c c c g g g c a g a g g g t c a c c a t c t c t t g t
t c g g a a g c a g g t c c a a c a t c g g a a g t a a t a t g t a t a c t g g t a c c a a c a g c t c c c a g g a a c g g c c c
 c c a a a c t c c t c a t c t a t a g g a a t a a t c a g c g g c c c t c a g g g g t c c c t g a c c g a t t c t c t g g c t c c a
 25 a g t c t g g c a c c t c a g c c t c c c t g g c c a t c a g t g g g c t c c g g t c c g a g g a t g a g g c t g a t t a t t a c t
 g t g c a g c a t g g g a t g a c a g c c t g a g t a g g c c g g t a t t c g g c g g a g g g a c c a a g c t g a c c g t c c t a
 (N° de ID da SEQ: 242)

Q S V L T Q P P S A S G T P G Q R V T I S C S G S R S N I G S N Y V Y W Y Q Q L P G T A P K L L I Y R N N Q R P S G V P D R F S G S

KSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSRPVFGGGTKLTVL (N° de ID da SEQ:
243)

L17 (A-17)

cagtctgtgctgacgcagccgccctcagtgtctggggccccagggcagagggtcaccatctcctgc
5 actgggagcagctccaacatcggggcaggttatgctgtacactggtaccagcagcttccaggaaca
gccccaaactcctcatctatgataacaacaatcgccctcaggggtccctgaccgattctctggc
tccaagtctggcacctcagcctccctggccatcactgggctccaggctgaggatgaggctgattat
tactgccagtcctatgacagcagcctgagtgtatattcggcggagggaccaagctgaccgtccta
(N° de ID da SEQ: 244)

10 QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYAVHWYQQLPGTAPKLLIYDNNNRPSGVPDRFSG
SKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSAIFGGGTKLTVL (N° de ID da SEQ:
244)

L18 (A-18)

aatattgtgatgaccagactccactctctctgtccgtcaccctggacagccggcctccatctcc
15 tgcaagtctagtcagagcctcctgcatagtgatggaaagaactatttgttttggtacctacagaag
ccaggccagctctccacagctcctgatctatgaagtttctaccggttctctggatgccagataggt
tcagtggcagcgggtcaggacagatttctcattgaaaatcagccgggtggaggctgaggatgttg
gggtttattactgcatgcaaaatatacagcctcctctcaccttcggccaagggacacgactggaga
ttaaa (N° de ID da SEQ: 246)

20 NIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLHSDGKNYLFWYLQKPGQSPQLLIYEVSYRFSGVPDR
FSGSGSGTDFSLKISRVEAEDVGVIYCMQNIQPPLTFGQGTRLEIK (N° de ID da SEQ:
247)

L19 (A-19)

ggattgtgctgactcagtctccactctccctgcccgtcaccctggagagccggcctccatctcc
25 tgcagggtctaetcagagcctcctgcatagtaatggatacaactatttggattgggtacttgcaagaag
ccagggcagctctccgcagctcctgatctatttgggttctaatcgggcctccgggggtccctgacagg
ttcagtggcagtggtatcaggcacagattttacactgaaaatcagcagagtgaggctgaggatgtt
ggggtttattactgcatggaagctcttcaaaactatgtgcagttttggccaggggaccaagctggag

atcaag (N° de ID da SEQ: 248)

GIVLTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDR
FSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMEALQTMCSFGQGTKLEIK (N° de ID da SEQ:
249)

5 L20 (A-20)

gacatccagatgaccagtcctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcact
tgccgggcaagtcagggcattagaaatgatttaggctgggtatcagcagaaaccagggaagccct
aagcgctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtgggggtcccatctagggtcagcggcagtgga
tctgggacagaattcactctcacaatcagcaacctgcagcctgaagattttgcaacttattactgt
10 ctacagcataatagttaccctcgagttttggccaggggaccaagctggagatcaaa (N° de
ID da SEQ: 250)

DIMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS
GTEFTLTISNLQPEDFATYYCLOHNSYPRSFQGTKLEIK (N° de ID da SEQ: 251)

L21 (A-21)

15 gacatccagatgaccagtcctccatcttccgtgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcact
tgtcgggcgagtcaggggtattagcagctgggttagcctgggtatcagcagaaaccagggaagccct
aagctcctaattctatgctgcatccagtttgcaaagtgggggtcccatcacgggtcagcggcagtgga
tctgggacagatttactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagattttgcaacttactattgt
caacaggctaacagtttcccgctcactttcggcggagggaaccaaggtggagatcaaa (N° de
20 ID da SEQ: 252)

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISLQPEDFATYYCQANSFPLTFGGGTKVEIK (N° de ID da SEQ: 253)

L22 (A-22)

gatattgtgctgaccagactccactctccctgcccgtcaccctggagagccggcctccatctcc
25 tgcaggtctagtcagagcctcttgatagagatgatggagacacctatttgactggtacctgcag
aagccagggcagtcctcacagctcctgatctatacgccttcctatcgggcctctggagtcccagac
agggtcagtgggcagtgggtcaggcactgatttctcactgaaaatcagcaggggtggaggctgaggat
gttgagtttattactgcatgcaacgtatagagtttccattcactttcggcctgggaccaaaagtg

gatatcaaa (N° de ID da SEQ: 254)

DIVLTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLDRDDGDTYLDWYLQKPGQSPQLLIYTL^{SYRASGVPD}
RFSGSGSGTDFSLKISRVEAEDVG^{VYYCMQRIEFPFTFGPGTKVDIK} (N° de ID da SEQ:
255)

5 L23 (A-23)

gacatccagatgacccagtctccatcttccgtgtctgcgtctgtaggggacagagtcacccatcact
tgtcgggcgagtcaggggtattagcagctgggttagcctgggtatcagcagaaaccagggaaagccct
aagctcctgatctatactgcatccactttgcaaagtgggggtcccatcaaggttcagcggcagtgga
tctgggacagatttcactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagattttgcaacttactattgt

10 caacagtctaacagtttcccgctcactttcggcggagggaccaaggtggagatcaaa (N° de
ID da SEQ: 256)

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYTASTLQSGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNSFPLTFGGGTKVEIK (N° de ID da SEQ: 257)

Polinucleotídeos de Região Variável de Cadeia Pesada e Sequência
15 de Aminoácido

H1 (A-1)

caggtgcagctggtggagctctgggggagggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgt
gcagcgtctggaatcaccttcagtagctatggcatgcactgggtccgccagggtccaggcaagggg
ctggagtggtggcatctatatgggtatgatggaagtaataaatattatgtagactccgtgaagggc

20 cgattcaccatcttcagagacaattccaagaaaacgctgtatctgcaaatgaacaggctgagagcc
gaggacacggctgtgtattactgtgcgagacttggtgggtgggttttgactactggggccagggaacc
ctggtcaccgtctcctca (N° de ID da SEQ: 258)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGITFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVASIWYDGSNKYYVDSVKG
RFTIFRDNSKKTLYLQMNRLRAEDTAVYYCARLGGGFDYWGQGLTVTVSS (N° de ID da

25 SEQ: 259)

H2 (A-2)

caggtgcaactggtggagctctgggggagggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgt
gcagcgtctggaatcaccttcagtagctatggcatgcactgggtccgccagggtccaggcaagggg

ctggagtggggtggcatttatatggtatgatggaagtgaaaaatattatgtagactccgtgaagggc
cgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagtctgagagcc
gaggacacggctgtgtattactgtgcgagaaatgggaggcggtttgactactggggccaggggaacc
ctggtcaccgtctcctca (N° de ID da SEQ: 260)

5 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGITFSSYGMHWVRQGPGLGLEWVAFIWDGSEKYYVDSVKG
RFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARMGGGFDYWQGTLVTVSS (N° de ID da
SEQ: 261)

H3 (A-3)

caggtgcagctggtggagtctgggggaggcggtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgt
10 gcagcgtctggattcaccttcagtagctatggcatgcactgggtccgccagggtccaggcaagggg
ctggagtggggtggcagttatgtggtatgatggaagtaataaagactatgtagactccgtgaagggc
cgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaaccgcctgagagcc
gaggacacggctgtgtattactgtgcgagagaaaaagatcattacgacattttgactgggtataac
tactactacggtctggacgtctggggccaagggaccacgggtcaccgtctcctca

15 (N° de ID da SEQ: 262)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKLEWVAVMWYDGSNKDYVDSVKG
RFTISRDN SKNTLYLQMN RLRAEDTAVYYCAREKDH YDILTGYNYYYGLDVGQGT TVTVSS

(N° de ID da SEQ: 263)

H4 (A-4)

caggtgcagctggtggagtctgggggaggcggtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgt
20 gcagcgtctggattcaccttcagtagctatggcatgcactgggtccgccagggtccaggcaagggg
ctggagtggggtggcagttatgtggtatgatggaagtaataaagactatgtagactccgtgaagggc
cgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaaccgcctgagagcc
gaggacacggctgtgtattactgtgcgagagaaaaagatcattacgacattttgactgggtataac
25 tactactacggtctggacgtctggggccaagggaccacgggtcaccgtctcctcagcctccaccaag
ggcccatcggtcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagcgccctgggc
tgccct (N° de ID da SEQ: 264)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKLEWVAVMWYDGSNKDYVDSVKG

RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREKDH YDILT GYN1YYYGLDVWGQGTTVTVSS

(N° de ID da SEQ: 265)

H5 (A-5)

caggtgcagctggttgagttctgggggagggcgtgggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgt
gcagcctctggattcaccttcagtacctatgggatgcactgggtccgccagggtccaggcaagggc
ctggagtgggtggcagttatatcagatgatggaagtcataaatactctgcagactccgtgaagggc
cgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagaact
gaggactcggctgtgtattactgtgcgagagaggagacgtattacgatattttgactggctatcat
cactactacggtatggacgtctggggccaagggaaccacgggtcacctgtctctca

10 (N° de ID da SEQ: 266)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISDDGSHKYSADSVKG
RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRTEDSAVYYCAREETYYDILTGYHHYYGMDVWGQGTTTVTVSS

(N° de ID da SEQ: 267)

H6 (A-6)

15 caggtgcagctggtggagctctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgt
gcagcgtctggattcaccttcagtagctatggcatgcactgggtccgccaggctccagggaagggg
ctggagtggggtggcgaaaatatggaatgatggaagtaataaatactatgcagactccgtgaagggc
cgattcaccatctccagagacaatccaagaacacgctgtatctgcaaataaacagcctgagagcc
gaggacacggctgtgtattattgtgcgagagagcctcagtattacgatattttgactgggttatgat
20 aactactacgggtatggacgtctggggccaagggaccacggtcaccgctctcctca

(N° de ID da SEQ: 268)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAEIWNDGSNKYYADSVKG
RFTISRDNPKNLTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREPQYYDILTGYDNYGMDVWGQGTTT¹TVSS

(N° de ID da SEQ: 269)

25 H7 (A-7)

caggtgcagctggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgt
gcagcgtctggattcaccttcagtagctatggcatgcactgggtccgccagggtccaggcaagggg
ctggagtggggtggcagaaatatggaatgatggaagtaataaatactatgcagactccgtgaagggc

cgattcaccatctccagagacaatcccaagaacacgctgtatctgcaaataaacagcctgagagcc
gaggacacggctgtgtattattgtgcgagagagcctcagtattacgatattttgactgggttatgat
aactactacgggtatggacgtctggggccaagggaccacgggtcacctctcctca

(N° de ID da SEQ: 270)

5 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAEIIWNDGSNKYYADSVKG
RFTISRDNPKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREPQYYDILTGYDNYYGMDVWGQGTTVTVSS

(N° de ID da SEQ: 271)

H8 (A-8)

caggtgcagttggcggagctctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgt
10 acagcgtctggaatcaccttcagtagctatggcatgcactgggtccgccagggtccaggcaagggg
ctggagtgggtggcaggtatatggtatgatggaaggaataaataactatgtagactccgtgaagggc
cgattcaccatctccagagacaattccaagaaaacgctgtatctgcaaataaacagcctgagagcc
gaggacacggctgtgtattactgtgcgaggttagcagtggcctttgactactggggccagggaact
ttggtcacctctcctca (N° de ID da SEQ: 272)

15 QVQLAESGGGVVQPGRSLRLSCTASGITFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAGIWYDGRNKYYVDSVKG
RFTISRDNPKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAVAFDYWGQGTLVTVSS (N° de ID da
SEQ: 273)

H9 (A-9)

caggtgcagctggtggagctctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgt
20 gcagcgtctggattcaccttcagtagctatggcatgcactgggtccgccagggtccaggcaagggg
ctggagtgggtggcagttatgtggtatgatggaagtaataaagactatgtagactccgtgaagggc
cgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaataaacgcctgagagcc
gaggacacggctgtgtattactgtgcgagagaaaaagatcattacgacattttgactgggtataac
tactactacgggtctggacgtctggggccaagggaccacgggtcacctctcctca

25 (N° de ID da SEQ: 274)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVMWYDGSNKDYVPSVKG
RFTISRDNPKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREKDHYDILTGYNYYYGLDVWGQGTTVTVSS

(N° de ID da SEQ: 275)

H10 (A-10)

caggtacagctgcagcagtcaggtccaggactggtgaggccctcgcagaccctctcactcacctgt
gccatctecggggacagtgtctcttagcaactatgctgcttggaactggatcaggcagtccccatcg
agaggccttgagtggctgggaaggacatactacaggtccaagtggtataatgattatgcagtatct
5 gtgagaagtcgaacaacccatcaacccagacacatccaagaaccagttctccctgcagttgaactct
gtgactcccaggacacggctgtgtattactgtacaagagaagatggcagtggtggtacgggtgct
tttgacatctggggccaagggaaatgggtcacctgtctcttca (N° de ID da SEQ: 276)
QVQLQQSGPGLVRPSQTL~~SLT~~CAISGDSVSSNYAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVS
VRSRTTINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCTREDGSGWYGAFDIWGQGMVTVSS

10 (N° de ID da SEQ: 277)

H11 (A-11)

caggtgcaactggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgt
gcagcctctgggagcaccttcagaagctatgacatgcactgggtccgccaggctccaggcaagggg
ctggagtgggtggcatttatatcagatgatggaagtaataaactatggagactccgtgaagggc
15 cgattgaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagct
gaggacacggctgtgtattactgtgagagatcaatacgatattttgactgggttattcttctgat
gcttttgatatctggggccaagggaaatgggtcacctgtctcttc (N° de ID da SEQ:
278)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGSTFRSYDMHWVRQAPGKGLEWVAFISDDGSNKYYGDSVKG
20 RLTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQYDILTGYSSDAEDIWGQGMVTVSS

(N° de ID da SEQ: 279)

H12 (A-12)

caggtgcaactggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgt
gcagcctctgggagcaccttcagaagctatgacatgcactgggtccgccaggctccaggcaagggg
25 ctggagtgggtggcatttatatcagatgatggaagtaataatattatggagactccgtgaagggc
cgattgaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagct
gaggacacggctgtgtattattgtgagagatcaatacgatattttgacgggttattcttctgatg
cttttgatatctggggccaagggaaatgggtcacctgtctcttca (N° de ID da SEQ:

280)

VQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGSTFRSYDMHWVRQAPGKGLEWVAFISDDGSNKYYGDSVKGR
LTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQYDILTGYSSDAFDIWGQGTMTVTVSS

(N° de ID da SEQ: 281)

5 H13 (A-13)

caggtgcagctggtggagctctgggggaggcggtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgt
gcagcctctggaagcaccttcagaagctatgacatgcactgggtccgccagggtccaggcaagggg
ctggagtggtggcagttatatcatatgatggaagtaataaataactatggagactccgtgaagggc
cgattgaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagct
10 gaggacacggctgtgtattactgtgcgagagatcaatacgatattttgactggttattcttctgat
gcttttgatatctggggccaagggacaatggtcaccgtctcttca (N° de ID da SEQ:
282)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGSTFRSYDMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYGDSVKG
RLTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQYDILTGYSSDAFDIWGQGTMTVTVSS

15 (N° de ID da SEQ: 283)

H14 (A-14)

caggtgcagctggtggagctctgggggaggcggtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgt
gcagcgtctggattcaccttcagtaaactatggcatgcactgggtccgccagggtccaggcaagggg
ctggagtggtggcagttatatggtatgatggaagtaataaataactatgcagactccgtgaagggc
20 cgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagcc
gaggacacggctgtgtattactgtgcgagagcctattacgatattttgactgattacccccagtat
gactactactacggtatggacgtctggggccaagggaccacggtcaccgtctcctca

(N° de ID da SEQ: 284)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWIYDGSNKYYADSVKG

25 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAYYDILTDYPQYDYYYGMDVWGQGTTVTVSS

(N° de ID da SEQ: 285)

H15 (A-15)

caggtgcagctggtggagctctgggggaggcggtggtccagcctgggaagtcctgagactctcctgt

gcagtctctggattcatcttcagtagctatggcatgcactgggtccgccagggtccaggcaagggg
 ctggagtgggtggcacttatatcatttgatggaagtaataaataactatgcagactccgtgaagggc
 cgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagct
 gaggacacggctgtgtattactgtgcgagagatgggtattacgatattttgactggttatgaggat
 5 gatgcttttgatatctggggccaagggacaatggtcaccgtctcttca (N° de ID da SEQ:
 286)

QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAVSGFIFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALISFDGSNKYYADSVKG
 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGYEDDAFDIWGQGTMTVTVSS
 (N° de ID da SEQ: 287)

10 H16 (A-16)

cagggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaggtctcctgc
 aaggcttctggatacaccttcaccggctactatttgcactgggtgcgacaggcccctggacaaggg
 cttgagtggatgggatggatcatccctgacagtgggtggcacaaagtatgcacagaagtttcagggc
 agggtcaccatgaccagggacacgtccatcagcacagcctacttggagctgagcaggctgagatct
 15 gacgacacggccgtgtattactgtgcgagagaagggtttcattacgatattttgactggttcctac
 ttctactactacgggatggacgtctggggccaagggaccacggtcaccgtctcctca
 (N° de ID da SEQ: 288)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYLHWVRQAPGQGLEWMGWIIIPDSGGTKYAQKFQG
 RVTMTRDTSISTAYLELSRLRSDDTAVYYCAREGFHYDILTGSYFYYYGMDVWGQGTTVTVSS

20 (N° de ID da SEQ: 289)

H17 (A-17)

caggttcagctggtgcagctctggagctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaggtctcctgc
 aaggcttctggttacacctttaccagctatggatcagttgggcgcgacaggcccctggacaaggg
 cttgagtggatgggatggatcggcggtttacaatgggtcacacaaaatatgcacagaagttccagggc
 25 agagtcaccatgaccacagacacatccacgagcacagcctacatggagctgaggagcctgagatct
 gacgacacggccatattttactgtgcgagaagggtagcagtggtgggtactttgactactggggc
 caggggaaccctggtcaccgtctcctca (N° de ID da SEQ: 290)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWARQAPGQGLEWMGWIGVYNGHTKYAQKFQG

RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAIFYCARRVAVAGYFDYWGQGLTVTVSS (N° de ID da SEQ: 291)

H18 (A-18)

caggtgcagctggtggagctctgggggagggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgt
 5 gcagcgtctggattcaccttcagtagatatggcatgcactgggtccgccaggctccaggcaagggg
 ctggagtggtgagcagttatatggtatgatggaagtcataaatactatgaagactccgtgaagggc
 cgattcaccatctccagagacaattctaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagcc
 gacgacacgggtgtgtattactgtgagagagtcgggtatggcagtggtggtacgagtactattac
 cactacggtatggacgtctggggccaagggaccacggtcaccgtctcctca

10 (N° de ID da SEQ: 292)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSRYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSHKYYEDSVKG
 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRADDTGVYYCARVYGSGWY EYYHYGMDVWGQGT TTVTVSS

(N° de ID da SEQ: 293)

H19 (A-19)

15 caggtgcagctggtggagctctgggggagggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgt
 gcagcgtctggattcaccttcagtagctatggcatgcactgggtccgccaggctccaggcaagggg
 ctggagtggtgacaattatatggtctgatggaattaacaaatactatgcagactccgtgaagggc
 cgattcaccatatccagagacaattccaagaacacgctgaatctgcaaatgaacagtttgagagcc
 gaggacacggctgtgtattactgtgagagagagagaggcctctacgatattttgactgggttattat
 20 aactactacggtattgacgtctggggccaagggaccacggtcaccgtctcctca

(N° de ID da SEQ: 294)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVTIIWSDGINKYYADSVKG
 RFTISRDN SKNTLNLQMNSLRAEDTAVYYCARERGLYDILTGYNY YGIDVWGQGT TTVTVSS

(N° de ID da SEQ: 295)

25 H20 (A-20)

gaggtgcagctggtggagctctgggggagacttggtacagcctgggggggtccctgagactctcctgt
 gcagcctctggattcaccttcagtggtctataccttgaactgggtccgccaggctccagggaagggg
 ctggagtggtttcaaacattaatagtaggagtagtctcatatactacacagactctgtgaagggc

cgattcaccatctccagagacaatgccagaactcactgtatctgcaaatgaacagcctgagagac
gaggacacggctgtgtatttctgtgcgagagatcagtataactggaactactactacgggtatggac
gtctggggccaagggaccacggtcaccgtctcctca (N° de ID da SEQ: 296)

EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYTLNWVRQAPGKGLEWVSNINSRSSLIYYTDSVKG

5 RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYFCARDQYNWNYYYGMDVWGQGTTVTVSS (N° de ID
da SEQ: 297)

H21 (A-21)

gaggtgctggctggtggagtctgggggagacttggtacagcctgggggggtccctgagactctcctgt
gcagcctctggattcaccttcagtagctatgcatgaactgggtccgccaggctccaggaagggg
10 ctggagtggatttcatacatctgtagtagtagtagtgccatataactacggagactctgtgaagggc
cgattcaccatctccagagacaatgccagaactcactgtatctgcaaatgaacagcctgagagac
gaggacacggctgtgtattactgtgcgagatatagaagtggtgggtccccctctttgacttctgg
ggccaggaagcctggtcaccgtctcctca (N° de ID da SEQ: 298)

EVRLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMNWVRQAPGKLEWISYIGSSSSAIYYGDSVKG

15 RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARYRSGWSPLFDFWGQGSLVTVSS
(N° de ID da SEQ: 299)

H22 (A-22)

caggtgcagctggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgt
gcagcgtctggaatcaccttcagtagctatggcatgcactgggtccgccaggctccaggcaagggg
20 ctggagtgggtggcatctatatggtatgatggaagtaataaatattatgtagactccgtgaagggc
cgattcaccatcttcagagacaattccaagaaaacgctgtatctgcaaatgaacaggctgagagcc
gaggacacggctgtgtattactgtgcgagacttggtggtggttttgactactggggccaggaacc
ctggtcaccgtctcctca (N° de ID da SEQ: 300)

QVQLVESGGGVVQPGSLRLSCAASGITFSSYGMHWVRQAPGKLEWVASIWYDGSNKYYVDSVKG

25 RFTIFRDN SKKTLYLQMNRLRAEDTAVYYCARLGGGFDYWGQGT

H23 (A-23)

gaggtgctggctggtggagtctgggggaggccttggtacagcctgggggggtccctgagactctcctgt

acagcctctggattccccttcaatagatatgcatgaactgggtccgccagggtccaggggaagggg
 ctggagtgggttttcatacattggttagtagtagtagtgccatatactacgcagactctgtgaagggc
 cgattcaccatctccagagacaatgccagaactcactgtatctgcaaataaacagcctgagagat
 gaagacacggctgtgtattactgtgagagatatagcagtggctgggtccccctctttgactactgg
 5 ggccaggggaaccctgggtcacctgtctctca (N° de ID da SEQ: 302)

EVRLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFPFNRYAMNWVRQAPGKGLEWVS^YI^GSSSSSAIYYADSVKG
 RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARYSSGWSPLFDYWGQGT^LTVSS (N° de ID
 da SEQ: 303)

As configurações particulares de proteínas de
 10 ligação a antígeno da presente invenção consistem em uma ou mais
 sequências de aminoácidos que são idênticas às sequências de
 aminoácidos de uma ou mais das CDRs e/ou FRs (regiões estruturais)
 ilustradas acima. Em uma configuração, a proteína de ligação a
 antígeno consiste em uma sequência da CDR1 da cadeia leve
 15 ilustrada acima. Em uma outra configuração, a proteína de ligação
 a antígeno consiste em uma sequência da CDR2 da cadeia leve
 ilustrada acima. Em uma outra configuração, a proteína de ligação
 a antígeno consiste em uma sequência da CDR3 da cadeia leve
 ilustrada acima. Em uma outra configuração, a proteína de ligação
 20 a antígeno consiste em uma sequência da CDR1 da cadeia pesada
 ilustrada acima. Em uma outra configuração, a proteína de ligação
 a antígeno consiste em uma sequência da CDR2 da cadeia pesada
 ilustrada acima. Em uma outra configuração, a proteína de ligação
 a antígeno consiste em uma sequência da CDR3 da cadeia pesada
 25 ilustrada acima. Em uma outra configuração, a proteína de ligação
 a antígeno consiste em uma sequência FR1 da cadeia leve ilustrada
 acima. Em uma outra configuração, a proteína de ligação a antígeno
 consiste em uma sequência FR2 da cadeia leve ilustrada acima. Em

uma outra configuração, a proteína de ligação a antígeno consiste em uma sequência FR3 da cadeia leve ilustrada acima. Em uma outra configuração, a proteína de ligação a antígeno consiste em uma sequência FR4 da cadeia leve ilustrada acima. Em uma outra
5 configuração, a proteína de ligação a antígeno consiste em uma sequência FR1 da cadeia pesada ilustrada acima. Em uma outra configuração, a proteína de ligação a antígeno consiste em uma sequência FR2 da cadeia pesada ilustrada acima. Em uma outra configuração, a proteína de ligação a antígeno consiste em uma
10 sequência FR3 da cadeia pesada ilustrada acima. Em uma outra configuração, a proteína de ligação a antígeno consiste em uma sequência FR4 da cadeia pesada ilustrada acima.

Em uma outra configuração, pelo menos uma das sequências da CDR3 da proteína de ligação a antígeno difere em não
15 mais que 6, 5, 4, 3, 2, 1 ou 0 adições, substituições e/ou eliminações de um único aminoácido de uma sequência da CDR3 de A1-A23, como é mostrado nas Tabelas 2 e 3 acima. Em uma outra configuração, a sequência da CDR3 da cadeia leve da proteína de
ligação a antígeno difere em não mais que 6, 5, 4, 3, 2, 1 ou 0
20 adições, substituições e/ou eliminações de um único aminoácido de uma sequência da CDR3 da cadeia leve de A1-A23 como é mostrado acima e a sequência da CDR3 da cadeia pesada da proteína de
ligação a antígeno difere em não mais que 6, 5, 4, 3, 2, 1 ou 0
adições, substituições e/ou eliminações de um único aminoácido de
25 uma sequência da CDR3 da cadeia pesada de A1-A23 como é mostrado acima. Em uma outra configuração, a proteína de ligação a antígeno consiste em ainda 1, 2, 3, 4, ou 5 sequências de CDR cada uma
diferindo independentemente em 6, 5, 4, 3, 2, 1, ou 0 adições,

substituições e/ou eliminações de um único aminoácido de uma sequência de CDR de A1-A23. Em uma outra configuração, a proteína de ligação a antígeno consiste em as CDRs da região variável da cadeia leve e as CDRs da região variável da cadeia pesada estabelecidas acima. Em uma outra configuração, a proteína de
 5 ligação a antígeno consiste em 1, 2, 3, 4, 5, e/ou 6 sequências consenso de CDR mostradas acima. Em ainda uma configuração, a proteína de ligação a antígeno consiste em as CDRs de qualquer uma entre L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9,
 10 L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22 e L23H23. Em uma configuração, a proteína de ligação a antígeno é um anticorpo humano.

Em uma configuração, a proteína de ligação a
 15 antígeno (tal como um anticorpo ou um fragmento de anticorpo) consiste em um domínio variável da cadeia leve que consiste na sequência de aminoácidos que difere da sequência de um domínio variável da cadeia leve selecionado do grupo consistindo em L1 a
 20 L23 somente nos resíduos 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 ou 0, onde a diferença de cada uma dessas sequências é independentemente uma eliminação, inserção ou substituição de um resíduo de aminoácido. Em uma outra configuração, o domínio variável da cadeia leve consiste em uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, ou 99%
 25 idêntica à sequência de um domínio variável da cadeia leve selecionado do grupo consistindo em L1-L23. Em uma outra configuração, o domínio variável da cadeia leve consiste em uma sequência de aminoácidos que é codificada por uma sequência de

nucleotídeos que é pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, ou 99% idêntica à sequência de polinucleotídeos L1-L23 relacionada abaixo. Em uma outra configuração, o domínio variável da cadeia leve consiste em uma sequência de aminoácidos que é codificada por um polinucleotídeo que hibridiza sob condições moderadamente rígidas para o complemento de um polinucleotídeo que codifica um domínio variável da cadeia leve selecionado do grupo consistindo em L1-L23. Em uma outra configuração, o domínio variável da cadeia leve consiste em uma sequência de aminoácidos que é codificada por um polinucleotídeo que hibridiza sob condições rígidas para o complemento de um polinucleotídeo que codifica um domínio variável da cadeia leve selecionado do grupo consistindo em L1-L23.

Em uma outra configuração, a presente invenção provê uma proteína de ligação a antígeno que consiste em um domínio variável da cadeia pesada consistindo em sequência de aminoácidos que difere da sequência de um domínio variável da cadeia pesada selecionado do grupo consistindo em H1-H23 somente no(s) resíduo(s) 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 ou 0, onde a diferença de cada sequência é independentemente uma eliminação, inserção ou substituição de um resíduo de aminoácido. Em uma outra configuração, o domínio variável da cadeia pesada consiste em uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, ou 99% idêntica à sequência de um domínio variável da cadeia pesada selecionado do grupo consistindo em H1-H23. Em uma outra configuração, o domínio variável da cadeia pesada consiste em uma sequência de aminoácidos que é codificada por uma sequência de nucleotídeos que é pelo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, ou 99% idêntica a uma sequência de

nucleotídeos que codifica um domínio variável da cadeia pesada selecionada do grupo consistindo em H1-H23. Em uma outra configuração, o domínio variável da cadeia pesada consiste em uma sequência de aminoácidos que é codificada por um polinucleotídeo
5 que hibridiza sob condições moderadamente rígidas para o complemento de um polinucleotídeo que codifica um domínio variável da cadeia pesada selecionado do grupo consistindo em H1-H23. Em uma outra configuração, o domínio variável da cadeia pesada consiste em uma sequência de aminoácidos que é codificada por um
10 polinucleotídeo que hibridiza sob condições rígidas para o complemento de um polinucleotídeo que codifica um domínio variável da cadeia pesada selecionado do grupo consistindo em H1-H23.

Configurações adicionais incluem proteínas de ligação a antígeno que consistem nas combinações L1H1, L2H2, L3H3,
15 L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22 e L23H23.

As proteínas de ligação a antígeno (por exemplo, anticorpos, fragmentos de anticorpo e derivados de anticorpo) da
20 invenção podem consistir em qualquer região constante conhecida na técnica. A região constante da cadeia leve pode ser, por exemplo, uma região constante da cadeia leve tipo kappa ou lambda, por exemplo, uma região constante da cadeia leve tipo kappa ou lambda humana. A região constante da cadeia pesada pode ser, por exemplo,
25 regiões constantes da cadeia pesada tipo alfa, delta, épsilon, gama ou mu, por exemplo, uma região constante da cadeia pesada tipo alfa, delta, épsilon, gama ou mu humana. Em uma configuração, a região constante da cadeia leve ou pesada é um fragmento, um

derivado, uma variante ou uma muteína de uma região constante que ocorre naturalmente.

As técnicas para derivar um anticorpo de uma subclasse ou isótipo diferente de um anticorpo de interesse, isto é, troca de subclasse, são conhecidas. Assim, os anticorpos IgG 5 podem ser derivados de um anticorpo IgM, por exemplo e vice-versa. Essas técnicas permitem a preparação de novos anticorpos que possuem as propriedades de ligação ao antígeno de um determinado anticorpo (o anticorpo original), mas que também exibem 10 propriedades biológicas associadas a um isótipo ou subclasse do anticorpo diferente do anticorpo original. As técnicas de DNA recombinante podem ser empregadas. O DNA clonado que codifica polipeptídios particulares de anticorpo pode ser empregado nesses procedimentos, por exemplo, DNA que codifica o domínio constante 15 de um anticorpo do isótipo desejado. Vide também Lanitto et al., Methods Mol. Biol. 178:303-16 (2002).

Em uma configuração, a proteína de ligação a antígeno da invenção consiste ainda nos domínios constantes kappa ou lambda da cadeia leve ou um fragmento destes. As sequências das 20 regiões constantes da cadeia leve e os polinucleotídeos que as codificam são fornecidos na Tabela 4 abaixo. Em uma outra configuração, a proteína de ligação a antígeno da invenção consiste em ainda um domínio constante da cadeia pesada, ou um fragmento do mesmo, tal como a região constante da cadeia pesada 25 do IgG2 fornecida na Tabela 4.

Em uma configuração, uma forma de IgG2 das sequências de aminoácidos das cadeias leve e pesada humanas para o anticorpo A-9 e A-3 são apresentadas no N° de ID da SEQ: 310, N° de

ID da SEQ: 311, N° de ID da SEQ: 312 e N° de ID da SEQ: 311 abaixo.

TABELA 4

Polinucleotídeo de região constante de cadeia leve (kappa)

5 Cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagc
agttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaag
tacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggaca
gcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacaca
aagtctacgcctgccaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggg
10 gagagtgt (N° de ID da SEQ: 304)

Aminoácido (kappa)

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASWCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG
NSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (N° de
ID da SEQ: 305)

15 Polinucleotídeos (lambda)

ggtcagcccaaggctgccccctcggtcactctgttcccgccctcctctgaggagcttcaagccaac
aaggccacactgggtgtgtctcataagtgacttctacccgggagccgtgacagtggcctggaaggca
gatagcagccccgtcaaggcgggagtgaggaccaccacaccctccaaacaaagcaacaacaagtac
gcggccagcagctatctgagcctgacgcctgagcagtggaagtccacagaagctacagctgccag
20 gtcacgcatgaaggagcaccgtggagaagacagtgggccctacagaatgttca (N° de ID
da SEQ: 306)

Aminoácido (lambda)

GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPV
KAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (N° de
25 ID da SEQ: 307)

Polinucleotídeo de região constante de cadeia pesada

Gcctccaccaaggggcccatcggtcttccccctggcgccctgctccagga

gcacctccgagagcacagcgccctgggctgcctgggtcaaggactacttccccgaaccgggtgacgg
 tgtcgtggaactcaggcgctctgaccagcggtgcacaccttcccagctgtcctacagtcctcag
 gactctactccctcagcagcgtgggtgaccgtgccctccagcaacttcggcaccacagacctacacct
 gcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaagtgtgtgtcg
 5 agtgcccaccgtgcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagtccttcttccccccaaaaccca
 aggacaccctcatgatctcccgaccctgaggtcacgtgcgtgggtggacgtgagccacgaag
 accccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcggtggaggtgcataatgccaagacaaagccac
 gggaggagcagttcaacagcacgttcctgtgtggtcagcgtcctcaccgttgtgcaccaggactggc
 tgaacggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaaggcctcccagcccccatcgagaaaacca
 10 tctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggaggaga
 tgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctgggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtgg
 agtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacacctcccatgctggactccgacg
 gctccttcttctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttct
 catgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgg
 15 gtaaa (N° de ID da SEQ: 308)

Aminoácido

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
 VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPPCPAPPVA
 GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV
 20 VSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL
 VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHN
 HYTQKSLSLSPGK (N° de ID da SEQ: 309)

Estrutura IgG2 para cadeia leve A-9

MDMRVPAQLLGLLLLWFPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGIRNDLGWYQQKPGKAP
 25 KRLIYAASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISVQPEDFVITYYCLQHNSNPLTFGGGTVKVEDCRTV
 AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS
 STLTLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (N° de ID da SEQ: 310)

Estrutura IgG2 para cadeia pesada A-9

MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW
 VAVMWYDGSNKDYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNRLRAEDTAVYYCAREKDHYDILTGYNYYY
 GLDVWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
 TFP AVLQSSGLYSLSSWTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKCCVECP PCPAPPVAGPS
 5 VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRWSVLT
 VVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
 PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQK
 SLSLSPGK (N° de ID da SEQ: 311)

Estrutura IgG2 para cadeia leve A-3

10 MDMRVPAQLLGLLLLWFPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAP
 KRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISVQPEDFVITYYCLQHNSNPLTFGGGTKVEPCRTV
 AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASWCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS
 TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (N° de ID da SEQ: 312)

Estrutura IgG2 para cadeia pesada A-3

15 MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGWQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWV
 AVMWYDGSNKDYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNRLRAEDTAVYYCAREKDHYDILTGYNYYYG
 LDVWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
 FPAVLQSSGLYSLSSWTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKCCVECP PCPAPPVAGPSV
 FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRWSVLT
 20 WHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKS
 LSLSPGK (N° de ID da SEQ: 311)

As proteínas de ligação a antígeno (por exemplo, anticorpos) da presente invenção incluem aquelas que consistem,
 25 por exemplo, nas combinações de domínios variáveis L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H15, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22 e L23H23 que têm um isótipo desejado (por exemplo,

IgA, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgE e IgD) assim como fragmentos Fab ou $F(ab')_2$ do mesmo. Além disso, se for desejada uma IgG4, pode ser também desejado introduzir uma mutação pontual na região da junção conforme descrito em Bloom et al., 1997, Protein Science 6:407, (incorporado aqui por referência) para minorar a tendência a formar ligações dissulfídicas da cadeia intra-H que possam levar à heterogeneidade nos anticorpos IgG4.

Anticorpos e Fragmentos de Anticorpo

Em uma configuração, as proteínas de ligação a antígeno são anticorpos. O termo "anticorpo" refere-se a um anticorpo intacto, ou a um fragmento de ligação a antígeno do mesmo, conforme descrito extensivamente na seção de definições. Um anticorpo pode consistir em uma molécula de anticorpo completa (incluindo as versões policlonais, monoclonais, quiméricas, humanizadas ou humanas com cadeias pesadas e/ou leves no comprimento total), ou consistir em um fragmento de ligação a antígeno do mesmo. Os fragmentos de anticorpo incluem fragmentos $F(ab')_2$, Fab, Fab', Fv, Fc e Fd e podem ser incorporados nos anticorpos de domínio único, anticorpos de cadeia única, maxicorpos, minicorpos, intracorpos, diacorpos, triacorpos, tetracorpos, v-NAR e bis-scFv (vide por exemplo, Hollinger and Hudson, 2005, Nature Biotechnology, 23, 9, 1126-1136). Também incluídos estão os polipeptídios de anticorpo tais como aqueles divulgados na Patente Norte-americana Nº 6.703.199, incluindo monocorpos de polipeptídio fibronectina. Outros polipeptídios de anticorpo são divulgados na Publicação de Patentes Norte-americana 2005/0238646, os quais são polipeptídios de cadeia única. Em uma configuração, os anticorpos da presente invenção consistem em pelo

menos uma CDR ou CDR consenso estabelecida na Tabela 2 acima.

Os anticorpos quiméricos e anticorpos humanizados são definidos na seção de definições e podem ser preparados através das técnicas conhecidas. Em uma configuração, um anticorpo monoclonal humanizado consiste no domínio variável de um anticorpo murino (ou todo ou parte do sítio de ligação a antígeno do mesmo) e um domínio constante derivado de um anticorpo humano. Alternativamente, um fragmento de anticorpo humanizado pode consistir no sítio de ligação ao antígeno de um anticorpo monoclonal murino e um fragmento do domínio variável (destituído do sítio de ligação ao antígeno) derivado de um anticorpo humano. Os procedimentos para a produção de anticorpos monoclonais modificados incluem aqueles descritos em Riechmann et al, 1988, Nature 332:323, Liu et al., 1987, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 84:3439, Larrick et al, 1989, Bio/Technology 7:934 e Winter et al, 1993, TIPS 14:139. Em uma configuração, o anticorpo quimérico é um anticorpo enxertado em CDR. As técnicas para humanizar anticorpos são discutidas em, por exemplo, Patentes Norte-americanas Nºs 5.869.619; 5.225.539; 5.821.337; 5.859.205; 6.881.557. Padlan et al, 1995, FASEB J. 9:133-39, Tamura et al, 2000, J. Immunol. 164:1432-41, Zhang, W, et al. Molecular Immunology. 42(12):1445-1451, 2005; Hwang W. et al. Methods. 36(1):35-42, 2005; Dall'Acqua WF, et al. Methods 36(1):43-60, 2005; e Clark, M, Immunology Today. 21(8):397-402, 2000.

Um anticorpo da presente invenção pode também ser um anticorpo monoclonal totalmente humano. Os anticorpos monoclonais totalmente humanos podem ser gerados através de inúmeras técnicas com as quais aqueles com habilidade comum na

técnica estarão familiarizados. Esses métodos incluem, sem limitação, Vírus Epstein Barr (EBV), transformação de células do sangue periférico humano (por exemplo, contendo linfócitos B), imunização in vitro de células B humanas, fusão de células do baço de camundongos transgênicos imunizados portando genes de imunoglobulina humana, isolamento das bibliotecas de fagos da região V da imunoglobulina humana, ou outros procedimentos conhecidos na técnica e baseados nesta revelação.

Foram desenvolvidos procedimentos para gerar anticorpos monoclonais humanos em animais não-humanos. Por exemplo, foram preparados camundongos nos quais um ou mais genes de imunoglobulina endógena foram inativados por vários meios. Genes de imunoglobulina humana foram introduzidos nos camundongos para substituir os genes de camundongo inativados. Nesta técnica, os elementos dos loci humanos das cadeias pesada e leve são introduzidos em cepas de camundongos derivadas de linhagens celulares de tronco embriônico contendo as rupturas visadas dos loci das cadeias leves e pesadas endógenas (vide também Bruggemann et al, Curr. Opin. Biotechnol. 8:455-58 (1997)). Por exemplo, transgenes de imunoglobulina humana podem ser construções de mini-genes, ou translocus em cromossomos artificiais de levedura, que sofrem rearranjo e hipermutação do DNA específico das células B no tecido linfóide do camundongo.

Os anticorpos produzidos no animal incorporam as cadeias de polipeptídios de imunoglobulina humana codificados pelo material genético humano introduzido no animal. Em uma configuração, um animal não-humano, tal como um camundongo transgênico, é imunizado com um imunogênio de GCGR adequado. Um

exemplo de imunogênio de GCGR adequado são as frações da membrana celular enriquecidas do receptor tal como é descrito nos Exemplos abaixo. Um outro exemplo é o domínio extracelular do N° de ID da SEQ: 2.

5 Os exemplos de técnicas para a produção e uso de animais transgênicos para a produção de anticorpos humanos ou parcialmente humanos são descritos nas Patentes Norte-americanas 5.814.318, 5.569.825 e 5.545.806, Davis et al., Production of human antibodies from transgenic mice in Lo, ed. Antibody Engineering: Methods and Protocols, Humana Press, NJ: 191-200
 10 (2003), Kellermann et al., 2002, Curr Opin Biotechnol. 13:593-97, Russel et al., 2000, Infect Immun. 68:1820-26, Gallo et al., 2000, Eur J Immun. 30:534-40, Davis et al., 1999, Cancer Metastasis Rev. 18:421-25, Green, 1999, J Immunol Methods. 231:11-23, Jakobovits, 1998, Advanced Drug Delivery Reviews 31:33-42, Green et al., 1998, J Exp Med. 188:483-95, Jakobovits A, 1998, Exp. Opin. Invest. Drugs. 7:607-14, Tsuda et al., 1997, Genomics. 42:413-21, Mendez et al., 1997, Nat Genet. 15:146-56, Jakobovits, 1994, Curr Biol. 4:761-63, Arbones et al., 1994, Immunity. 1:247-60, Green et al., 1994, Nat Genet. 7:13-21, Jakobovits et al., 1993, Nature. 362:255-58, Jakobovits et al., 1993, Proc Natl Acad Sci USA. 90:2551-55. Chen, J., M. Trounstine, F. W. Alt, F. Young, C. Kurahara, J. Loring, D. Huszar. "Immunoglobulin gene rearrangement in B-cell deficient mice generated by targeted deletion of the JH
 25 locus." International Immunology 5 (1993): 647-656, Choi et al., 1993, Nature Genetics 4: 117-23, Fishwild et al., 1996, Nature Biotechnology 14: 845-51, Harding et al., 1995, Annals of the New York Academy of Sciences, Lonberg et al., 1994, Nature 368: 856-

59, Lonberg, 1994, Transgenic Approaches to Human Monoclonal Antibodies in Handbook of Experimental Pharmacology 113: 49-101, Lonberg et al., 1995, Internal Review of Immunology 13: 65-93, Neuberger, 1996, Nature Biotechnology 14: 826, Taylor et al., 5 1992, Nucleic Acids Research 20: 6287-95, Taylor et al., 1994, International Immunology 6: 579-91, Tomizuka et al., 1997, Nature Genetics 16: 133-43, Tomizuka et al., 2000, Proceedings of the National Academy of Sciences USA 97: 722-27, Tuailon et al., 1993, Proceedings of the National Academy of Sciences USA 90: 10 3720-24 e Tuailon et al., 1994, Journal of Immunology 152: 2912-20.; Lonberg et al., Nature 368:856, 1994; Taylor et al., Int. Immun. 6:579, 1994; Patente Norte-americana Nº 5.877.397; Bruggemann et al., 1997 Curr. Opin. Biotechnol. 8:455-58; Jakobovits et al., 1995 Ann. N. Y. Acad. Sci. 764:525-35. Além 15 disso, os protocolos envolvendo o XenoMouse® (Abgenix, agora Amgen, Inc.) são descritos, por exemplo no U.S. 05/0118643 e WO 05/694879, WO 98/24838, WO 00/76310 e Patente Norte-americana 7.064.244.

As células linfóides dos camundongos transgênicos 20 imunizados são fundidas com células de mieloma, por exemplo, para produzir hibridomas. As células de mieloma para uso em procedimentos de fusão para produção de hibridoma são preferivelmente não-produtoras de anticorpos, têm alta eficiência de fusão e deficiências enzimáticas que as tornam incapazes de 25 crescer em certos meios seletivos que suportam o crescimento apenas das células fundidas desejadas (hibridomas). Os exemplos de linhagens celulares adequadas para uso em tais fusões incluem Sp-20, P3-X63/Ag8, P3-X63-Ag8.653, NS1/l.Ag 4 1, Sp210-Ag14, FO,

NSO/U, MPC-11, MPC11-X45-GTG 1.7 e S194/5XX0 Bui; os exemplos de linhagens celulares usadas nas fusões em ratos incluem R210.RCY3, Y3-Ag 1.2.3, IR983F e 4B210. Outras linhagens celulares úteis para fusões celulares são U-266, GM1500-GRG2, LICR-LON-HMy2 e UC729-6.

5 As células linfóides (por exemplo, baço) e as células de mieloma podem ser combinadas por alguns minutos com um agente promotor de fusão de membrana, tal como o polietilenoglicol ou um detergente não-iônico e então plaqueadas em baixa densidade em meio seletivo que suporte o crescimento de células de hibridoma
10 mas não das células de mieloma infundidas. Um meio de seleção é o HAT (hipoxantina, aminopterina, timidina). Após um tempo suficiente, geralmente cerca de duas semanas, são observadas colônias de células. As colônias individuais são isoladas e os anticorpos produzidos pelas células podem ser testados para a
15 atividade de ligação ao GCGR humano usando qualquer um entre os variados imunoensaios conhecidos na técnica e aqui descritos. Os hibridomas são clonados (por exemplo, por clonagem por diluição limitada ou por isolamento em placa de ágar mole) e os clones positivos que produzirem um anticorpo específico para o GCGR
20 humano são selecionados e cultivados. Os anticorpos monoclonais podem ser isolados dos sobrenadantes das culturas de hibridoma.

Um outro método para gerar anticorpos humanos da invenção inclui a imortalização das células do sangue periférico humano por transformação do EBV. Vide, por exemplo, a Patente
25 Norte-americana Nº 4.464.456. Essa linhagem de células B imortalizada (ou linhagem celular linfoblastóide) que produz um anticorpo monoclonal que especificamente se liga a um GCGR humano pode ser identificada por métodos de imunodeteção como os

fornecidos aqui, por exemplo, um ELISA, e então isolada através de técnicas de clonagem padrão. A estabilidade da linhagem celular linfoblastóide que produz um anticorpo anti-GCGR pode ser melhorada fundindo a linhagem celular transformada com um mieloma murino para produzir uma linhagem celular híbrida camundongo-humana de acordo com os métodos conhecidos na técnica (vide, por exemplo, Glasky et al., *Hybridoma* 8:377-89 (1989)). Ainda um outro método para gerar anticorpos monoclonais humanos é a imunização in vitro, a qual inclui a preparação de células B esplênicas humanas com GCGR humano, seguida de fusão das células B preparadas com um parceiro de fusão hetero-híbrido. Vide, por exemplo, Boerner et al., 1991 *J. Immunol.* 147:86-95.

Em certas configurações, uma célula B que está produzindo um anticorpo anti-GCGR humano é selecionada e as regiões variáveis da cadeia leve e da cadeia pesada são clonadas da célula B de acordo com as técnicas de biologia celular conhecidas na técnica (WO 92/02551; Patente Norte-americana 5.627.052; Babcook et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:7843-48 (1996)) e descritas aqui. As células B de um animal imunizado podem ser isoladas do baço, nódulos linfáticos ou amostra de sangue periférico selecionando-se uma célula que esteja produzindo um anticorpo que especificamente se ligue ao GCGR. As células B podem também ser isoladas de humanos, por exemplo, de uma amostra de sangue periférico. Os métodos para detectar células B isoladas que estejam produzindo um anticorpo com a especificidade desejada são bem conhecidos na técnica, por exemplo, por formação de placa, classificação de células ativadas por fluorescência, estimulação in vitro seguida de detecção do anticorpo específico e similares.

Os métodos para a seleção de células B específicas produtoras de anticorpo incluem, por exemplo, a preparação de uma única suspensão celular de células B em ágar mole que contenha GCGR humano. A ligação do anticorpo específico produzido pela célula B ao antígeno resulta na formação de um complexo, que pode ser visível na forma de um imunoprecipitado. Após serem selecionadas as células B produtoras de anticorpo, os genes do anticorpo específico podem ser clonados isolando e amplificando o DNA ou mRNA de acordo com os métodos conhecidos na técnica e aqui descritos.

Um método adicional para obter anticorpos da invenção é pela exibição do fago. Vide, por exemplo, Winter et al., 1994 Annu. Rev. Immunol. 12:433-55; Burton et al., 1994 Adv. Immunol. 57:191-280. Bibliotecas combinatórias de genes da região variável da imunoglobulina humana ou murina podem ser criadas nos vetores do fago que podem ser filtrados para selecionar fragmentos de Ig (Fab, Fv, sFv, ou multímeros destes) que se liguem especificamente à proteína de ligação TGF-beta ou uma variante ou fragmento da mesma. Vide, por exemplo, a Patente Norte-americana Nº 5.223.409; Huse et al., 1989 Science 246:1275-81; Sastry et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:5728-32 (1989); Alting-Mees et al., Strategies in Molecular Biology 3:1-9 (1990); Kang et al., 1991 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:4363-66; Hoogenboom et al, 1992 J. Molec. Biol. 227:381-388; Schlebusch et al, 1997 Hybridoma 16:47-52 e as referências citadas ali. Por exemplo, uma biblioteca contendo uma pluralidade de sequências de polinucleotídeos que codificam fragmentos da região variável da Ig pode ser inserida no genoma de um bacteriófago filamentoso, tal como o M13 ou uma

variante deste, enquadrado com a sequência que codifica uma proteína de revestimento do fago. Uma proteína de fusão pode ser uma fusão da proteína de revestimento com o domínio da região variável da cadeia leve e/ou o domínio da região variável da cadeia pesada. De acordo com certas configurações, fragmentos Fab da imunoglobulina podem também ser exibidos em uma partícula do fago (Vide, por exemplo, a Patente Norte-americana Nº 5,698,426).

Bibliotecas de expressão de cDNA da imunoglobulina das cadeias pesada e leve podem também ser preparadas no fago lambda, por exemplo, usando os vetores λ ImmunoZap™(H) e λ ImmunoZap™(L) (Stratagene, La Jolla, Califórnia). Resumidamente, o mRNA é isolado de uma população de células B e usado para criar bibliotecas de expressão de cDNA de imunoglobulina das cadeias pesada e leve nos vetores λ ImmunoZap™(H) e λ ImmunoZap™(L). Esses vetores podem ser filtrados individualmente ou co-expressos para formar fragmentos Fab ou anticorpos (vide Huse et al, supra; vide também Sastry et al, supra). Placas positivas podem subsequentemente ser convertidas para um plasmídeo não-lítico que permite um alto nível de expressão de fragmentos de anticorpo monoclonal de E. coli.

Em uma configuração, em hibridoma, as regiões variáveis de um gene que expressam um anticorpo monoclonal de interesse são amplificadas usando preparadores de nucleotídeo. Esses preparadores podem ser sintetizados por pessoa com habilidade comum na técnica, ou podem ser adquiridos de fornecedores disponíveis. (Vide, por exemplo, Stratagene (La Jolla, Califórnia), que vende preparadores de regiões variáveis de camundongo e humanas incluindo, entre outros, preparadores para as

regiões V_{Ha} , V_{Hb} , V_{Hc} , V_{Hd} , C_{HI} , V_L e C_L). Esses preparadores podem ser usados para amplificar regiões variáveis de cadeia pesada ou leve, que podem então ser inseridas nos vetores tais como o ImmunoZAP™H ou ImmunoZAP™L (Stratagene), respectivamente. Esses vetores podem

5 então ser introduzidos em *E. coli*, levedura, ou sistemas de mamíferos para a expressão. Grandes quantidades de proteína de cadeia única contendo uma fusão dos domínios V_H e V_L podem ser produzidas usando esses métodos (vide Bird et al., Science 242:423-426, 1988).

10 Após as células produtoras de anticorpos de acordo com a invenção terem sido obtidas usando qualquer uma das técnicas de imunização descritas acima e outras técnicas, os genes de anticorpo específicos podem ser clonados isolando e amplificando seus DNA ou mRNA de acordo com os procedimentos

15 padrão aqui descritos. Os anticorpos produzidos podem ser sequenciados e as CDRs identificadas e a codificação do DNA para as CDRs pode ser manipulada conforme descrito previamente para gerar outros anticorpos de acordo com a invenção.

20 As proteínas de ligação a antígeno da presente invenção modulam preferencialmente a sinalização do glucagons no ensaio em células e/ou no ensaio in vivo aqui descritos e/ou fazem o bloqueio cruzado de um dos anticorpos descritos nesta aplicação e/ou são impedidas por bloqueio cruzado de ligar-se ao GCGR por um dos anticorpos descritos neste pedido. Consequentemente esses

25 agentes de ligação podem ser identificados usando os ensaios aqui descritos.

Em certas configurações, os anticorpos são gerados primeiramente identificando-se os anticorpos que se ligam

a células que superexpressam GCGRs e/ou são neutralizados nos ensaios em células e/ou in vivo aqui descritos e/ou fazem o bloqueio cruzado dos anticorpos descritos neste pedido e/ou são impedidos por bloqueio cruzado de ligar-se aos GCGRs por um dos anticorpos descritos neste pedido.

Será compreendido por uma pessoa habilitada na técnica que algumas proteínas, tal como os anticorpos, podem sofrer uma variedade de modificações pós-translacionais. O tipo e extensão dessas modificações geralmente dependem da linhagem de célula hospedeira usada para expressar a proteína, assim como das condições da cultura. Tais modificações podem incluir variações na glicosilação, oxidação de metionina, formação de dicetopiperazina, isomerização de aspartato e desamidação de asparagina. Uma modificação frequente é a perda de um resíduo básico carboxi-terminal (tal como a lisina ou a arginina) devido à ação das carboxipeptidases (conforme descrito em Harris, RJ. Journal of Chromatography 705:129-134, 1995).

Um método alternativo para a produção de um anticorpo monoclonal murino é injetar as células de hibridoma na cavidade peritoneal de um camundongo singênico, por exemplo, um camundongo que tenha sido tratado (por exemplo, preparado com pristane) para promover a formação de líquido de ascite contendo o anticorpo monoclonal. Os anticorpos monoclonais podem ser isolados e purificados através de uma variedade de técnicas bem estabelecidas. Essas técnicas de isolamento incluem a cromatografia de afinidade com Proteína A Sepharose, cromatografia de exclusão do tamanho e cromatografia de troca iônica (Vide, por exemplo, Coligan nas páginas 2.7.1-2.7.12 e páginas 2.9.1-2.9.3;

Baines et al., "Purification of Immunoglobulin G (IgG)," in Methods in Molecular Biology, Vol. 10, páginas 79-104 (The Humana Press, Inc. 1992)). Os anticorpos monoclonais podem ser purificados por cromatografia de afinidade usando um ligando
5 apropriado selecionado com base nas propriedades particulares do anticorpo (por exemplo, isótipo de cadeia leve ou pesada, especificidade da ligação, etc.). Os exemplos de um ligando adequado, imobilizado em um suporte sólido, incluem a Proteína A, a Proteína G, um anticorpo de região anti-constante (cadeia leve
10 ou cadeia pesada), um anticorpo anti-idiotipo e uma proteína de ligação a TGF-beta, ou fragmento ou variante dos mesmos.

A evolução molecular das regiões determinantes de complementaridade (CDRs) no centro do sítio de ligação do anticorpo foi também utilizada para isolar anticorpos com
15 afinidade aumentada, por exemplo, anticorpos com afinidade maior para c-erbB-2, conforme descrito por Schier et al., 1996, J. Mol. Biol. 263:551. Consequentemente, tais técnicas são úteis para preparar anticorpos para o receptor de glucagon humano.

As proteínas de ligação a antígeno direcionadas
20 contra o receptor de glucagon humano podem ser usadas, por exemplo, em ensaios para detectar a presença do receptor de glucagon, seja in vitro ou in vivo.

Embora os anticorpos humanos, parcialmente humanos ou humanizados vão ser adequados para várias aplicações,
25 particularmente aquelas envolvendo a administração do anticorpo a um ser humano, outros tipos de proteínas de ligação a antígeno serão adequados para certas aplicações. Os anticorpos não-humanos da invenção podem ser, por exemplo, derivados de qualquer animal

que produza anticorpos, tal como o camundongo, o rato, o coelho, a cabra, o asno ou o primata não humano (por exemplo, macacos como o cynomologus ou o rhesus) ou o chimpanzé. Os anticorpos não-humanos da invenção podem ser usados, por exemplo, em aplicações in vitro e de cultura celular, ou em qualquer outra aplicação onde uma resposta imunológica ao anticorpo da invenção, não ocorra, seja insignificante, possa ser prevenida, não seja preocupante, ou seja desejada. O Exemplo 2 abaixo descreve a geração de um anticorpo de camundongo. Em uma configuração, um anticorpo não-humano da invenção é administrado a um ser não-humano. Em uma outra configuração, o anticorpo não-humano não provoca uma resposta imune no ser não-humano. Em uma outra configuração, o anticorpo não-humano é da mesma espécie que o ser não-humano, por exemplo, um anticorpo de camundongo da invenção é administrado a um camundongo. Um anticorpo de uma espécie particular pode ser preparado, por exemplo, imunizando um animal daquela espécie com o imunogênio desejado ou usando um sistema artificial para gerar anticorpos daquela espécie (por exemplo, um sistema bacteriano ou baseado em exibição de fago para gerar anticorpos de uma espécie particular), ou convertendo um anticorpo de uma espécie em um anticorpo de uma outra espécie substituindo, por exemplo, a região constante do anticorpo por uma região constante da outra espécie, ou substituindo um ou mais resíduos de aminoácido do anticorpo de modo que ele se assemelhe mais estreitamente à sequência de um anticorpo da outra espécie. Em uma configuração, o anticorpo é um anticorpo quimérico consistindo em sequências de aminoácido derivadas dos anticorpos de duas ou mais espécies diferentes.

Os anticorpos podem também ser preparados por

qualquer das inúmeras técnicas convencionais. Por exemplo, eles podem ser purificados de células que os expressam naturalmente (por exemplo, um anticorpo pode ser purificado de um hibridoma que o produz), ou produzidos em sistemas de expressão recombinante, usando qualquer técnica conhecida na área. Vide, por exemplo, Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses, Kennet et al. (eds.), Plenum Press, New York (1980); e Antibodies: A Laboratory Manual, Harlow and Land (eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring, Harbor, NY, (1988).

10 Isto é discutido na seção do ácido nucléico abaixo.

Proteínas de ligação a antígeno podem ser preparadas e filtradas para as propriedades desejadas usando umas das inúmeras técnicas conhecidas. Certas técnicas envolvem o isolamento de um ácido nucléico que codifica uma cadeia polipeptídica (ou parte da mesma) de uma proteína de ligação a antígeno de interesse (por exemplo, um anticorpo anti-receptor de glucagon) e manipulação do ácido nucléico através de tecnologia de DNA recombinante. O ácido nucléico pode ser fundido a um outro ácido nucléico de interesse, ou alterado (por exemplo, por mutagênese ou outra técnica convencional) para adicionar, eliminar ou substituir um ou mais resíduos de aminoácidos, por exemplo.

Onde for desejado melhorar a afinidade dos anticorpos de acordo com a invenção contendo uma ou mais das CDRs mencionadas acima, isso pode ser obtido através de inúmeros protocolos de maturação da afinidade, incluindo a manutenção das CDRs (Yang et al., J. Mol. Biol., 254, 392-403, 1995), embaralhamento das cadeias (Marks et al., Bio/Technology, 10, 779-783, 1992), uso de cepas de mutação de E. coli. (Low et al., J.

Mol. Biol., 250, 350-368, 1996), embaralhamento de DNA (Patten et al., Curr. Opin. Biotechnol., 8, 724-733, 1997), exibição de fago (Thompson et al., J. Mol. Biol., 256, 7-88, 1996) e técnicas adicionais de PCR (Cramer, et al., Nature, 391, 288-291, 1998).

5 Todos esses métodos de maturação da afinidade são discutidos por Vaughan et al. (Nature Biotechnology, 16, 535-539, 1998).

Fragmentos de anticorpo

Em um outro aspecto, a presente invenção provê fragmentos de um anticorpo anti-receptor de glucagon da invenção.

10 Esses fragmentos podem consistir inteiramente em sequências derivadas de anticorpo ou podem consistir em sequências adicionais. Os exemplos de fragmentos de ligação a antígeno incluem os anticorpos de cadeia simples Fab, $F(ab')_2$, diacorpos, triacorpos, tetracorpos e anticorpos de domínio. Outros exemplos
15 são fornecidos em Lunde et al., 2002, Biochem. Soc. Trans. 30:500-06.

Os anticorpos de cadeia simples podem ser formados ligando-se fragmentos do domínio variável da cadeia leve e pesada (região Fv) através de uma ponte de aminoácido (ligador
20 de peptídeo curto), resultando em uma única cadeia polipeptídica. Esses Fvs de cadeia simples (scFvs) foram preparados fundindo-se DNA que codifica um ligador de peptídeo entre os DNAs que codificam os dois polipeptídios do domínio variável (V_L e V_H). Os polipeptídios resultantes podem dobrar-se sobre si mesmos formando
25 manômeros de ligação a antígeno, ou podem formar multímeros (por exemplo, dímeros, trímeros, ou tetrâmeros), dependendo da extensão de um ligador flexível entre os dois domínios variáveis (Kortt et al., 1997, Prot. Eng. 10:423; Kortt et al., 2001, Biomol. Eng.

18:95-108). Combinando diferentes polipeptídios que contenham V_L e V_H , pode-se formar scFvs multiméricos que se ligam a diferentes epítomos (Kriangkum et al., 2001, *Biomol. Eng.* 18:31 -40). As técnicas desenvolvidas para a produção de anticorpos de cadeia
5 simples incluem aquelas descritas na Patente Norte-americana Nº 4.946.778; Bird, 1988, *Science* 242:423; Huston et al., 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879; Ward et al., 1989, *Nature* 334:544, de Graaf et al., 2002, *Methods Mol Biol.* 178:379-87. Os anticorpos de cadeia simples derivados dos anticorpos fornecidos aqui
10 incluem, sem limitação, scFvs que consistem nas combinações de domínio variável L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22 e L23H23 e são englobados pela presente invenção.

15 Os fragmentos de ligação a antígeno derivados de um anticorpo podem também ser obtidos, por exemplo, por hidrólise proteolítica do anticorpo, por exemplo, digestão em pepsina ou papaína de anticorpos inteiros de acordo com métodos convencionais. Como exemplo, os fragmentos de anticorpo podem ser
20 produzidos por clivagem enzimática dos anticorpos com pepsina para fornecer um fragmento 5S denominado $F(ab')_2$. Esse fragmento pode ser ainda clivado usando um agente redutor tiol para produzir fragmentos 3.5S Fab' monovalentes. Opcionalmente, a reação de clivagem pode ser realizada usando um grupo bloqueador para os
25 grupos sulfidril que resultam da clivagem das ligações dissulfídicas. Como alternativa, uma clivagem enzimática usando papaína produz dois fragmentos Fab monovalentes e um fragmento Fc diretamente. Esses métodos são descritos, por exemplo, por

Goldenberg, Patente Norte-americana Nº 4.331.647, Nisonoff et al., Arch. Biochem. Biophys. 89:230, 1960; Porter, Biochem. J. 73:119, 1959; Edelman et al., in Methods in Enzymology 1:422 (Academic Press 1967); e por Andrews, S.M. and Titus, J.A. in Current
5 Protocols in Immunology (Coligan J.E., et al., eds), John Wiley & Sons, New York (2003), páginas 2.8.1-2.8.10 e 2.10A.1-2.10A.5. Outros métodos para clivar anticorpos, tal como a separação das cadeias pesadas para formar fragmentos de cadeia leve-pesada monovalentes (Fd), clivando ainda os fragmentos, ou outras
10 técnicas enzimáticas, químicas ou genéticas podem também ser utilizados, desde que os fragmentos se liguem ao antígeno que é reconhecido pelo anticorpo intacto. Uma outra forma de fragmento de anticorpo é um peptídeo consistindo em uma ou mais regiões determinantes da complementaridade (CDRs) de um anticorpo. As CDRs
15 podem ser obtidas construindo-se polinucleotídeos que codificam a CDR de interesse. Esses polinucleotídeos são preparados, por exemplo, utilizando a reação em cadeia de polimerase para sintetizar a região variável usando mRNA de células produtoras de anticorpo como modelo (Vide, por exemplo, Larrick et al., Methods:
20 A Companion to Methods in Enzymology 2:106,1991; Courtenay-Luck, "Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies," in Monoclonal Antibodies: Production, Engineering and Clinical Application, Ritter et al. (eds.), página 166 (Cambridge University Press 1995); e Ward et al., "Genetic Manipulation and Expression of
25 Antibodies," in Monoclonal Antibodies: Principles and Applications, Birch et al., (eds.), página 137 (Wiley-Liss, Inc. 1995)). O fragmento de anticorpo pode ainda consistir em pelo menos um domínio de região variável de um anticorpo aqui descrito.

Assim, por exemplo, o domínio da região V pode ser monomérico e ser um domínio V_H ou V_L , que é capaz de ligar-se independentemente ao receptor de glucagon humano com uma afinidade pelo menos igual a $1 \times 10^{-7}M$ ou menos conforme descrito abaixo.

5 O domínio da região variável pode ser qualquer domínio variável que ocorra naturalmente ou uma versão manipulada do mesmo. Uma versão manipulada significa um domínio da região variável que foi criado usando técnicas de manipulação de DNA recombinante. Essas versões manipuladas incluem aquelas criadas,
10 por exemplo, de uma região variável de anticorpo específica por inserções, eliminações ou alterações nas sequências de aminoácidos do anticorpo específico. Os exemplos particulares incluem domínios da região variável manipulados contendo pelo menos uma CDR e opcionalmente um ou mais aminoácidos estruturais de um primeiro
15 anticorpo e o restante do domínio da região variável de um segundo anticorpo.

O domínio da região variável pode ser covalentemente anexado em um aminoácido C-terminal a pelo menos um
outro domínio do anticorpo ou um fragmento do mesmo. Assim, por
20 exemplo, um domínio V_H que esteja presente no domínio da região variável pode ser ligado a um domínio CHI da imunoglobulina, ou a um fragmento do mesmo. Similarmente, um domínio V_L pode ser ligado a um domínio CK ou a um fragmento do mesmo. Deste modo, por exemplo, o anticorpo pode ser um fragmento Fab onde o domínio de
25 ligação ao antígeno contém domínios V_H e V_L associados ligados covalentemente em seus C-terminais a um domínio CHI e CK, respectivamente. O domínio CHI pode ser estendido com mais aminoácidos, por exemplo, para fornecer uma região de junção ou

uma parte de um domínio da região de junção como é encontrado no fragmento Fab', ou fornecer mais domínios, tal como os domínios CH2 e CH3 do anticorpo.

Derivados e variantes das proteínas de ligação a

5 antígeno

As sequências de nucleotídeos de L1-L23 e H1-H23, que codificam as sequências correspondentes de aminoácidos de A1-A23, podem ser alteradas, por exemplo, por mutagênese aleatória ou por mutagênese dirigida ao sítio (por exemplo, mutagênese específica do sítio direcionada ao oligonucleotídeo) para criar um polinucleotídeo alterado consistindo em uma ou mais substituições, eliminações ou inserções particulares de nucleotídeo, comparado ao polinucleotídeo não-mutado. Os exemplos de técnicas para fazer tais alterações são descritos em Walder et al., 1986, Gene 42:133; 10 Bauer et al. 1985, Gene 37:73; Craik, BioTechniques, January 1985, 12-19; Smith et al., 1981, Genetic Engineering: Principles and Methods, Plenum Press; e nas Patentes Norte-americanas Nºs 4.518.584 e 4.737.462. Esses e outros métodos podem ser utilizados para, por exemplo, derivados de anticorpos anti-receptor de 15 glucagon que tenham uma propriedade desejada, por exemplo, elevada afinidade, avidéz ou especificidade para o receptor de glucagon, elevada atividade ou estabilidade in vivo ou in vitro, ou reduzidos efeitos colaterais in vivo comparados ao anticorpo não-derivado. 20

25 Outros derivados de anticorpos anti-receptor de glucagon no escopo desta invenção incluem conjugados covalentes ou agregativos de anticorpos anti-receptor de glucagon, ou fragmentos dos mesmos, com outras proteínas ou polipeptídios, tal como pela

expressão de proteínas de fusão recombinantes consistindo em polipeptídios heterólogos fundidos ao N-terminal ou C-terminal de um polipeptídios de anticorpo anti-receptor de glucagon. Por exemplo, o peptídeo conjugado pode ser um polipeptídio com sinal heterólogo (ou líder), por exemplo, o fator alfa líder da levedura, ou um peptídeo como um apêndice do epítipo. As proteínas de fusão contendo proteína de ligação a antígeno podem consistir em peptídeos adicionados para facilitar a purificação ou a identificação da proteína de ligação a antígeno (por exemplo, poli-His). Uma proteína de ligação a antígeno pode também ser ligada ao peptídeo FLAG conforme descrito em Hopp et al., Bio/Technology 6:1204,1988 e a Patente Norte-americana 5.011.912. O peptídeo FLAG é altamente antigênico e fornece um epítipo reversivelmente ligado por um anticorpo monoclonal específico (mAb), permitindo uma rápida dosagem e fácil purificação da proteína recombinante expressa. Os reagentes úteis para preparar as proteínas de fusão nas quais o peptídeo FLAG é fundido a um determinado polipeptídio estão disponíveis no comércio (Sigma, St. Louis, MO). Em uma outra configuração, oligômeros contendo uma ou mais proteínas de ligação a antígeno podem ser empregados como antagonistas do receptor de glucagon. Os oligômeros podem estar na forma de dímeros, trímeros ou oligômeros mais altos ligados covalentemente ou não-covalentemente. Os oligômeros consistindo em duas ou mais proteínas de ligação a antígeno são contemplados para uso, sendo um exemplo o homodímero. Outros oligômeros incluem os heterodímeros, os homotrímeros, os homotetrâmeros, os heterotetrâmeros, etc.

Uma configuração é direcionada aos oligômeros que

consistem em múltiplas proteínas de ligação a antígeno reunidos através de interações covalentes ou não-covalentes entre as metades do peptídeo fundidas às proteínas de ligação a antígeno. Tais peptídeos podem ser ligadores de peptídeo (espaçadores) ou

5 peptídeos que têm a propriedade de promover a oligomerização. Os zíperes de leucina e certos polipeptídios derivados de anticorpos estão entre aqueles que podem promover a oligomerização das proteínas de ligação a antígeno anexadas ali, conforme descrito mais detalhadamente abaixo.

10 Em configurações particulares, os oligômeros consistem em duas a quatro proteínas de ligação a antígeno. As proteínas de ligação a antígeno do oligômero podem estar em qualquer forma, tal como qualquer uma das formas descritas acima, por exemplo, variantes ou fragmentos. Preferivelmente, os

15 oligômeros consistem em proteínas de ligação a antígeno com atividade de ligação a receptor de glucagon .

Em uma configuração, um oligômero é preparado usando polipeptídios derivados de imunoglobulinas. A preparação das proteínas de fusão contendo certos polipeptídios heterólogos

20 fundidos a várias partes dos polipeptídios derivados de anticorpo (incluindo o domínio Fc) foi descrita, por exemplo, por Ashkenazi et al., 1991, PNAS USA 88:10535; Byrn et al., 1990, Nature 344:677; e Hollenbaugh et al., 1992 "Construction of Immunoglobulin Fusion Proteins", in Current Protocols in

25 Immunology, Suppl. 4, páginas 10.19.1 -10.19.11. Uma configuração da presente invenção é dirigida a um dímero consistindo em duas proteínas de fusão criadas pela fusão de um fragmento de ligação a receptor de glucagon do anticorpo anti-receptor de glucagon à

região Fc de um anticorpo. O dímero pode ser obtido, por exemplo, inserindo-se uma fusão de genes que codificam a proteína de fusão em um vetor de expressão apropriado, expressando a fusão do gene nas células hospedeiras transformadas com o vetor de expressão recombinate, e permitindo que a proteína de fusão expresse se reúna de modo muito similar às moléculas de anticorpo, nas quais ligações dissulfídicas inter-cadeias se formam entre as metades Fc para produzir o dímero.

O termo "polipeptídio Fc" usado aqui inclui formas naturais e muteína de polipeptídios derivados da região Fc de um anticorpo. Formas truncadas de polipeptídios contendo a região de junção que promove a dimerização são também incluídas. As proteínas de fusão que consistem em metades Fc (e oligômeros formados destas) oferecem a vantagem de fácil purificação por cromatografia de afinidade em colunas de Proteína A ou Proteína G.

Um polipeptídio Fc adequado, descrito no pedido de PCT WO 93/10151 (incorporado aqui por referência), é um polipeptídio de cadeia simples que se estende da região de junção N-terminal até o C-terminal nativo da região Fc de um anticorpo IgG1 humano. Um outro polipeptídio Fc útil é a muteína Fc descrita na Patente Norte-americana 5.457.035 e em Baum et al., 1994, EMBO J. 13:3992-4001. A sequência de aminoácidos dessa muteína é idêntica à da sequência Fc nativa apresentada no WO 93/10151, exceto que o aminoácido 19 foi alterado de Leu para Ala, o aminoácido 20 foi alterado de Leu para Glu e o aminoácido 22 foi alterado de Gly para Ala. A muteína exibe reduzida afinidade para receptores Fc. Em outras configurações, a porção variável da cadeia leve e/ou pesada de um anticorpo anti-receptor de glucagon

pode ser substituída pela porção variável da cadeia leve e/ou pesada de um anticorpo.

Alternativamente, o oligômero é uma proteína de fusão consistindo em múltiplas proteínas de ligação a antígeno, com ou sem ligadores de peptídeo (peptídeos espaçadores). Entre os ligadores de peptídeo adequados estão aqueles descritos nas Patentes Norte-americanas 4.751.180 e 4.935.233.

Um outro método para preparar proteínas oligoméricas de ligação a antígeno envolve o uso de um zíper de leucina. Os domínios do zíper de leucina são peptídeos que promovem oligomerização das proteínas nas quais são encontrados. Os zíperes de leucina foram originalmente identificados em várias proteínas de ligação de DNA (Landschulz et al., 1988, Science 240:1759) e têm sido desde então encontrados em uma variedade de proteínas diferentes. Entre os zíperes de leucina conhecidos estão os peptídeos que ocorrem naturalmente e derivados destes que dimerizam ou trimerizam. Os exemplos de domínios de zíper de leucina adequados para produzir proteínas oligoméricas solúveis são descritos no pedido de PCT WO 94/10308 e o zíper de leucina derivado da proteína D surfactante pulmonar (SPD) é descrito em Hoppe et al., 1994, FEBS Letters 344:191, incorporados aqui por referência. O uso de um zíper de leucina modificado que permite a trimerização estável de uma proteína heteróloga fundida a ele é descrito em Fanslow et al., 1994, Semin. Immunol. 6:267-78. Em uma abordagem, as proteínas de fusão recombinantes que compreendem um fragmento ou derivado de anticorpo anti-receptor de glucagon fundido a um peptídeo do zíper de leucina são expressas em células hospedeiras adequadas e os fragmentos ou derivados de anticorpo

anti-receptor de glucagon oligoméricos que se formam são recuperados do sobrenadante da cultura.

Em uma outra configuração, os derivados de anticorpo podem consistir em pelo menos uma das CDRs reveladas aqui. Por exemplo, uma ou mais CDRs podem ser incorporadas nas regiões da estrutura do anticorpo conhecidas (IgG1, IgG2, etc.), ou conjugadas a um veículo adequado para aumentar sua meia-vida. Os veículos adequados incluem, sem limitação Fc, albumina, transferrina e similares. Esses e outros veículos adequados são conhecidos na técnica. Esses peptídeos de CDR conjugados podem estar na forma monomérica, dimérica, tetramérica ou outra forma. Em uma configuração, um ou mais polímeros solúveis em água são ligados em uma ou mais posições específicas, por exemplo no terminal amino de um agente de ligação. Em um exemplo, um derivado de anticorpo consiste em uma ou mais anexações de polímero solúvel em água, incluindo, sem limitação, polietilenoglicol, polioxietilenoglicol, ou polipropilenoglicol. Vide, por exemplo, as Patentes Norte-americanas Nºs 4.640.835, 4.496.689, 4.301.144, 4.670.417, 4.791.192 e 4.179.337. Em certas configurações, um derivado consiste em um ou mais polímeros de monometoxi-polietilenoglicol, dextran, celulose ou outros polímeros baseados em carboidrato, homopolímeros de poli-(N-vinil pirrolidona)-polietilenoglicol, propilenoglicol, um co-polímero de óxido de polipropileno/óxido de etileno, polióis polioxietilados (por exemplo, glicerol) e álcool polivinílico, assim como misturas de tais polímeros. Em certas configurações, um ou mais polímeros solúveis em água são aleatoriamente anexados a uma ou mais cadeias laterais. Em certas configurações, o PEG pode agir para melhorar a

capacidade terapêutica de um agente de ligação, tal como um anticorpo. Alguns desses métodos são discutidos, por exemplo, na Patente Norte-americana Nº 6.133.426, a qual é aqui incorporada por referência para qualquer finalidade.

5 Será observado que um anticorpo da presente invenção pode ter pelo menos uma substituição de aminoácido, desde que o anticorpo retenha a especificidade da ligação. Portanto, as modificações nas estruturas do anticorpo estão englobadas no escopo da invenção. Essas podem incluir substituições de
10 aminoácidos que podem ser conservadoras ou não-conservadoras, que não destroem a capacidade de ligação ao receptor de glucagon humano de um anticorpo.

As substituições conservadoras de aminoácido podem englobar resíduos de aminoácidos que ocorrem naturalmente,
15 os quais são normalmente incorporados por síntese química de peptídeo ao invés de por síntese em sistemas biológicos. Estes incluem peptidomimética e outras formas revertidas ou invertidas de partes de aminoácidos. Uma substituição conservadora de aminoácido pode também envolver uma substituição de um resíduo de
20 aminoácido nativo com um resíduo normativo de tal modo que haja pouco ou nenhum efeito sobre a polaridade ou a carga do resíduo de aminoácido naquela posição. As substituições não-conservadoras podem envolver a troca de um membro de uma classe ou mimetização de aminoácido para um membro de uma outra classe com diferentes
25 propriedades físicas (por exemplo, tamanho, polaridade, hidrofobicidade, carga). Esses resíduos substituídos podem ser introduzidos nas regiões do anticorpo humano que são homólogas a outros anticorpos não-humanos ou nas regiões não-homólogas da

molécula.

Além do mais, uma pessoa habilitada na técnica pode gerar variantes de teste contendo uma única substituição de aminoácido em cada resíduo de aminoácido desejado. As variantes
5 podem então ser filtradas usando ensaios de atividade conhecidos por aqueles habilitados na técnica. Tais variantes podem ser usadas para reunir informações sobre variantes adequadas. Por exemplo, se alguém descobriu que uma alteração em um resíduo de aminoácido particular resultou em destruição, redução indesejada
10 ou inadequação da atividade, as variantes com essa alteração podem ser evitadas. Em outras palavras, com base nas informações reunidas nesses experimentos de rotina, uma pessoa habilitada na técnica poderá prontamente determinar os aminoácidos onde mais substituições devem ser evitadas isoladamente ou em combinação com
15 outras mutações.

Um técnico habilitado será capaz de determinar variantes adequadas do polipeptídio conforme estabelecido aqui usando técnicas bem conhecidas. Em certas configurações, uma
20 pessoa habilitada na técnica poderá identificar áreas adequadas da molécula que podem ser alteradas sem destruir a atividade, visando regiões que se crê não sejam importantes para a atividade. Em certas configurações, pode-se identificar resíduos e partes das moléculas que são conservadas entre polipeptídios similares. Em
25 certas configurações, mesmo áreas que podem ser importantes para a atividade biológica ou para a estrutura podem ser submetidas a substituições de aminoácido conservadoras sem destruir a atividade biológica ou sem afetar adversamente a estrutura do polipeptídio. Adicionalmente, uma pessoa habilitada na técnica poderá revisar

estudos da função da estrutura identificando resíduos em polipeptídios similares que são importantes para a atividade ou para a estrutura. Em vista dessa comparação, pode-se prever a importância dos resíduos de aminoácidos em uma proteína que corresponda aos resíduos de aminoácido que são importantes para a atividade ou a estrutura em proteínas similares. Uma pessoa habilitada na técnica pode optar por substituições de aminoácidos quimicamente similares para esses resíduos de aminoácido previstos como importantes.

10 Uma pessoa habilitada na técnica pode também analisar a estrutura tridimensional e a sequência de aminoácidos em relação àquela estrutura em polipeptídios similares. Em vista dessa informação, uma pessoa habilitada na técnica pode prever o alinhamento dos resíduos de aminoácido de um anticorpo com relação
15 à sua estrutura tridimensional. Em certas configurações, uma pessoa habilitada na técnica pode optar por não fazer alterações radicais em resíduos de aminoácido cuja presença é prevista na superfície da proteína, uma vez que tais resíduos podem estar envolvidos em interações importantes com outras moléculas.

20 Inúmeras publicações científicas foram devotadas à previsão da estrutura secundária. Vide Moulton J., Curr. Op. in Biotech., 7(4):422-427 (1996), Chou et al., Biochemistry, 13(2):222-245 (1974); Chou et al. Biochemistry, 113(2):211-222 (1974); Chou et al. Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol, 47:45-148 (1978); Chou
25 et al, Ann. Rev. Biochem, 47:251-276 e Chou et al, Biophys. J, 26:367-384 (1979). Além do mais, existem atualmente programas de computador para auxiliar na previsão da estrutura secundária. Um método para prever a estrutura secundária é baseado em modelamento

da homologia. Por exemplo, dois polipeptídios ou proteínas que tenham uma identidade da sequência acima de 30%, ou similaridade acima de 40%, geralmente têm topologias estruturais similares. O recente crescimento do banco de dados estrutural das proteínas (PDB) forneceu maior previsibilidade da estrutura secundária, incluindo o número potencial de dobras dentro da estrutura de um polipeptídio ou proteína. Vide Holm et al, Nucl. Acid. Res, 27(1):244-247 (1999). Foi sugerido (Brenner et al, Curr. Op. Struct. Biol, 7(3):369-376 (1997)) que existe um número limitado de dobras em um determinado polipeptídio ou proteína e que uma vez que um número crítico de estruturas tenha sido resolvido, a previsão estrutural se tornará dramaticamente mais acurada.

Métodos adicionais para prever a estrutura secundária incluem o "encadeamento" (Jones, D, Curr. Opin. Struct. Biol, 7(3):377-87 (1997); Sippl et al. Structure, 4(1): 15-19 (1996)), a "análise do perfil" (Bowie et al. Science, 253:164-170 (1991); Gribskov et al, Meth. Enzym, 183:146-159 (1990); Gribskov et al, Proc. Nat. Acad. Sci, 84(13):4355-4358 (1987)) e a "ligação evolucionária" (Vide Holm, supra (1999) e Brenner, supra (1997)).

Em certas configurações, as variantes de anticorpos incluem variantes de glicosilação onde o número e/ou tipo de sítio de glicosilação foi alterado comparado às sequências de aminoácido de um polipeptídio original. Em certas configurações, as variantes consistem em um número maior ou menor de sítios de glicosilação N-ligados do que a proteína nativa. Alternativamente, as substituições que eliminam esta sequência removerão uma cadeia de carboidrato N-ligado existente. Também é provido um rearranjo das cadeias de carboidratos N-ligados onde um ou mais sítios de

glicosilação N-ligados (normalmente aqueles que ocorrem naturalmente) são eliminados e um ou mais novos sítios N-ligados são criados. Variantes de anticorpo adicionais preferidas incluem as variantes de cisteína onde um ou mais resíduos de cisteína são
5 eliminados ou substituídos por um outro aminoácido (por exemplo, serina) em comparação com a sequência de aminoácidos original. As variantes de cisteína podem ser úteis quando os anticorpos precisam ser dobrados novamente para uma conformação biologicamente ativa tal como após o isolamento de corpos de
10 inclusão insolúveis. As variantes de cisteína em geral têm menos resíduos de cisteína do que a proteína nativa e normalmente têm um número par para minimizar as interações resultantes de cisteínas desparelhadas.

As substituições de aminoácidos desejadas (sejam
15 conservadoras ou não-conservadoras) podem ser determinadas por pessoas habilitadas na técnica no momento em que tais substituições forem desejadas. Em certas configurações, as substituições de aminoácidos podem ser usadas para identificar resíduos importantes de anticorpos anti-receptor de glucagon
20 humano, ou para aumentar ou diminuir a afinidade dos anticorpos anti-receptor de glucagon humano aqui descritos.

De acordo com certas configurações, as substituições de aminoácidos preferidas são aquelas que: (1) reduzem a susceptibilidade à proteólise, (2) reduzem a
25 susceptibilidade à oxidação, (3) alteram a afinidade de ligação para formar complexos protéicos, (4) alteram as afinidades de ligação, e/ou (4) conferem ou modificam outras propriedades físico-químicas ou funcionais nesses polipeptídios. De acordo com

certas configurações, substituições simples ou múltiplas de aminoácidos (em certas configurações, substituições de aminoácidos conservadoras) podem ser feitas na sequência que ocorre naturalmente (em certas configurações, na porção do polipeptídio 5 fora do(s) domínio(s) que forma(m) contatos intermoleculares). Em certas configurações, uma substituição de aminoácido conservadora normalmente pode não alterar substancialmente as características estruturais da sequência original (por exemplo, uma substituição de aminoácido não deve tender a quebrar a hélice que ocorre na 10 sequência original, ou romper outros tipos de estrutura secundária que caracterizam a sequência original). Exemplos de estruturas polipeptídicas secundárias e terciárias reconhecidas na técnica são descritos em *Proteins, Structures and Molecular Principles* (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984)); 15 *Introduction to Protein Structure* (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N.Y. (1991)); e Thornton et al. *Nature* 354:105 (1991), cada um deles incorporado aqui por referência.

Em certas configurações, os anticorpos da 20 invenção podem ser quimicamente ligados a polímeros, lipídios ou outras partes.

Os agentes de ligação a antígeno podem consistir em pelo menos uma das CDRs aqui descritas incorporadas em uma estrutura biocompatível. Em um exemplo, a estrutura biocompatível 25 consiste em um polipeptídio ou parte dele que é suficiente para formar um suporte estrutural, ou estrutura, ou esqueleto conformacionalmente estável, que é capaz de exibir uma ou mais sequências de aminoácidos que se ligam a um antígeno (por exemplo,

CDRs, uma região variável, etc.) em uma região com superfície localizável. Essas estruturas podem ser um polipeptídio que ocorra naturalmente ou uma "dobra" de polipeptídio (um motivo estrutural), ou pode ter uma ou mais modificações, tal como

5 adições, eliminações ou substituições de aminoácidos, em relação ao polipeptídio ou dobra que ocorre naturalmente. Esses esqueletos podem ser derivados de um polipeptídio de qualquer espécie (ou de mais de uma espécie), tal como a humana, outros mamíferos, outros vertebrados, invertebrados, plantas, bactérias ou vírus.

10 Normalmente, as estruturas biocompatíveis são baseadas em esqueletos diferentes dos domínios da imunoglobulina. Por exemplo, aquelas baseadas em fibronectina, ancirina, lipocalina, neocarzinostatina, citocromo b, CP1 zinc finger, PST1, coiled coil, LACI-D1, domínio Z e domínios tendamistat podem ser

15 usadas (Vide por exemplo, Nygren and Uhlen, 1997, Current Opinion in Structural Biology, 7, 463-469).

Adicionalmente, uma pessoa habilitada na técnica reconhecerá que os agentes de ligação adequados incluem porções desses anticorpos tais como uma ou mais CDR1, CDR2, CDR3 da cadeia

20 pesada, CDR1, CDR2 e CDR3 da cadeia leve conforme especificamente revelado aqui. Pelo menos uma das regiões de CDR1, CDR2, CDR3, da cadeia pesada, CDR1, CDR2 e CDR3 da cadeia leve podem ter pelo menos uma substituição de aminoácido, desde que o anticorpo retenha a especificidade de ligação da CDR não-substituída. A

25 porção não-CDR do anticorpo pode ser uma molécula não-protéica, onde o agente de ligação faz o bloqueio cruzado da ligação de um anticorpo revelado aqui para o GCGR humano e/ou inibe a atividade de sinalização do glucagon através do receptor. A porção não-CDR

do anticorpo pode ser uma molécula não-protéica na qual o anticorpo exibe um padrão de ligação similar aos peptídeos do GCGR humano em um ensaio da ligação competitiva como aquele exibido por pelo menos um dos anticorpos A1-A23, e/ou neutraliza a atividade do glucagon. A porção não-CDR do anticorpo pode ser composta de aminoácidos, onde o anticorpo é uma proteína de ligação recombinante ou um peptídeo sintético e a proteína de ligação recombinante fazem o bloqueio cruzado da ligação de um anticorpo revelado aqui para o GCGR humano e/ou neutraliza a atividade do glucagon in vitro ou in vivo. A porção não-CDR do anticorpo pode ser composta de aminoácidos, onde o anticorpo é um anticorpo recombinante e o anticorpo recombinante exibe um padrão de ligação similar aos peptídeos do GCGR humano em um ensaio de ligação competitiva conforme exibido por pelo menos um dos anticorpos A1-A23, e/ou neutraliza a sinalização do glucagon.

Ácidos nucleicos

Em um aspecto, a presente invenção provê moléculas de ácido nucléico isoladas. Os ácidos nucleicos consistem em, por exemplo, polinucleotídeos que codificam toda ou parte de uma proteína de ligação a antígeno, por exemplo, uma ou ambas as cadeias de um anticorpo da invenção, ou um fragmento, derivado, muteína ou variante do mesmo, polinucleotídeos suficientes para uso como sondas de hibridização, preparadores de PCR ou preparadores de sequenciamento para identificar, analisar, mutar ou amplificar um polinucleotídeo que codifica um polipeptídeo, ácidos nucleicos anti-sentido para inibir a expressão de um polinucleotídeo e sequências complementares dos precedentes. Os ácidos nucleicos podem ter qualquer comprimento.

Eles podem ter, por exemplo, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 750, 1,000, 1,500, 3,000, 5,000 ou mais nucleotídeos de comprimento, e/ou podem consistir em uma ou mais sequências
5 adicionais, por exemplo, sequências reguladoras, e/ou fazer parte de um ácido nucléico maior, por exemplo, um vetor.

Os ácidos nucléicos podem ser de filamento simples ou filamento duplo e podem consistir em nucleotídeos de RNA e/ou DNA e variantes artificiais dos mesmos (por exemplo,
10 ácidos nucléicos peptídicos).

Os ácidos nucléicos que codificam os polipeptídios do anticorpo (por exemplo, cadeia leve ou pesada, somente domínio variável, ou de comprimento total) podem ser isolados de células B de camundongos que foram imunizados com
15 antígeno de GCGR. O ácido nucléico pode ser isolado através de procedimentos convencionais tais como a reação em cadeia de polimerase (PCR).

As sequências de ácido nucléico que codificam as regiões variáveis das cadeias leves e pesadas são mostradas acima.
20 O técnico habilitado observará que, devido à degeneração do código genético, cada uma das sequências de polipeptídios reveladas aqui é codificada por um grande número de outras sequências de ácido nucléico. A presente invenção provê cada sequência de nucleotídeos degenerada que codifica cada proteína de ligação a antígeno da
25 invenção.

A invenção provê ainda ácidos nucléicos que hibridizam para outros ácidos nucléicos (por exemplo, ácidos nucléicos que consistem em uma sequência de nucleotídeos de um

entre A1-A14) sob condições particulares de hibridização. Os métodos para hibridizar ácidos nucleicos são bem conhecidos na área. Vide, por exemplo, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. Conforme definido aqui, por exemplo, uma condição de hibridização moderadamente rígida utiliza uma solução de pré-lavagem contendo 5X cloreto de sódio/citrato de sódio (SSC), SDS a 0,5%, 1,0 mM de EDTA (pH 8,0), tampão de hibridização de cerca de 50% de formamida, 6X SSC e uma temperatura de hibridização de 55°C (ou outras soluções de hibridização similares tais como aquela contendo cerca de 50% de formamida, com uma temperatura de hibridização de 42°C) e condições de lavagem de 60°C, em 0,5X SSC, SDS a 0,1%. Uma condição de hibridização rígida hibridiza em 6X SSC a 45°C, seguida de uma ou mais lavagens em 0,1X SSC, SDS a 0,2% a 68°C. Além disso, uma pessoa com habilidade na técnica pode manipular as condições de hibridização e/ou de lavagem para aumentar ou diminuir a rigidez da hibridização de modo que os ácidos nucleicos que compreendem sequências de nucleotídeos que sejam pelo menos 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98 ou 99% idênticas umas às outras normalmente permaneçam hibridizadas entre si. Os parâmetros básicos que afetam a escolha das condições de hibridização e a orientação para delinear condições adequadas são estabelecidos por, por exemplo, Sambrook, Fritsch e Maniatis (1989, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., capítulos 9 e 11; e *Current Protocols in Molecular Biology*, 1995, Ausubel et al., eds., John Wiley & Sons, Inc., seções 2.10 e 6.3-6.4) e podem ser prontamente determinados por aqueles com habilidade comum na técnica, com base, por

exemplo, no comprimento e/ou composição básica do DNA. As alterações podem ser introduzidas por mutação para um ácido nucléico, levando assim a alterações na sequência de aminoácidos de um polipeptídio (por exemplo, uma proteína de ligação a 5 antígeno) que ele codifica. As mutações podem ser introduzidas usando qualquer técnica conhecida na área. Em uma configuração, um ou mais resíduos de aminoácidos particulares são alterados usando, por exemplo, um protocolo de mutagênese direcionada para o sítio. Em uma outra configuração, um ou mais resíduos selecionados 10 aleatoriamente são alterados usando, por exemplo, um protocolo de mutagênese aleatório. Como quer que seja feito, um polipeptídio mutante pode ser expresso e filtrado para a propriedade desejada.

Mutações podem ser introduzidas em um ácido nucléico sem alterar significativamente a atividade biológica de 15 um polipeptídio que ele codifique. Por exemplo, pode-se fazer substituições de nucleotídeos que levem a substituições de aminoácidos em resíduos de aminoácidos não-essenciais. Em uma configuração, uma sequência de nucleotídeo fornecida aqui para L-1-L-23 e H-1 a H-23, ou um fragmento, variante ou derivado 20 desejado da mesma, é mutada de forma a codificar uma sequência de aminoácidos consistindo em uma ou mais eliminações ou substituições de resíduos de aminoácidos que são mostrados aqui para L-1 a L-23 e H-1 a H-23 como sendo resíduos onde duas ou mais sequências diferem. Em uma outra configuração, a mutagênese insere 25 um aminoácido adjacente a um ou mais resíduos de aminoácidos mostrados aqui para L-1 a L-23 e H-1 a H-23 como sendo resíduos onde duas ou mais sequências diferem. Alternativamente, uma ou mais mutações podem ser introduzidas em um ácido nucléico que

seletivamente alterem a atividade biológica (por exemplo, a ligação ao GCGR) de um polipeptídio que ele codifique. Por exemplo, a mutação pode quantitativa ou qualitativamente alterar a atividade biológica. Os exemplos de alterações quantitativas incluem o aumento, a redução ou a eliminação da atividade. Os
5 exemplos de alterações qualitativas incluem a alteração da especificidade para um antígeno de uma proteína de ligação a antígeno.

Em um outro aspecto, a presente invenção provê
10 moléculas de ácido nucléico que são adequadas para uso como preparadoras ou sondas de hibridização para a detecção das sequências de ácido nucléico da invenção. Uma molécula de ácido nucléico da invenção pode consistir em apenas uma parte da sequência de ácido nucléico que codifique um polipeptídio de
15 comprimento total da invenção, por exemplo, um fragmento que pode ser usado como sonda ou preparador ou um fragmento que codifica uma parte ativa (por exemplo, uma parte de ligação ao GCGR) de um polipeptídio da invenção.

As sondas baseadas na sequência de um ácido
20 nucléico da invenção podem ser usadas para detectar o ácido nucléico ou ácidos nucléicos similares, por exemplo, transcriptos que codificam um polipeptídio da invenção. A sonda pode consistir em um grupo de marcação, por exemplo, um radioisótopo, um composto fluorescente, uma enzima, ou um co-fator enzimático. Tais sondas
25 podem ser usadas para identificar uma célula que expresse o polipeptídio.

Em um outro aspecto, a presente invenção provê vetores que consistem em um ácido nucléico que codifica um

polipeptídio da invenção, ou uma parte do mesmo. Os exemplos de vetores incluem, sem limitação, plasmídeos, vetores virais, vetores não-episômicos de mamíferos e vetores de expressão, por exemplo, vetores de expressão recombinantes.

5 Os vetores de expressão recombinantes da invenção podem consistir em um ácido nucléico da invenção em uma forma adequada para a expressão do ácido nucléico em uma célula hospedeira. Os vetores de expressão recombinantes incluem uma ou mais sequências reguladoras, selecionadas com base nas células

10 hospedeiras a serem usadas para expressão, a qual é operacionalmente vinculada à sequência de ácido nucléico a ser expressa. As sequências reguladoras incluem aquelas que dirigem a expressão constitutiva de uma sequência de nucleotídeos em vários tipos de células hospedeiras (por exemplo, o intensificador

15 inicial de gene SV40, o promotor do vírus de sarcoma de Rous e o promotor do citomegalovírus), aquelas que dirigem a expressão da sequência de nucleotídeos somente em certas células hospedeiras (por exemplo, sequências reguladoras específicas de tecido, vide Voss et al., 1986, Trends Biochem. Sci. 11:287, Maniatis et al.,

20 1987, Science 236:1237, incorporados em sua totalidade por referência aqui) e aquelas que dirigem a expressão induzível de uma sequência de nucleotídeos em resposta a um tratamento ou condição particular (por exemplo, o promotor de metalotionina em células de mamífero e o promotor tet-responsivo e/ou responsivo a

25 estreptomicina tanto no sistema procariótico como no eucariótico (vide id.)). Será observado pelas pessoas habilitadas na técnica que o desenho do vetor de expressão pode depender de fatores tais como a escolha da célula hospedeira a ser transformada, o nível de

expressão da proteína desejado, etc. Os vetores de expressão da invenção podem ser introduzidos nas células hospedeiras para então produzir proteínas ou peptídeos, incluindo proteínas ou peptídeos de fusão, codificados pelos ácidos nucleicos aqui descritos.

5 Em um outro aspecto, a presente invenção provê células hospedeiras nas quais foi introduzido um vetor de expressão recombinante da invenção. Uma célula hospedeira pode ser qualquer célula procariótica ou eucariótica. As células hospedeiras procarióticas incluem organismos gram-negativos ou
10 gram-positivos, por exemplo, *E. coli* ou bacilos. Células eucarióticas superiores incluem células de insetos, células de levedura e linhagens celulares estabelecidas de origem mamífera. Os exemplos de linhagens de células hospedeiras de mamífero adequadas incluem células de ovário de hamster chinês (CHO) ou
15 seus derivados, tal como a linhagem CHO Veggie e as linhagens celulares associadas que crescem em meios isentos de soro (vide Rasmussen et al., 1998, *Cytotechnology* 28:31) ou células CHO cepa DXB-11, que são deficientes em DHFR (vide Urlaub et al., 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-20). Linhagens adicionais de
20 células CHO incluem CHO-K1 (ATCC#CCL-61), EM9 (ATCC# CRL-1861) e UV20 (ATCC# CRL-1862). As células hospedeiras adicionais incluem a linhagem COS-7 de células de rim de macaco (ATCC CRL 1651) (vide Gluzman et al., 1981, *Cell* 23:175), células L , células C127, células 3T3 (ATCC CCL 163), células AM-1/D (descritas na Patente
25 Norte-americana Nº 6.210.924), células HeLa, linhagens celulares BHK (ATCC CRL 10), a linhagem celular CV1/EBNA derivada da linhagem celular CV1 de rim de macaco-verde africano (ATCC CCL 70) (vide McMahan et al., 1991, *EMBO J.* 10:2821), células renais

embriônicas humanas tal como a 293, 293 EBNA ou MSR 293, células A431 epidérmicas humanas, células Colo205 humanas, outras linhagens celulares de primata transformadas, células diplóides normais, cepas de células derivadas de cultura in vitro de tecido primário, explantes primários, HL-60, U937, células HaK ou Jurkat. Os vetores de clonagem e expressão apropriados para uso com os hospedeiros celulares bacterianos, fúngicos, de levedura e de mamíferos são descritos por Pouwels et al. (Cloning Vectors: A Laboratory Manual, Elsevier, New York, 1985).

10 O DNA do vetor pode ser introduzido em células procarióticas ou eucarióticas através das técnicas convencionais de transformação ou transfecção. Para a transfecção estável de células mamíferas, sabe-se que, dependendo do vetor de expressão e da técnica de transfecção utilizada, somente uma pequena fração de
15 células pode integrar o DNA estranho em seu genoma. Para identificar e selecionar esses integrantes, um gene que codifique um marcador selecionável (por exemplo, para resistência a antibióticos) é geralmente introduzido nas células hospedeiras juntamente com o gene de interesse. Os marcadores selecionáveis
20 preferidos incluem aqueles que conferem resistência a drogas, tal como o G418, a hidromicina e o metotrexato. As células estavelmente transfectadas com o ácido nucléico introduzido podem ser identificadas por seleção da droga (por exemplo, as células que incorporaram o gene marcador selecionável sobreviverão, enquanto que as outras células morrerão), entre outros métodos.
25

As células transformadas podem ser cultivadas sob condições que promovam a expressão do polipeptídio e o polipeptídio recuperado por procedimentos convencionais de

purificação de proteína. Um desses procedimentos de purificação é descrito nos Exemplos abaixo. Os polipeptídios contemplados para uso aqui incluem polipeptídios substancialmente homogêneos de anticorpo anti-receptor de glucagon recombinante substancialmente isentos de materiais endógenos contaminantes.

Atividade das Proteínas de Ligação a antígeno

Em um aspecto, a presente invenção provê proteínas de ligação a antígeno, em particular anticorpos humanos, humanizados ou quiméricos, que especificamente se ligam ao receptor de glucagon humano. Esses anticorpos incluem anticorpos antagonizantes ou neutralizantes capazes de reduzir ou neutralizar a sinalização do glucagon, conforme determinado, por exemplo, pelo ensaio funcional em células descrito no Exemplo 4. Em uma configuração, as proteínas de ligação a antígeno, tais como os anticorpos humanos da presente invenção têm um valor de CI50 de 90 nM ou menos, em uma outra configuração, um valor de CI50 de 80 nM ou menos, em uma outra configuração, 70 nM ou menos, em uma outra configuração, 60 nM ou menos, em uma outra configuração, 50 nM ou menos, em uma outra configuração, 40 nM ou menos, em uma outra configuração, 30 nM ou menos, em uma outra configuração 25 nM ou menos. Em uma outra configuração, as proteínas de ligação a antígeno tais como os anticorpos humanos da presente invenção são capazes de especificamente ligar-se ao receptor de glucagon humano e têm um valor de CI50 que é substancialmente similar ao de um anticorpo de referência. Em uma outra configuração, as proteínas de ligação a antígeno têm um Kb (ou Kd) medido pelo ensaio descrito nos Exemplos abaixo (ou ensaios similares), que é substancialmente similar ao do anticorpo de referência. O termo

"substancialmente similar" usado aqui significa comparável a, ou aproximadamente 100%, 99%, 98%, 97%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65% ou 50% idêntico ao valor de CI50 ou Kb (ou Kd) do anticorpo de referência. Os anticorpos de referência incluem, por exemplo, os anticorpos com uma combinação das cadeias leve e pesada L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L11H11, L12H12, L13H13, L15H15, L21H21 e L22H22. Em uma configuração, os anticorpos de referência incluem A-1, A-2, A-3, A-4, A-5, A-6, A-7, A-8, A-9, A-11, A-12, A-13, A-15, A-21 e A-22. Em uma outra configuração, as proteínas de ligação a antígeno tais como os anticorpos humanos da presente invenção são capazes de especificamente ligar-se ao receptor de glucagon humano e reduzir a glicemia em um modelo animal. Em uma configuração, a glicemia é reduzida em 2% comparada aos animais não tratados, em uma outra configuração a glicemia é reduzida em 5% comparada aos animais não tratados, em uma outra configuração, a glicemia é reduzida em 10% comparada aos animais não tratados, em uma outra configuração, a glicemia é reduzida em 15%, em uma outra configuração, em 20%, em uma outra configuração, em 25% ou mais, comparada aos animais não tratados. A quantidade de redução da glicemia é controlada pela dosagem. Uma dosagem terapeuticamente eficaz é a dosagem necessária para reduzir a glicemia para a faixa normal para o paciente animal ou humano. Um modelo animal exemplar é o camundongo ob/ob, conforme descrito no Exemplo 6 abaixo. Em uma outra configuração, os anticorpos humanos da presente invenção são capazes de especificamente ligar-se ao receptor de glucagon humano, e melhorar a eliminação da glicose em um modelo animal. Um modelo animal exemplar é o macaco cynomolgus, conforme descrito no

Exemplo 7 abaixo. Melhorar a eliminação da glicose refere-se à quantidade de tempo levado para reduzir a glicemia após uma provocação de glicose oral administrada ao paciente animal ou humano, sendo uma medida da tolerância à glicose. Esta é medida por testes padrão tal como o teste de tolerância à glicose oral (OGTT), conforme descrito no exemplo abaixo. As proteínas de ligação a antígeno da presente invenção podem melhorar a tolerância à glicose no modelo animal. Além disso, as proteínas de ligação a antígeno podem melhorar outros indicadores in vivo associados ao diabetes tipo 2 e hiperglicemia, incluindo, sem limitação, a tolerância à glicose em jejum, dislipidemia e síndrome metabólica.

Ligação ao Receptor de Glucagon Humano

Em uma configuração, a presente invenção provê proteínas de ligação a antígeno que competem pela ligação com o anticorpo de referência, onde o anticorpo de referência consiste em uma combinação de sequências do domínio variável da cadeia leve e da cadeia pesada selecionadas do grupo consistindo em L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L11H11, L12H12, L13H13, L15H15, L17H17, L21H21 e L22H22. Em uma outra configuração, a presente invenção provê anticorpos humanos que competem pela ligação com um anticorpo de referência, onde o anticorpo de referência é o A-1, A-2, A-3, A-4, A-5, A-6, A-7, A-8, A-9, A-11, A-12, A-13, A-15, A-21 e A-22. Em um outro aspecto, a presente invenção provê anticorpos humanos que se ligam à região Ser80 a Ser119 do receptor de glucagon humano. Em uma outra configuração, a presente invenção provê anticorpos humanos que competem pela ligação com o anticorpo de referência, onde o

anticorpo de referência se liga à região Ser80 a Ser119 do receptor de glucagon humano. Em uma outra configuração, a presente invenção provê anticorpos humanos que se ligam à região Ser80 a Ser119 do receptor de glucagon e têm um valor de CI50 de 90 nM ou
5 menos, em uma outra configuração 80 nM ou menos, em uma outra configuração, 70 nM ou menos, em uma outra configuração, 60 nM ou menos, em uma outra configuração, 50 nM ou menos, em uma outra configuração, 40 nM ou menos, em uma outra configuração, 30 nM ou menos, em uma outra configuração, 25 nM ou menos, conforme
10 determinado, por exemplo, no ensaio estabelecido no Exemplo 4. Em uma outra configuração, a presente invenção provê anticorpos humanos que competem pela ligação ao receptor de glucagon humano com um anticorpo de referência, onde o anticorpo de referência é o A-3.

15 Em uma configuração adicional, as proteínas de ligação a antígeno, quando ligadas ao receptor de glucagon humano se ligam a este com substancialmente o mesmo Kd que o anticorpo de referência; inibem a estimulação de glucagon do receptor de glucagon humano com substancialmente a mesma CI50 do dito
20 anticorpo de referência; e/ou competem pela ligação com o dito anticorpo de referência no receptor de glucagon humano, onde o dito anticorpo de referência consiste em uma combinação de sequências do domínio variável da cadeia leve e da cadeia pesada selecionadas do grupo consistindo em L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5,
25 L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L11H11, L12H12, L13H13, L15H15, L21H21 e L22H22.

Em uma configuração adicional, é provido um anticorpo humano isolado que, quando ligado ao receptor de

glucagon humano: se liga ao receptor de glucagon humano com substancialmente o mesmo K_d que o anticorpo de referência; inibe a estimulação do glucagon do receptor de glucagon humano com substancialmente a mesma CI_{50} que o dito anticorpo de referência; e/ou compete pela ligação com o dito anticorpo de referência no receptor de glucagon humano, onde o dito anticorpo de referência é selecionado do grupo consistindo na-1, A-2, A-3, A-4, A-5, A-6, A-7, A-8, A-9, A-11, A-12, A-13, A-15, A-21 e A-22.

Em uma configuração adicional, é provido um anticorpo humano isolado que, quando ligado ao receptor de glucagon humano: a. especificamente se liga à porção Ser80 a Ser119 do aminoácido do receptor de glucagon humano; b. reduz a sinalização do glucagon com um valor de CI_{50} de 90 nM ou menos; c. reduz a glicemia em um modelo animal; ou (a) e (b), ou (a), (b) e (c).

A habilidade de competir com um anticorpo é determinada como segue. O Exemplo 8 abaixo descreve um exemplo de ensaio da ligação competitiva usando o A-3 como o anticorpo de referência.

Os anticorpos testados foram sobreponíveis, aqueles que podiam competir pela ligação com o A-3, parcialmente sobreponíveis, aqueles que podiam competir apenas parcialmente pela ligação e anticorpos não-sobreponíveis, aqueles que não competiam pela ligação com o A-3. Os resultados são mostrados nas Figuras 4-6.

Além disso, o sítio de ligação do anticorpo humano A-3 e outros anticorpos humanos foi determinado pela construção dos receptores quiméricos do GCGR humano e dos

receptores do GLP-1 humano, conforme descrito no Exemplo 9 abaixo. Usando os receptores quiméricos, conforme descrito abaixo, e como é mostrado na Figura 7, foi determinado que para o anticorpo A-3, a região dos aminoácidos Ser80 a Ser117 do receptor de glucagon humano foi necessária e suficiente para a ligação. Além disso, o GCGR humano contém 3 pares de cisteínas. Para o anticorpo A-3, o segundo e o terceiro pares de cisteínas, mas não o primeiro par, foram necessários para a ligação. Isto contrasta com os anticorpos A-18, A-21 e A-10, que se ligaram somente quando os 3 pares de cisteínas estavam intactos.

Indicações

O diabetes, em particular o diabetes tipo 2 e suas complicações são um problema crescente para as populações no mundo todo. Em geral, essa doença resulta da produção comprometida de insulina pelas células P pancreáticas. No diabetes tipo 2, a forma mais comum da doença, acredita-se que uma combinação de fatores genéticos e ambientais ocasione falha da célula p, que resulta em comprometimento da secreção e atividade da insulina e resistência à insulina em muitos indivíduos. A obesidade é uma condição que se acredita contribua para o aumento do diabetes tipo 2 em adultos e mesmo em crianças. Sabe-se também que a dislipidemia, ou HDL (lipoproteína de alta densidade) e LDL (lipoproteína de baixa densidade) anormais, está relacionada ao diabetes tipo 2.

O diabetes tipo 2 é caracterizado pela falha dos músculos e outros órgãos em responder às concentrações circulantes normais de insulina. Isto é seguido por um aumento da secreção de insulina pelas células beta pancreáticas, uma condição conhecida

como hiperinsulinemia. Finalmente, as células beta não conseguem mais compensar, levando à diminuição da tolerância à glicose, comprometimento dos níveis de glicose em jejum, hiperglicemia crônica e danos ao tecido. Além disso, sabe-se que o pré-diabetes tipo 2 está relacionado à dislipidemia, ou HLD (lipoproteína de alta densidade) e LDL (lipoproteína de baixa densidade) anormais. Tanto a dislipidemia como a hiperglicemia estão presentes nos pacientes que sofrem de síndrome metabólica.

A presente invenção provê proteínas de ligação a antígeno, em particular, anticorpos humanos que podem ligar-se ao receptor de glucagon in vivo e reduzir os níveis glicêmicos em modelos animais. As proteínas de ligação a antígeno podem também melhorar a tolerância à glicose. Em uma configuração, a presente invenção provê anticorpos totalmente humanos com eficácia in vivo.

O efeito de uma única injeção de anticorpos no camundongo ob/ob, por exemplo, reduz a glicemia por vários dias após a injeção, fornecendo um tratamento eficaz, duradouro para a hiperglicemia, o diabetes tipo 2 e os distúrbios associados. Uma única injeção de anticorpo também melhorou a eliminação da glicose (melhora da tolerância à glicose) do sangue nos testes de tolerância à glicose (GTT) realizados em macacos cynomolgus conforme descrito abaixo.

As proteínas de ligação a antígeno e em particular, os anticorpos humanos da presente invenção são úteis para reduzir a glicose do sangue e soro, melhorando a tolerância à glicose diminuída, melhorando os níveis glicêmicos em jejum e melhorando a dislipidemia. Assim, as proteínas de ligação a antígeno, em particular os anticorpos humanos da presente invenção são úteis para tratar a hiperglicemia, o diabetes tipo 2, a síndrome

metabólica e outras condições associadas, incluindo a dislipidemia. Além disso, foi mostrado que a redução da glicemia é útil em determinadas circunstâncias na prevenção e tratamento de certos tipos de câncer tal como o câncer colorretal, conforme discutido em Richardson et al, Nature Clin Pract Oncol 2: 48-53 (2005), Giovannucci et al. Gastroenterology 132: 2208-2225 (2007), Krone et al, Integrative Cancer Ther 4(1): 25-31 (2005), Chang et al., Diabetologia 46(5): 595-607 (2003), Jee et al, Yonsei Med J 46(4): 449-55 (2005).

Métodos de Tratamento

Em um outro aspecto, é provido um método para tratar um sujeito, consistindo na administração de uma dosagem terapêutica de proteínas de ligação a antígeno da presente invenção. Em uma configuração, as proteínas de ligação a antígeno são anticorpos humanos. O termo "sujeito" usado aqui se refere a um mamífero, incluindo humanos, sendo usado intercambiavelmente com o termo "paciente". Os anticorpos humanos podem ser usados para tratar, controlar ou prevenir um distúrbio ou condição caracterizada por níveis excessivos de glucagon e/ou glicêmicos em um sujeito e melhorar a tolerância à glicose. Esses distúrbios incluem a hiperglicemia, a síndrome metabólica e o diabetes tipo 2. O termo "tratamento" engloba o alívio ou prevenção de pelo menos um sintoma ou outro aspecto de um distúrbio, ou redução da gravidade da doença e assim por diante. Uma proteína de ligação a antígeno, em particular um anticorpo humano de acordo com a presente invenção, não precisa efetuar uma cura completa, ou erradicar todos os sintomas ou manifestações de uma doença, para constituir um agente terapêutico viável. Como é reconhecido no

campo pertinente, as drogas empregadas como agentes terapêuticos podem reduzir a gravidade de uma determinada doença, mas não precisam abolir cada manifestação da doença para serem consideradas como agentes terapêuticos úteis. Similarmente, um
5 tratamento administrado profilaticamente não precisa ser completamente eficaz na prevenção do início de uma condição para constituir um agente profilático viável. Simplesmente reduzir o impacto de uma doença (por exemplo, reduzindo o número ou a gravidade de seus sintomas, ou aumentando a eficácia de um outro
10 tratamento, ou produzindo um outro efeito benéfico), ou reduzir a probabilidade de a doença ocorrer ou piorar em um sujeito, é suficiente. Uma configuração da invenção é dirigida a um método que consiste na administração a um paciente de uma proteína de ligação a antígeno tal como um anticorpo humano, em uma quantidade
15 e por tempo suficiente para induzir uma melhora sustentada sobre o valor basal de um indicador que reflita a gravidade do distúrbio particular.

Como é entendido no campo pertinente, as composições farmacêuticas contendo as proteínas de ligação a
20 antígeno da invenção são administrada a um sujeito do modo apropriado à indicação. Em uma configuração, as composições farmacêuticas consistem nos anticorpos humanos da presente invenção. As composições farmacêuticas podem ser administradas através de qualquer técnica adequada, incluindo, sem limitação,
25 parenteralmente, topicamente ou por inalação. Se injetada, a composição farmacêutica pode ser administrada, por exemplo, por via intra-articular, intravenosa, intramuscular, intralesional, intraperitoneal ou subcutânea, por injeção de bolus, ou infusão

contínua. A administração localizada, por exemplo, em um local da doença ou ferimento é contemplada, assim como a entrega transdérmica e a liberação lenta dos implantes. A entrega por inalação inclui, por exemplo, a inalação nasal ou oral, o uso de um nebulizador, a inalação da proteína de ligação a antígeno em forma de aerossol e similares. Outras alternativas incluem as preparações orais incluindo pílulas, xaropes ou cápsulas.

Vantajosamente, as proteínas de ligação a antígeno da invenção são administradas na forma de uma composição consistindo em um ou mais componentes adicionais tal como um transportador, excipiente ou diluente fisiologicamente aceitável. Opcionalmente, a composição adicionalmente consiste em um ou mais agentes fisiologicamente ativos, por exemplo, conforme descrito abaixo. Em várias configurações particulares, a composição consiste em um, dois, três, quatro, cinco ou seis agentes fisiologicamente ativos, além de uma ou mais proteínas de ligação a antígeno (por exemplo, anticorpos humanos) da presente invenção.

Em uma configuração, a composição farmacêutica consiste em um anticorpo humano da invenção juntamente com uma ou mais substâncias selecionadas do grupo consistindo em um tampão adequado para anticorpos a um pH adequado, um antioxidante tal como o ácido ascórbico, um polipeptídio de baixo peso molecular (tal como aqueles com menos de 10 aminoácidos), uma proteína, um aminoácido, um carboidrato tal como a dextrina, um agente quelante tal como o EDTA, a glutathione, um estabilizante e um excipiente. De acordo com os padrões apropriados da indústria, podem também ser adicionados preservativos. A composição pode ser formulada como um liofilizato usando as soluções de excipientes apropriadas

como diluentes. Os componentes adequados são não-tóxicos para aqueles que os recebem nas dosagens e concentrações empregadas. Mais exemplos de componentes que podem ser empregados nas formulações farmacêuticas são apresentados no Remington's
5 Pharmaceutical Sciences, 16th Ed. (1980) e 20th Ed. (2000), Mack Publishing Company, Easton, PA.

Os kits para uso por profissionais médicos são fornecidos, e incluem uma ou mais proteínas de ligação a antígeno da invenção e um rótulo ou outras instruções para uso no
10 tratamento de qualquer uma das condições aqui discutidas. Em uma configuração, o kit inclui uma preparação estéril de um ou mais anticorpos humanos, que pode ser na forma de uma composição conforme revelado acima e pode ser em um ou mais frascos.

As dosagens e a frequência da administração podem
15 variar de acordo com fatores tais como a via de administração, os anticorpos particulares empregados, a natureza e gravidade da doença a ser tratada, se a condição é aguda ou crônica, e o tamanho e condição geral do sujeito. Dosagens apropriadas podem ser determinadas por procedimentos conhecidos na técnica
20 pertinente, como por exemplo, em estudos clínicos que envolvam estudos de escalonamento da dose.

Uma proteína de ligação a antígeno, em particular, os anticorpos humanos, da invenção pode ser administrada, por exemplo, uma ou mais de uma vez, por exemplo, em
25 intervalos regulares durante um período de tempo. Em configurações particulares, o anticorpo humano é administrado durante um período de pelo menos um mês ou mais, por exemplo, por um, dois ou três meses ou mesmo indefinidamente. Para tratar condições crônicas, o

tratamento por longo prazo é geralmente o mais eficaz. Entretanto, para tratar condições agudas, a administração por períodos mais curtos, por exemplo, de um a seis meses, pode ser suficiente. Em geral, o anticorpo humano é administrado até que o paciente
5 manifeste um grau relevante do ponto de vista médico de melhora sobre o valor basal do indicador ou indicadores escolhidos.

Um exemplo de regime terapêutico fornecido aqui compreende a injeção subcutânea de uma proteína de ligação a antígeno tal como um anticorpo humano uma vez por semana, em uma
10 dose apropriada, para tratar uma condição na qual os níveis glicêmicos exerçam um papel. Exemplos de tais condições são fornecidos aqui e incluem, por exemplo, hiperglicemia, diabetes tipo 2, tolerância à glicose em jejum comprometida, Tolerância à glicose diminuída e dislipidemia. A administração semanal ou
15 mensal da proteína de ligação a antígeno continuaria até que o resultado desejado fosse obtido, por exemplo, os sintomas do sujeito cedessem. O tratamento pode ser retomado se necessário ou, alternativamente, doses de manutenção podem ser administradas.

Os níveis glicêmicos de um sujeito podem ser
20 monitorados antes, durante e/ou após o tratamento com uma proteína de ligação a antígeno tal como um anticorpo humano, para detectar alterações, se houver, em seus níveis. Para alguns distúrbios, a incidência de glicemia elevada pode variar de acordo com fatores tais como o estágio da doença. As técnicas conhecidas podem ser
25 empregadas para medir os níveis glicêmicos. Os níveis de glucagon podem também ser medidos no sangue do paciente usando as técnicas conhecidas, por exemplo, ELISA.

As configurações particulares dos métodos e

composições da invenção envolvem o uso de uma proteína de ligação a antígeno tal como um anticorpo humano e um ou mais antagonistas ao glucagon, por exemplo, duas ou mais proteínas de ligação a antígeno da invenção, ou uma proteína de ligação a antígeno e um ou mais antagonistas ao glucagon. Em configurações adicionais, as proteínas de ligação a antígeno são administradas isoladamente ou em combinação com outros agentes úteis para o tratamento da condição que aflige o paciente. Exemplos de tais agentes incluem tanto medicamentos proteínicos como não-proteínicos. Quando múltiplos agentes terapêuticos são administrados, as dosagens podem ser ajustadas de forma adequada, como é reconhecido na técnica pertinente. "Co-administração" e terapia de combinação não são limitadas à administração simultânea, mas também incluem regimes nos quais uma proteína de ligação a antígeno é administrada pelo menos uma vez no decorrer do tratamento que envolve a administração de pelo menos um outro agente terapêutico ao paciente.

Em um outro aspecto, a presente invenção provê um método para preparar um medicamento para o tratamento do diabetes tipo 2, hiperglicemia, síndrome metabólica, dislipidemia e distúrbios associados consistindo na admistura de uma proteína de ligação a antígeno da presente invenção, por exemplo, um anticorpo humano, em um excipiente farmacologicamente aceitável, para o tratamento do diabetes tipo 2 e distúrbios associados. Os métodos para preparar medicamentos são descritos acima.

Terapias de combinação

Em um outro aspecto, a presente invenção provê um método para tratar um sujeito com diabetes com uma proteína de

ligação a um método para tratar um sujeito com diabetes com um antígeno terapêutico da presente invenção, tal como os anticorpos terapêuticos totalmente humanos aqui descritos, juntamente com um ou mais outros tratamentos.

5 Em uma configuração, essa terapia de combinação consegue um efeito sinérgico. As proteínas de ligação a antígeno podem ser combinadas com um ou mais dos seguintes tratamentos para o diabetes tipo 2 atualmente disponíveis. Estes incluem biguanida (metaformina) e sulfoniluréias (tal como a gliburida, glipizida).
10 Os tratamentos adicionais dirigidos à manutenção da homeostasia, incluem os antagonistas PPAR gama (pioglitazona, rosiglitazona); e inibidores da alfa glicosidase (acarbose, voglibose). Tratamentos adicionais incluem tratamentos injetáveis tal como Exenatide® (peptídeo similar ao glucagon) e Symlin® (pramlintida).

15 Tendo sido descrita a invenção, os seguintes exemplos são oferecidos como ilustração e não como limitação.

Exemplos

Exemplo 1: preparação do antígeno

20 O cDNA do GCGR que codifica o receptor de glucagon de 477 aminoácidos de comprimento total (Nº de ID da SEQ: 2) foi subclonado em um vetor de expressão pDC312 e transfectado em células AMID. Após a seleção e clonagem de uma única célula, um único clone (clone 1004) foi escolhido para caracterização adicional baseada na expressão da superfície celular do receptor.
25 O nível de expressão do receptor (B_{max}) determinado por análise da ligação por saturação foi 11,4 pmole de receptor de glucagon/mg de proteína de membrana.

Além disso, uma sequência de cDNA que codifica um

GCGR N-terminal (aminoácido 1 a 142 do N° de ID da SEQ: 2) foi fundida na estrutura com o cDNA de IgG1 Fc humana e subclonada no vetor pDsRa21 (descrito no U.S. 2005/0118643). Um grupo estável de células foi selecionado após a transfecção em células AMID. O Fc do GCGR N-terminal foi purificado do meio condicionado concentrado através de coluna de Proteína A Fast flow recombinante (GE Healthcare) seguida de coluna de troca aniônica Source 30Q (GE Healthcare).

Exemplo 2: Geração de Hibridoma de Camundongo

10 anti-Humano

Frações de membrana celular natural do clone 1004 descrito acima foram usadas como antígeno para imunização tanto convencional como por RIMMS (Imunização rápida com Injeção em Múltiplos Sítios) de camundongo C57BL/6 ou DBF1 (Jackson Laboratories, Bar Harbor, Maine). Após várias sucessões de imunização, os linfócitos foram liberados dos nódulos linfáticos (imunização por RIMMS) ou do baço (imunização convencional) e foram fundidos com células de mieloma de camundongo, Sp2/0-Ag14 (ATCC) por eletrofusão. As células fundidas foram semeadas em placas de 96 poços na densidade de 2×10^4 células/poço em 100 µl de meio BD suplementado com FBS a 10 %, Origen Cloning Factor a 5% (BioVeris™), 1x Penicilina-Estreptomicina-Glutamina (Gibco) e 1xOPI (oxaloacetato, piruvato e insulina, Sigma). Após 24 h em cultura, foram adicionados 100 µl de 2x HAT (0,1 mM de hipoxantina, 0,16 mM de timidina, 4 mM de aminopterina, Sigma) a cada poço. O meio foi trocado 7 dias e 10 dias após a fusão, respectivamente, e os meios condicionados foram coletados dois dias após a 2ª troca dos meios e enviados para seleção primária

conforme descrito abaixo.

Os sobrenadantes do hibridoma foram submetidos ao ELISA (Ensaio Imunoenzimático) ou ao FMAT (Fluorimetria de Microvolume) com a célula 1004 e paralelamente com células AMID
5 originais. Os clones de hibridoma contendo anticorpos específicos para GCGR foram selecionados com base na ligação específica à 1004 mas não à AMID.

Os anticorpos monoclonais foram parcialmente purificados das culturas de hibridoma expandidas conforme descrito
10 abaixo e dosados usando ensaios tanto de ligação em células (ELISA ou FMAT) como funcionais para neutralização da produção de cAMP induzida pelo glucagon, conforme descrito abaixo. Os clones positivos foram expandidos, clonados em uma única célula e adicionalmente confirmados por múltiplos ensaios.

15 Exemplo 3: Geração de anticorpos Totalmente Humanos

A preparação de membrana celular natural derivada da linhagem celular 1004 de maior expressão do GCGR humano foi utilizada como antígeno para imunizar IgG2 e IgG4 XenoMouse®
20 (Abgenix, agora Amgen, Inc.) de acordo com os protocolos descritos, por exemplo no U.S. 05/0118643 e WO 05/694879, WO 98/24838, WO 00/76310 e na Patente Norte-americana 7.064.244, todos aqui incorporados por referência. Foi conduzido um total de duas campanhas. Após a imunização inicial, sucessões subsequentes
25 de imunizações de reforço foram administradas até ser obtido um título de anticorpos adequado. Os animais exibindo um título adequado foram identificados e os linfócitos foram obtidos da drenagem dos nódulos linfáticos e, se necessário, agrupados de

cada coorte. Em alguns casos, os linfócitos foram dissociados do tecido linfóide por desgaste com meio adequado (por exemplo, DMEM, Invitrogen, Carlsbad, CA) para liberar as células do tecido. Células B foram selecionadas e fundidas com parceiros de fusão adequados, por exemplo, células P3X63Ag8.653 de mieloma não-secretórias (American Type Culture Collection CRL 1580, Kerney et al, J. Immunol. 123, 1548-1550 (1979)), conforme descrito nas referências acima. Outros parceiros de fusão adequados incluem as células Sp2/0-Ag14 (ATCC). As células fundidas foram granuladas e ressuspensas em meios de seleção (normalmente, DMEM contendo azaserina e hipoxantina e outros materiais suplementares), incubadas por 20-30 minutos e então ressuspensas em meios de seleção e cultivadas antes do plaqueamento. As células foram então distribuídas nos poços para maximizar a clonicidade e cultivadas usando as técnicas padrão. Após a cultura, os sobrenadantes do hibridoma foram selecionados em comparação com o clone celular 1004 de receptor de glucagon enriquecido e as linhagens celulares originais AMID usando o FMAT. Os ligadores específicos ao GCGR foram subsequentemente confirmados por análise em FACS com o anticorpo anti-IgG humano marcado com FITC (conjugado de isotiocinato de fluoresceína). Os clones do hibridoma contendo anticorpos monoclonais específicos para o receptor foram expandidos de acordo com os protocolos descritos no U.S. 2005/0118643 e outras referências citadas acima. Os sobrenadantes foram testados para a inibição da produção de cAMP induzida pelo glucagon conforme descrito abaixo. Os clones de hibridoma contendo o anticorpo antagonista foram clonados em uma única célula e expandidos para mais testes. Os anticorpos foram então purificados

conforme descrito abaixo e os anticorpos purificados desses clones únicos foram então testados novamente para a atividade neutralizante.

Os anticorpos foram purificados dos meios condicionados dos hibridomas usando resina Mab Select (GE Healthcare). 100 µl de uma pasta 1:2 de resina Mab Select equilibrada em PBS foram adicionados entre 7 e 10 ml de meio condicionado (CM). Os tubos foram colocados em rotatores a 4-8°C durante a noite. Os tubos foram centrifugados a 1.000 X g por 5 minutos e a fração não-ligada foi decantada. A resina foi lavada com 5 ml de PBS e centrifugada e decantada conforme acima. A resina foi então transferida para um tubo SPIN-X, de 0,45 µm, 2 ml. A resina foi lavada mais duas vezes com 0,5ml de PBS e centrifugada. Os anticorpos monoclonais foram eluídos com 0,2ml de ácido acético 0,1M incubando à temperatura ambiente com mistura ocasional por 10 minutos. Os tubos foram centrifugados e 30 µl de tampão Tris 1M pH 8,0 foram adicionados ao eluato. Os anticorpos purificados foram armazenados a 4-8°C.

Exemplo 4: Caracterização in vitro dos Ensaios de
20 Ligação Anticorpo/Receptor dos Anticorpos: ELISA em Células
Inteiras

Células CHO com superexpressão de GCGR (clone 1004) e células originais (AMID) foram semeadas em microplacas com até 90% de confluência. As células foram bloqueadas com BSA e incubadas com os sobrenadantes dos hibridomas a 4°C por 90 minutos. Após lavagem intensa, as células foram incubadas com Fc-HRP de detecção de IgG de anticorpo anti-murina de cabra (Pierce) e lavadas por três vezes. 50 ul/poço de substrato de TMB (KPL)

foram adicionados e deixados incubar à temperatura ambiente por 5-10 min. A reação foi interrompida com a adição de 50 μ l de H_2SO_4 0,5N e a placa foi lida a 450 nm em um SpectraMax (Molecular Devices). Os soros dos camundongos imunizados com membrana de GCGR foram usados como controles positivos e os meios isoladamente como controle de fundo.

Ensaio de Ligação Anticorpo/Receptor: FMAT

As células CHO com super-expressão de GCGR (clone 1004) foram semeadas em microplacas de 96 poços com parede preta e fundo transparente (Applied Biosystems) em densidade sub-confluyente (50-60%) e incubadas com os sobrenadantes do hibridoma à temperatura ambiente por 60 minutos. As imagens das células e a quantidade de fluorescência da ligação das células foram registradas com o FMAT após a incubação com anticorpo secundário marcado em azul (anti-IgG humano de cabra, Applied Biosystems) usando o 8200 Cellular Detection System (Applied Biosystems).

Ensaio Funcional em Célula

Os anticorpos anti-receptor de glucagon foram testados quanto à sua atividade neutralizante em um ensaio funcional em célula usando linhagens celulares funcionais estáveis. Construções de expressão (pcDNA3.1, Invitrogen) contendo cDNAs de GCGR de rato, cynomolgus, camundongo ou humanos (cDNAs codificando os N^{os} de ID da SEQ: 2, 4, 6, 8 respectivamente) foram transfectadas em células CHO K1 respectivamente, estabelecendo linhagens celulares estáveis. As linhagens celulares funcionais finais expressando GCGR das espécies mencionadas acima foram clonadas em uma única célula dos grupos transfectados e testadas para a produção de cAMP estimulada por glucagon. Com base na CE_{50}

de cada linhagem individual, as linhagens celulares finais do ensaio foram selecionadas e guardadas em banco para uso futuro.

O seguinte protocolo foi usado para determinar o K_b , ou a constante de dissociação da ligação do anticorpo calculada pela análise de Schild com base no deslocamento da curva dose-resposta na presença de um antagonista, em um ensaio da competição da ligação. O uso da análise de Schild é descrito por Lazaeno et al, Br. J. Pharmacol. 109(4):1110-9 (1993), que é aqui incorporado por referência. Esse ensaio é adaptado do uso para moléculas pequenas para uso com os anticorpos deste. Tanto o sobrenadante dos hibridomas como os anticorpos purificados foram testados usando o protocolo abaixo.

O kit HTRF (Homogeneous Time-Resolved Fluorescence)-cAMP Dynamic da Cisbio foi utilizado para o ensaio funcional. Os sobrenadantes dos hibridomas dos clones que mostraram ligação específica ao GCGR humano no ensaio de ligação foram primeiro selecionados usando o ensaio funcional. Os anticorpos foram então purificados dos meios condicionados dos hibridomas e testados novamente para os valores de K_b e CI_{50} . Os anticorpos antagonistas do glucagon, capazes de inibir a produção de cAMP após a estimulação com glucagon podem ser identificados usando este processo.

A linhagem celular funcional estável selecionada conforme descrito acima foi semeada em meia placa de 96 poços. O anticorpo anti GCGR foi adicionado aos poços e incubado a 37°C por 20 minutos seguido da adição de glucagon (Calbiochem) e incubação a 37°C por mais 15 minutos. Após a adição de conjugado de cAMP em tampão de lise e então anti-cAMP-criptato (anticorpo contra

conjugado de cAMP para criptato) aos poços, a placa foi incubada à temperatura ambiente por 1 hora antes de ser lida com RubyStar (leitora de microplaca por fluorescência da BMG Labtech).

Os anticorpos purificados foram inicialmente testados na concentração de 2 uM com a linhagem celular funcional de GCGR humano. As células foram estimuladas com 50 pM de glucagon e os anticorpos que mostraram forte atividade inibitória foram selecionados para a determinação da CI_{50} , que é definida como a concentração de anticorpos necessária para inibir metade da resposta máxima na linha basal. Os anticorpos foram testados a partir da concentração de 1 uM seguida de diluição seriada sequencial de 2 vezes. A curva dose-resposta foi representada graficamente e a CI_{50} foi determinada usando o software GraphPad Prism. Os anticorpos com baixa CI_{50} para o GCGR humano foram selecionados e testados ainda para as atividades de receptor entre espécies usando as linhagens celulares apropriadas.

CI_{50} dos anticorpos humanos nos ensaios funcionais

CI_{50} (nM)				
Anticorpo	Humano	Macaco Cynomolgus	Murino	Rato
A-3	99,1	222,5	44,9	113,5
A-4	118,1	552,1	110,1	117,2
A-9	77,4	226,6	44,1	99,9

Para determinar a potência relativa dos anticorpos anti-GCGR humanos entre as diferentes espécies, foi realizada a análise de Schild para cada um dos anticorpos humanos selecionados. Resumidamente, os anticorpos em diferentes

concentrações foram testados na presença de uma diluição seriada de glucagons, de 100 nM a 10 fM. As curvas de dose-resposta do glucagon em diferentes concentrações de anticorpos foram representadas em gráfico usando o software GraphPad Prism. O pA₂, que é um logaritmo negativo da concentração de anticorpos necessária para causar um deslocamento de 2 vezes para a direita da curva dose-resposta do glucagon, foi calculado para o anticorpo. Quando a inclinação de Schild é igual a 1, o pA₂ é igual ao pK_b, a constante de dissociação da ligação do anticorpo. Em seguida, o K_b é derivado por anti-log de pK_b e pode ser usado diretamente para comparar a potência relativa do anticorpo individual entre as espécies.

Anticorpos adicionais foram testados para a atividade contra o GCGR humano.

Anticorpo	IC ₅₀ (nM)
A-1	5,0
A-2	10,1
A-5	13,3
A-6	32,2
A-7	8,8
A-8	0,4
A-10	Nenhuma atividade
A-11	16,7
A-12	21,3
A-13	72,6
A-14	457,5
A-15	11,3

A-16	Nenhuma atividade
A-17	Nenhuma atividade
A-18	203,7
A-19	Nenhuma atividade
A-20	Nenhuma atividade
A-21	47,2
A-22	7,2
A-23	Nenhuma atividade

Valores de Kb determinados pela Análise de Schild

Kb (nM)				
	Humano	Macaco Cynomolgus	Murino	Rato
A-3	1,6	5,0	0,5	3,2
A-4	1,76	5,7	0,88	ND

Exemplo 5: Expressão Recombinante e Purificação

dos Anticorpos

Desenvolvimento de Anticorpos Expressando

5 Linhagem Celular Estável

Primers [Preparadores] PCR foram designados para capturar a estrutura completa de leitura aberta da cadeia leve e o peptídeo do sinal e a região variável da estrutura de leitura aberta da cadeia pesada com base nas sequências de DNA de cada anticorpo fornecido pela Abgenix. O peptídeo de sinal e a região variável completa da cadeia leve e da cadeia pesada mais a região constante da IgG2 humana foram ligados nos vetores de expressão

pDC323 e pDC324 respectivamente.

Como exemplo dos conjuntos de primers PCR, o primer da cadeia leve 5' A-9 foi o 4337-12 (5'-AAG CTC GAG GTC GAC TAG ACC ACC ATG GAC ATG AGG GTC CCC GCT CAG CTC CTG-3') (Nº de ID da SEQ: 313) que contém o sítio da enzima de restrição SalI, um códon de terminação na estrutura, a sequência de Kozak e os códigos dos aminoácidos MDMRVPAQLL (Nº de ID da SEQ: 314) e o primer 3' 3250-80 (5'-AAC CGT TTA AAC GCG GCC GCT CAA CAC TCT CCC CTG TTG AA-3') (Nº de ID da SEQ: 315) que contém o sítio da enzima de restrição NotI, o códon de terminação e os códigos para os aminoácidos FNRGEC (Nº de ID da SEQ: 316). O primer da cadeia pesada 5' A-9 foi o 3444-34 (5'-AAG CTC GAG GTC GAC TAG ACC ACC ATG GAG TTT GGG CTG AGC TGG GTT TTC-3') (Nº de ID da SEQ: 317) que contém o sítio da enzima de restrição SalI, um códon de terminação na estrutura, a sequência de Kozak e os códigos para os aminoácidos MEFGLSWVF (Nº de ID da SEQ: 318), o preparador de filamento (+) 4341-29 (5'-GAC CAC GGT CAC CGT CTC CTC AGC CTC CAC CAA GGG CCC ATC GGT CTT-3') (Nº de ID da SEQ: 319) da junção da região variável da cadeia pesada A-9/IgG2 e seu preparador de filamento (-) complementar 4341-30 (5'-AAG ACC GAT GGG CCC TTG GTG GAG GCT GAG GAG ACG GTG ACC GTG GTC-3') (Nº de ID da SEQ: 320) que codificam os aminoácidos GTTVTVSSASTKGPSVF (Nº de ID da SEQ: 321) e o preparador 3' 3250-79 (5'-AAC CGT TTA AAC GCG GCC GCT CAT TTA CCC GGA GAC AGG GA-3') (Nº de ID da SEQ: 322) que contém o sítio da enzima de restrição NotI, o códon de terminação e os códigos para os aminoácidos SLSPGK (Nº de ID da SEQ: 323).

As células hospedeiras CHO usadas para a transfecção do(s) plasmídeo(s) anti-expressão de GCGR são

linhagens celulares CHO derivadas das células DXB-11 (Urlaub et al, PNAS US 77:4126-4220, (1980)) através de adaptação para meio isento de soro (Rasmussen et al, Cytotechnology 28:31-42, 1998).

As linhagens celulares anti-GCGR foram criadas transferindo-se células hospedeiras com os plasmídeos de expressão pDC323-anti-GCGR kappa e pDC324- [anti-GCGR-IgG2] usando um procedimento de eletroporação padrão. Após a transfecção da linhagem celular hospedeira com os plasmídeos de expressão as células foram cultivadas em meio de seleção (sem GHT) contendo 4% de soro bovino fetal dializado (ds ou dfFBS) por 2-3 semanas para permitir a seleção do plasmídeo e a recuperação das células. O soro foi então removido do meio e as células foram cultivadas em meio -GHT até atingirem viabilidade de >85%. Esse grupo de células transfectadas foi então cultivado em meio contendo 150 nM de MTX.

15 Clonagem da Linhagem Celular

Um banco de células foi feito com os clones selecionados de acordo com o seguinte procedimento. A etapa de clonagem assegura que foram geradas populações clonais e bancos de células que permitam um desempenho reprodutível na fabricação comercial. Um grupo amplificado de células expressando anticorpos foi semeado sob diluição limitada em placas de 96 poços e os clones candidatos foram avaliados quanto ao crescimento e desempenho da produtividade em estudos em pequena escala.

Exemplo 6: Atividade In vivo em Camundongos ob/ob

25 Camundongos ob/ob machos de 12 semanas (Jackson Laboratories, Bar Harbor, Maine) foram injetados IP com um tampão ou o anticorpo 3 ou 4 na dose de 1 ou 3 mg/kg (n=8-10/grupo). A glicemia foi medida no momento 0 e em 24, 48, 72, 96, 120, 144,

192 e 240 horas após uma injeção única de anticorpo. A glicemia foi reduzida com o anticorpo 3 por 8 dias a uma dose de 3 mg/kg de anticorpo como é mostrado na Figura 1.

5 Similarmente, camundongos ob/ob machos de 12 semanas (Jackson Laboratories, Bar Harbor, Maine) foram injetados IP com um tampão ou o anticorpo 3 ou 9 na dose de 1 ou 3 mg/kg (n=8-10/grupo). A glicose foi medida no momento 0 e 24, 72, 120, 192 e 240 horas após uma injeção única de anticorpo. A glicemia foi reduzida com o anticorpo 3 e 9 por 8 dias a uma dose de 3
10 mg/kg de anticorpo como é mostrado na Figura 2.

Exemplo 7: Eficácia in vivo em macacos cynomolgus machos normais

A eficácia de uma dose subcutânea (SC) única de anticorpo A-9 foi avaliada em 35 macacos cynomolgus machos no
15 Yunnan Primate Center (Yunnan, China). Testes de tolerância à glicose (GTT) foram realizados nos macacos testando a eliminação da glicose do sangue após provocação com uma dose oral de glicose. Os dados do GTT são apresentados como AUC (área sob a curva), como é mostrado na Figura 3, representando a eliminação da glicose
20 medida pela quantidade de glicose sanguínea em 0, 30 e 90 minutos após a provocação. Como mostra a Figura 3, o GTT1 pré-dose foi administrado de modo escalonado iniciando 24 dias antes da administração do anticorpo, o GTT2 pré-dose foi administrado de modo escalonado iniciando 17 dias antes de uma dose única. O
25 anticorpo foi administrado em injeção subcutânea (SC) única de um total de 3 ou 30 mg/kg de anticorpo A-9 ou um controle a 30 macacos cynomolgus machos. O GTT3 foi administrado aos macacos 3 dias após a injeção, o GTT4 foi administrado 8 dias após a injeção

e o GTT5 foi administrado 17 dias após a injeção. Os resultados, mostrados na Figura 3, foram que uma injeção SC única de 3 ou 30 mg/kg de anticorpo 9 melhorou a eliminação da glicose durante um teste de tolerância à glicose.

Exemplo 8: Ensaio de ligação competitiva

Vários dos anticorpos da presente invenção foram isolados em compartimentos ["binned"] usando um ensaio de ligação competitiva para determinar quais anticorpos competiam entre si pela ligação com um anticorpo anti-GCGR de referência marcado. O anticorpo A-3 foi marcado com corante fluorescente Alexa (Molecular Probes/Invitrogen, Carlsbad, CA) como tracer [rastreável], preparado de acordo com as instruções do fabricante. Cada anticorpo foi analisado em uma faixa de dose quanto à sua habilidade de competir com o anticorpo A-3 fixo em uma concentração de 1 nM para a ligação ao receptor de GCGR humano expresso nas células CHO (conforme descrito acima). A intensidade fluorescente foi medida por FMAT conforme descrito no Exemplo 4 e foi calculada a extensão da inibição da ligação do A-3 com Alexa ao receptor. Três grupos de anticorpos podem ser categorizados com base nessas análises. Eles são os anticorpos sobreponíveis, parcialmente sobreponíveis ou não-sobreponíveis ao competir com o A-3 com Alexa. Os anticorpos sobreponíveis são capazes de competir pela ligação com o A-3, enquanto que os anticorpos não-sobreponíveis não conseguem competir e parecem ter diferentes sítios de ligação no GCGR humano. Os anticorpos parcialmente sobreponíveis têm alguma sobreposição do sítio de ligação com o A-3. Esses são mostrados nas Figuras 4-6. Foi concluído que os anticorpos testados que são capazes de competir pela ligação com o

A-3 com Alexa A-3 (sobreponíveis) são A-11, A-2, A-7, A-12, A-17, A-6, A-8, A-15 e A-5. Os anticorpos testados e considerados como somente parcialmente capazes de competir pela ligação com o A-3 com Alexa (parcialmente sobreponíveis) são A-16, A-14, A-20 e A-23. Os anticorpos testados e considerados como não capazes de competir pela ligação com o A-3 com Alexa são o A-19 e o A-10. Foi observado que todos ou a maioria dos anticorpos sobreponíveis mostram atividade inibitória no ensaio em célula (CI50), enquanto que os anticorpos parcialmente sobreponíveis e os não-sobreponíveis não mostraram atividade usando este ensaio.

Exemplo 9: Construção de Receptores Quiméricos

O GCGR humano é principalmente homólogo ao receptor de GLP-1 humano e ambos pertencem à família B de GPCR com 3 pares de cisteínas na seção N-terminal dos receptores. Para determinar a região ou sítio no GCGR humano ao qual os anticorpos humanos que estão sendo testados se ligam e determinar a importância da conformação mantida pelos três pares de cisteínas que formam as ligações dissulfídicas umas com as outras, múltiplas construções de receptor quimérico entre o GCGR humano e o GLP-1R humano (GLP-1R, número da autorização NP_002053) foram geradas e expressas nas células. Estas são mostradas na Figura 7. As sequências de quimeras do GCGR humano são indicadas na Figura 7. Por exemplo, na quimera 4 mostrada na parte superior da Figura, os aminoácidos 1-142 são do GCGR humano e o restante do receptor de GLP-1. A quimera 4 contém os três pares de cisteínas intactas. Mutações pontuais em pares de cisteínas (Cys 1-3, Cys 2-5 ou Cys 4-6) foram introduzidas na quimera 4 e, portanto, as três quimeras subsequentes, quimera-4 ICA, 3CA; 4 2CA, 5CA e 4 4CA, 6CA têm cada

uma os pares de cisteína rompidos. A quimera-7 tem os aminoácidos 1-79 do GCGR humano; a quimera-8 tem os aminoácidos 80-477 do GCGR humano; a quimera-10 tem os aminoácidos 80-142 do GCGR humano; a quimera-15 tem os aminoácidos 80-119 do GCGR humano; a quimera-19 tem os aminoácidos 1-119 e 143-477 do GCGR humano. A expressão dos receptores da superfície da célula foi monitorada pela fusão da proteína fluorescente no C-terminal da estrutura. A ligação do anticorpo ao receptor da quimera específica foi medida diretamente pelo FMAT com o anticorpo A-3 de referência marcado com Alexa.

Como é mostrado na Fig 7, todos os anticorpos testados aqui requerem N-terminais do GCGR humano (aminoácido 1-142) para a ligação. Os anticorpos A-18, A-21 e A-10 se comportaram similarmente visto que exibiram ligar somente a quimera-4 com os três pares de cisteína intactos. Isto indica um epítipo conformational para esses anticorpos. Para o anticorpo A-3, a sequência de aminoácidos de 80 a 119 do GCGR humano é necessária e suficiente para a ligação do anticorpo. Além disso, foi demonstrado que os aminoácidos 120-142 do GCGR humano não são necessários para a ligação do A-3. Além do mais, para o anticorpo A-3, a conformação é mantida pelo 2º e 3º pares (Cys 2-5, Cys 4-6), mas não pelo 1º par de cisteínas. Portanto, a área do receptor em que o anticorpo A-3 e todos os anticorpos que têm reação cruzada com o A-3 se ligam ao GCGR humano é dentro dos aminoácidos Ser80 a Ser 119 do GCGR humano.

Cada referência citada aqui é incorporada por referência na sua totalidade para tudo que ela instrui e para todas as finalidades.

A presente invenção não é limitada em escopo

pelas configurações específicas aqui descritas, cujo propósito é a
ilustração simples dos aspectos individuais da invenção e métodos
e componentes funcionalmente equivalentes da invenção. De fato,
várias modificações da invenção, além daquelas mostradas e
5 descritas aqui se tornarão aparentes para aqueles habilitados na
técnica através da descrição precedente e desenhos que a
acompanham. Tais modificações têm o propósito de cair dentro do
escopo das reivindicações anexadas.

LISTAGEM DE SEQUÊNCIA

<110> AMGEN INC.
YAN, HAI
HU, SHAW-FEN SYLVIA
BOONE, THOMAS C.
LINDBERG, RICHARD A.

<120> COMPOSITIONS AND METHODS RELATING TO GLUCAGON RECEPTOR
ANTIBODIES

<130> A-1133-WO-PCT

<140> to be assigned
<141> 2007-09-19

<150> 60/846,202
<151> 2006-09-20

<150> 60/968,977
<151> 2007-08-30

<160> 324

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1
<211> 1519
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 1
gtgcagcccc tgccagatgt gggaggcagc tagctgcca gaggcattgcc cccctgccag
60
ccacagcgac cccctgctgct gttgctgctg ctgctggcct gccagccaca ggtcccctcc
120
gctcaggtga tggacttcct gtttgagaag tggaagctct acggtgacca gtgtcaccac
180
aacctgagcc tgctgcccc tcccacggag ctggtgtgca acagaacctt cgacaagtat
240
tcctgctggc cgacaccccc cgccaatacc acggccaaca tctcctgccc ctggtacctg
300
ccttggcacc acaaagtgc acaccgcttc gtgttcaaga gatgcggggc cgacgggtcag
360
tgggtgctg gaccccgggg gcagccttgg cgtgatgcct cccagtgcc gatggatggc
420
gaggagattg aggtccagaa ggagggtggc aagatgtaca gcagcttcca ggtgatgtac
480

acagtgggct acagcctgtc cctggggggc ctgctcctcg ccttggccat cctggggggc
540

ctcagcaagc tgcactgcac ccgcaatgcc atccacgcga atctgtttgc gtccttcgtg
600

ctgaaagcca gctccgtgct ggtcattgat gggctgctca ggaccgccta cagccagaaa
660

attggcgacg acctcagtgt cagcacctgg ctcaagtatg gagcgggtggc tggctgccgt
720

gtggccgcgg tgttcatgca atatggcatc gtggccaact actgctggct gctggtggag
780

ggcctgtacc tgcacaacct gctgggcctg gccaccctcc ccgagaggag cttcttcagc
840

ctctacctgg gcatcggctg gggtgccccc atgctgttcg tcgtcccctg ggcagtggtc
900

aagtgtctgt tcgagaacgt ccagtgctgg accagcaatg acaacatggg cttctggtgg
960

atcctgcggt tccccgtctt cctggccatc ctgatcaact tcttcatctt cgtccgcac
1020

gttcagctgc tcgtggccaa gctgcgggca cggcagatgc accacacaga ctacaagttc
1080

cggctggcca agtccacgct gaccctcatc cctctgctgg gcgtccacga agtggctctc
1140

gccttcgtga cggacgagca cgcccagggc accctgcgct ccgccaagct cttcttcgac
1200

ctcttctca gctccttcca gggcctgctg gtggctgtcc tctactgctt cctcaacaag
1260

gaggtgcagt cggagctgcg gcggcggttg caccgctggc gcctgggcaa agtgctatgg
1320

gaggagcgga acaccagcaa ccacagggcc tcattcttcg ccggccacgg cctcccagc
1380

aaggagctgc agtttgggag gggtggtggc agccaggatt catctgcgga gacccccttg
1440

gctggtggcc tccctagatt ggctgagagc cccttctgaa ccctgctggg accccagcta
1500

gggctggact ctggcaccc
1519

<210> 2
 <211> 477
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 2
 Met Pro Pro Cys Gln Pro Gln Arg Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu
 1 5 10 15

Leu Ala Cys Gln Pro Gln Val Pro Ser Ala Gln Val Met Asp Phe Leu
 20 25 30

Phe Glu Lys Trp Lys Leu Tyr Gly Asp Gln Cys His His Asn Leu Ser
 35 40 45

Leu Leu Pro Pro Pro Thr Glu Leu Val Cys Asn Arg Thr Phe Asp Lys
 50 55 60

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

Cys Pro Trp Tyr Leu Pro Trp His His Lys Val Gln His Arg Phe Val
 85 90 95

Phe Lys Arg Cys Gly Pro Asp Gly Gln Trp Val Arg Gly Pro Arg Gly
 100 105 110

Gln Pro Trp Arg Asp Ala Ser Gln Cys Gln Met Asp Gly Glu Glu Ile
 115 120 125

Glu Val Gln Lys Glu Val Ala Lys Met Tyr Ser Ser Phe Gln Val Met
 130 135 140

Tyr Thr Val Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Gly Ala Leu Leu Leu Ala Leu
 145 150 155 160

Ala Ile Leu Gly Gly Leu Ser Lys Leu His Cys Thr Arg Asn Ala Ile
 165 170 175

His Ala Asn Leu Phe Ala Ser Phe Val Leu Lys Ala Ser Ser Val Leu
 180 185 190

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

Arg Trp Arg Leu Gly Lys Val Leu Trp Glu Glu Arg Asn Thr Ser Asn
 420 425 430

His Arg Ala Ser Ser Ser Pro Gly His Gly Pro Pro Ser Lys Glu Leu
 435 440 445

Gln Phe Gly Arg Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ser Ser Ala Glu Thr Pro
 450 455 460

Leu Ala Gly Gly Leu Pro Arg Leu Ala Glu Ser Pro Phe
 465 470 475

<210> 3
 <211> 1880
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 3
 cgcgaggagc gcagccctag ccccggcgac tgagcacacc tgaggagagg tgcacacact
 60

ctgaggacct aggtgtgcaa cctctgccag atgtggggcg tggctacca gaggcacacc
 120

cctcaccag ctccactgtc cccacctgct gctgctgctg ttggtgctgt catgtctgcc
 180

agaggcacc tctgcccagg taatggactt tttgtttgag aagtggaagc tctatagtga
 240

ccaatgccac cacaacctaa gcctgctgcc cccacctact gagctggtct gtaacagaac
 300

cttcgacaag tactcctgct ggctgacac ccctcccaac accactgcc aattttcctg
 360

cccctggtac ctaccttgg accacaaagt gcagcaccgc ctagtgttca agaggtgtgg
 420

gcccgatggg cagtgggttc gagggccacg ggggcagccg tggcgcaacg cctcccaatg
 480

tcagttggat gatgaagaga tcgagggtcca gaaggggggtg gccaagatgt atagcagcca
 540

gcaggtgatg tacaccgtgg gctacagtct gtccctgggg gccttgctcc ttgcgctggg
 600

catcctgctg ggccctcagga agctgcactg caccggaaac tacatccatg ggaacctgtt
 660

tgcgtccttt gtgctcaagg ctggctctgt gttggtcacg gattggctgc tgaagacacg
720

gtacagccag aagattggcg atgacctcag tgtgagcgtc tggctcagtg acggggcgat
780

ggccggctgc agagtggcca cagtgatcat gcagtacggc atcatagcca actattgctg
840

gttgctggta gagggcgtgt acctgtacag cctgctgagc cttgccacct tctctgagag
900

gagcttcttt tccctctacc tgggcattgg ctgggggtgcg cccctgctgt ttgtcatccc
960

ctgggtgggtg gtcaagtgtc tgtttgagaa tgttcagtgc tggaccagca atgacaacat
1020

gggattcttg tggatcctgc gtattcctgt cttcctggcc ttactgatca attttttcat
1080

ctttgtccac atcattcacc ttcttgtggc caagctgcgt gcccatcaga tgcactatgc
1140

tgactataag ttccggctgg ccaggtccac gctgaccctc atccctctgc tgggggtcca
1200

cgaggtggtc tttgcctttg tgactgacga gcatgccaa ggcaccctgc gctccaccaa
1260

gctctttttt gacctgttcc tcagctcctt ccagggtctg ctggtggctg ttctctactg
1320

tttcctcaac aaggaggtgc aggcagagct gatgcggcgt tggaggcaat ggcaagaagg
1380

caaagctctt caggaggaaa ggttggccag cagccatggc agccacatgg ccccagcagg
1440

gccttgtcat ggtgatccct gtgagaaact tcagcttatg agtgcaggca gcagcagtgg
1500

gactggctgt gtgccctcta tggagacctc gctggccagt agtctcccaa ggttggctga
1560

cagccccacc tgaatctcca ctggagccta gccaggctgc gttcagaaag ggcctcagag
1620

gacaaccag agccagatgc ccggccaagg ctgaagagac aaagcagcaa gacagcagct
1680

tgtactgtgc aactcccct aacctgtcct agcctggcac aggccacagt gacagagtag
1740

gggttgata tgatggagaa gccatgttat ctatgaactc tgagtgttcc catgtgtgtt
1800

gacatggtcc ctgtaccag atatgtcctt cagtaaaaag ctcgagtggg agctgctgca
1860

caaaaaaaaa aaaaaaaaaa
1880

<210> 4
<211> 485
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 4
Met Pro Leu Thr Gln Leu His Cys Pro His Leu Leu Leu Leu Leu Leu
1 5 10 15

Val Leu Ser Cys Leu Pro Glu Ala Pro Ser Ala Gln Val Met Asp Phe
20 25 30

Leu Phe Glu Lys Trp Lys Leu Tyr Ser Asp Gln Cys His His Asn Leu
35 40 45

Ser Leu Leu Pro Pro Pro Thr Glu Leu Val Cys Asn Arg Thr Phe Asp
50 55 60

Lys Tyr Ser Cys Trp Pro Asp Thr Pro Pro Asn Thr Thr Ala Asn Ile
65 70 75 80

Ser Cys Pro Trp Tyr Leu Pro Trp Tyr His Lys Val Gln His Arg Leu
85 90 95

Val Phe Lys Arg Cys Gly Pro Asp Gly Gln Trp Val Arg Gly Pro Arg
100 105 110

Gly Gln Pro Trp Arg Asn Ala Ser Gln Cys Gln Leu Asp Asp Glu Glu
115 120 125

Ile Glu Val Gln Lys Gly Val Ala Lys Met Tyr Ser Ser Gln Gln Val
130 135 140

Met Tyr Thr Val Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Gly Ala Leu Leu Leu Ala
145 150 155 160

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

Phe Asp Leu Phe Leu Ser Ser Phe Gln Gly Leu Leu Val Ala Val Leu
 385 390 395 400

Tyr Cys Phe Leu Asn Lys Glu Val Gln Ala Glu Leu Met Arg Arg Trp
 405 410 415

Arg Gln Trp Gln Glu Gly Lys Ala Leu Gln Glu Glu Arg Leu Ala Ser
 420 425 430

Ser His Gly Ser His Met Ala Pro Ala Gly Pro Cys His Gly Asp Pro
 435 440 445

Cys Glu Lys Leu Gln Leu Met Ser Ala Gly Ser Ser Ser Gly Thr Gly
 450 455 460

Cys Val Pro Ser Met Glu Thr Ser Leu Ala Ser Ser Leu Pro Arg Leu
 465 470 475 480

Ala Asp Ser Pro Thr
 485

<210> 5
 <211> 1875
 <212> DNA
 <213> Rattus norvegicus

<400> 5
 gaattcgcg cgcgcgcgcg gcccagatc ccagtgcgcg aggagcccag tcctagaccc
 60

agcaacctga ggagaggtgc acacaccccc aaggaccag gcaccaacc tctgccagat
 120

gtgggggggt ggctaccag aggcattgctc ctacccagc tccattgtcc ctacctgtg
 180

ctgctgctgg tgggtgctgc atgtctgcca aaggaccct ctgccaggt aatggacttt
 240

ttgtttgaga agtggaagct ctatagtgc cagtgccacc acaacctaa cctgctgccc
 300

ccacctactg agctgggtctg caacagaact ttcgacaagt actcctgctg gcctgacacc
 360

cctcccaaca ccactgccaa catttcctgc ccctggtacc taccttggtgta ccacaaagtg
420

cagcaccgcc tagtggtcaa gaggtgtggg cctgatgggc agtgggttcg agggccacgg
480

gggcagtcac ggcgcgacgc ctcccaatgt cagatggatg atgacgagat cgagggtccag
540

aagggggtag ccaagatgta tagcagctac caggtgatgt aactgtggg ctacagtctg
600

tccctggggg ccttgctcct ggcgctggtc atcctgctgg gcctcaggaa gctgcactgc
660

acccggaact acatccacgg gaacctgttc gcgtccttcg tgctcaaggc tggctctgtg
720

ctgggtcattg attggctgct caagacacgc tatagccaga agattggaga tgacctcagt
780

gtgagcgtct ggctcagtga tggggcggtg gctggctgca gagtggccac agtgatcatg
840

cagtacggca tcatagccaa ctactgctgg ttgctggtgg aggggtgtgta cctgtacagc
900

ctgctgagca tcaccacctt ctcggaagaag agcttcttct ccctctatct gtgcatcggc
960

tggggatctc ccctgctggt tgtcatcccc tgggtggtgg tcaagtgtct gtttgagaat
1020

gtccagtgtc ggaccagcaa tgacaatatg ggattctggt ggatcctgcg tatccctgta
1080

ctcctggcca tactgatcaa ttttttcac tttgtccgca tcattcatct tcttgtggcc
1140

aagctgcgtg cccatcagat gcactatgct gattacaagt tccggctagc cagggtccacg
1200

ctgaccctca ttctctgct gggagtccac gaagtgggtct ttgcctttgt gactgatgag
1260

catgcccagg gcaccctgcg ctccaccaag ctcttttttg acctgttctt cagctccttt
1320

cagggctctgc tgggtggctgt tctctactgt ttctcaaca aggaggtgca ggcagagcta
1380

ctgcggcggtt ggaggcgatg gcaagaaggc aaagctcttc aggaggaaaag gatggccagc
1440

agccatggca gccacatggc cccagcaggg acttgatcatg gtgatccctg tgagaaactt
1500

cagcttatga gtgcaggcag cagcagtggg actggctgtg agccctctgc gaagacctca
1560

ttggccagta gtctcccaag gctggctgac agccccacct gaatctccac tggactccag
1620

ccaagttgga ttcagaaagg gcctcacaag acaaccaga aacagatgcc tggccaaggc
1680

tgaagaggca aagcagcaag acagcagctt gtactatcca cactccccta acctgtcctg
1740

gccgggtaca ggccacattg atggagtagg ggctggatat gatggagtag ccatgctatg
1800

aactatgggt gttcccatga gtgttgccat gttccatgca cacagatatg accttcagta
1860

aagagctccc gtagg
1875

<210> 6

<211> 485

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 6

Met	Leu	Leu	Thr	Gln	Leu	His	Cys	Pro	Tyr	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Val
1				5					10						15

Val	Leu	Ser	Cys	Leu	Pro	Lys	Ala	Pro	Ser	Ala	Gln	Val	Met	Asp	Phe
			20					25					30		

Leu	Phe	Glu	Lys	Trp	Lys	Leu	Tyr	Ser	Asp	Gln	Cys	His	His	Asn	Leu
		35					40					45			

Ser	Leu	Leu	Pro	Pro	Pro	Thr	Glu	Leu	Val	Cys	Asn	Arg	Thr	Phe	Asp
	50					55					60				

Lys	Tyr	Ser	Cys	Trp	Pro	Asp	Thr	Pro	Pro	Asn	Thr	Thr	Ala	Asn	Ile
65					70					75					80

Ser	Cys	Pro	Trp	Tyr	Leu	Pro	Trp	Tyr	His	Lys	Val	Gln	His	Arg	Leu
				85					90					95	

Val Phe Lys Arg Cys Gly Pro Asp Gly Gln Trp Val Arg Gly Pro Arg
 100 105 110

Gly Gln Ser Trp Arg Asp Ala Ser Gln Cys Gln Met Asp Asp Asp Glu
 115 120 125

Ile Glu Val Gln Lys Gly Val Ala Lys Met Tyr Ser Ser Tyr Gln Val
 130 135 140

Met Tyr Thr Val Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Gly Ala Leu Leu Leu Ala
 145 150 155 160

Leu Val Ile Leu Leu Gly Leu Arg Lys Leu His Cys Thr Arg Asn Tyr
 165 170 175

Ile His Gly Asn Leu Phe Ala Ser Phe Val Leu Lys Ala Gly Ser Val
 180 185 190

Leu Val Ile Asp Trp Leu Leu Lys Thr Arg Tyr Ser Gln Lys Ile Gly
 195 200 205

Asp Asp Leu Ser Val Ser Val Trp Leu Ser Asp Gly Ala Val Ala Gly
 210 215 220

Cys Arg Val Ala Thr Val Ile Met Gln Tyr Gly Ile Ile Ala Asn Tyr
 225 230 235 240

Cys Trp Leu Leu Val Glu Gly Val Tyr Leu Tyr Ser Leu Leu Ser Ile
 245 250 255

Thr Thr Phe Ser Glu Lys Ser Phe Phe Ser Leu Tyr Leu Cys Ile Gly
 260 265 270

Trp Gly Ser Pro Leu Leu Phe Val Ile Pro Trp Val Val Val Lys Cys
 275 280 285

Leu Phe Glu Asn Val Gln Cys Trp Thr Ser Asn Asp Asn Met Gly Phe
 290 295 300

Trp Trp Ile Leu Arg Ile Pro Val Leu Leu Ala Ile Leu Ile Asn Phe
 305 310 315 320

Phe Ile Phe Val Arg Ile Ile His Leu Leu Val Ala Lys Leu Arg Ala
 325 330 335

His Gln Met His Tyr Ala Asp Tyr Lys Phe Arg Leu Ala Arg Ser Thr
 340 345 350

Leu Thr Leu Ile Pro Leu Leu Gly Val His Glu Val Val Phe Ala Phe
 355 360 365

Val Thr Asp Glu His Ala Gln Gly Thr Leu Arg Ser Thr Lys Leu Phe
 370 375 380

Phe Asp Leu Phe Phe Ser Ser Phe Gln Gly Leu Leu Val Ala Val Leu
 385 390 395 400

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

Arg Arg Trp Gln Glu Gly Lys Ala Leu Gln Glu Glu Arg Met Ala Ser
 420 425 430

Ser His Gly Ser His Met Ala Pro Ala Gly Thr Cys His Gly Asp Pro
 435 440 445

Cys Glu Lys Leu Gln Leu Met Ser Ala Gly Ser Ser Ser Gly Thr Gly
 450 455 460

Cys Glu Pro Ser Ala Lys Thr Ser Leu Ala Ser Ser Leu Pro Arg Leu
 465 470 475 480

Ala Asp Ser Pro Thr
 485

<210> 7

<211> 1434

<212> DNA

<213> *Macaca fascicularis*

<400> 7

atgccccct gtcagccacg tcgaccctg ctactgttgc tgctgctgct ggctgccag
 60

ccacaggccc cctccgctca ggtgatggac ttctgtttg agaagtggaa actctacggt
120

gaccagtgtc accacaacct gagcctgctg cccccccca cggagctggt ctgtaacaga
180

accttcgaca agtattcctg ctggccagac acccccgcca ataccacagc caacatctcc
240

tgcccttggg acctgccttg gcaccacaaa gtgcaacacc gcttcgtggt caagagatgc
300

gggcccgatg gtcagtgggt gcgtggaccc cgggggcagc cttggcgtga cgctctcag
360

tgccagatgg acggcgagga gcttgaggtc cagaaggagg tggctaagat gtacagcagc
420

ttccaggtga tgtacacggt gggctacagc ctgtccctgg gggccctgct cctcgccttg
480

gccatcctgg ggggcatcag caagctgcac tgcacccgca acgccatcca cgcgaacctg
540

tttgtgtcct tcgtgctgaa ggccagctcc gtgctgggtca tcgatgggct gctcaggacc
600

cgctacagcc agaagattgg cgacgacctc agtgtcagca tctgggtcag tgatggagcg
660

gtggccggct gccgtgtggc cgcggtgttc atgcaatatg gcgtcgtggc caactactgc
720

tggtgctggt tggagggcct gtacctgcac aacctgctgg gcctggccac cctccctgag
780

aggagcttct tcagcctcta cctgggcata ggctgggggtg ccccatgct gttcatcatc
840

ccctgggtgg tggtcagggt tctgttcgag aacatccagt gctggaccag caatgacaac
900

atgggcttct ggtggatcct gcggttcccc gtcttcctgg ccatcctgat caacttcttc
960

atcttcatcc gcattgttca cctgcttgtg gccaaagtgc gggcgcgggga gatgcaccac
1020

acagactaca agttccgact ggccaagtcc aactgaccc tcatccccct gctgggtgtc
1080

cacgaagtga tcttcgcctt cgtgacggac gagcacgccc agggcacccct gcgcttcgcc
1140

aagctcttct tcgacctctt cctcagctcc ttccagggcc tgctggtggc tgcctctac
1200

tgcttcctca acaaggaggt gcagtcggaa cttcggcggc attggcaccg ctggcgctg
1260

ggcaaagtgc tgcaggagga gcggggcacc agcaaccaca agaccccatc tgcgcctggc
1320

caaggccttc ctggcaagaa gctgcagtct gggaggggtg gtggcagcca ggactcatct
1380

gcggagatec ccttggtctg tggcctccct aggttggctg agagcccctt ctga
1434

<210> 8

<211> 477

<212> PRT

<213> *Macaca fascicularis*

<400> 8

Met	Pro	Pro	Cys	Gln	Pro	Arg	Arg	Pro	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu
1				5					10					15		

Leu	Ala	Cys	Gln	Pro	Gln	Ala	Pro	Ser	Ala	Gln	Val	Met	Asp	Phe	Leu
			20					25					30		

Phe	Glu	Lys	Trp	Lys	Leu	Tyr	Gly	Asp	Gln	Cys	His	His	Asn	Leu	Ser
		35					40					45			

Leu	Leu	Pro	Pro	Pro	Thr	Glu	Leu	Val	Cys	Asn	Arg	Thr	Phe	Asp	Lys
	50					55					60				

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

Cys	Pro	Trp	Tyr	Leu	Pro	Trp	His	His	Lys	Val	Gln	His	Arg	Phe	Val
				85					90					95	

Phe	Lys	Arg	Cys	Gly	Pro	Asp	Gly	Gln	Trp	Val	Arg	Gly	Pro	Arg	Gly
			100					105					110		

Gln	Pro	Trp	Arg	Asp	Ala	Ser	Gln	Cys	Gln	Met	Asp	Gly	Glu	Glu	Leu
		115					120					125			

Glu	Val	Gln	Lys	Glu	Val	Ala	Lys	Met	Tyr	Ser	Ser	Phe	Gln	Val	Met

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

Thr Leu Ile Pro Leu Leu Gly Val His Glu Val Ile Phe Ala Phe Val
 355 360 365

Thr Asp Glu His Ala Gln Gly Thr Leu Arg Phe Ala Lys Leu Phe Phe
 370 375 380

Asp Leu Phe Leu Ser Ser Phe Gln Gly Leu Leu Val Ala Val Leu Tyr
 385 390 395 400

Cys Phe Leu Asn Lys Glu Val Gln Ser Glu Leu Arg Arg His Trp His
 405 410 415

Arg Trp Arg Leu Gly Lys Val Leu Gln Glu Glu Arg Gly Thr Ser Asn
 420 425 430

His Lys Thr Pro Ser Ala Pro Gly Gln Gly Leu Pro Gly Lys Lys Leu
 435 440 445

Gln Ser Gly Arg Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ser Ser Ala Glu Ile Pro
 450 455 460

Leu Ala Gly Gly Leu Pro Arg Leu Ala Glu Ser Pro Phe
 465 470 475

<210> 9
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 9
 aggtctagtc agagcctctt ggatagagat gatggagaca cctatttgga c
 51

<210> 10
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 10
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Arg Asp Asp Gly Asp Thr Tyr Leu
 1 5 10 15

Asp

<210> 11
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 11
 aggtctagtc agagcctctt ggatagtgct gatggagaca cctatttgga c
 51

<210> 12
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 12
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Ala Asp Gly Asp Thr Tyr Leu
 1 5 10 15

Asp

<210> 13
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 13
 cgggcaagtc agggcattag aaatgattta ggc
 33

<210> 14
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 14
 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly
 1 5 10

<210> 15
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 15
 agggccagtc agagtgttag cagcaactac ttagcc
 36

<210> 16
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 16
 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn Tyr Leu Ala
 1 5 10

<210> 17
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 17
 cgggcaagtc aggacattag aaatgatttt ggc
 33

<210> 18
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 18
 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Asp Phe Gly
 1 5 10

<210> 19
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 19
 gggcttactc agagcctctt ggatagtgat gatggagaca cctatttgga c
 51

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

<400> 20
 Arg Ser Thr Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Asp Gly Asp Thr Tyr Leu
 1 5 10 15

Asp

<210> 21

<211> 33
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 21
caggcgagtc aggacattag taagtattta aat
33

<210> 22
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 22
Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 23
<211> 33
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 23
tctggagata aattggggga taaatatggt tgc
33

<210> 24
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 24
Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Val Cys
1 5 10

<210> 25
<211> 33
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 25
tctggagata aattggggga taaatatgct tgc
33

<210> 26
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 26

Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala Cys
 1 5 10

<210> 27
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 27
 acccgagca gtggcagcat tgtagcaac tttgtgcaa
 39

<210> 28
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 28
 Thr Arg Ser Ser Gly Ser Ile Val Ser Asn Phe Val Gln
 1 5 10

<210> 29
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 29
 actggaatca cctccaacat cggaagcaat actgtacac
 39

<210> 30
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 30
 Thr Gly Ile Thr Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val His
 1 5 10

<210> 31
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 31
 tctggaagca ggtccaacat cggaagtaat tatgtatac
 39

<210> 32

<211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 32
 Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr Val Tyr
 1 5 10

<210> 33
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 33
 actgggagca gctccaacat cggggcaggt tatgctgtac ac
 42

<210> 34
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 34
 Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Ala Val His
 1 5 10

<210> 35
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 35
 aagtctagtc agagcctcct gcatagtgat ggaaagaact atttgttt
 48

<210> 36
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 36
 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asp Gly Lys Asn Tyr Leu Phe
 1 5 10 15

<210> 37
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 37

aggtctagtc agagcctcct gcatagtaat ggatacaact atttgat
48

<210> 38
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 38
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
1 5 10 15

<210> 39
<211> 33
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 39
cgggcaagtc agggcattag aaatgattta ggc
33

<210> 40
<211> 33
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 40
cgggcgagtc aggggtattag cagctgggta gcc
33

<210> 41
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 41
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 42
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 42
acgctttcct atcgggcctc t
21

<210> 43

<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 43
Thr Leu Ser Tyr Arg Ala Ser
1 5

<210> 44
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 44
gctgcatcca gtttgcaaag t
21

<210> 45
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 45
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 46
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 46
gctgcctcca gtttgcaaag t
21

<210> 47
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 47
ggtgcatcca gcagggccac t
21

<210> 48
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 48

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 49
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 49
gctgcatcca gtttggaag t
21

<210> 50
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 50
Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 51
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 51
gatgcatcca atttggaac a
21

<210> 52
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 52
Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr
1 5

<210> 53
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 53
caaacttcca agcggccctc a
21

<210> 54

<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 54
Gln Thr Ser Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 55
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 55
caatctacca agcggccctc a
21

<210> 56
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 56
Gln Ser Thr Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 57
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 57
gaggataacc aaagaccctc t
21

<210> 58
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 58
Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 59
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 59

agtaataatc agcggccctc a
21

<210> 60
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 60
Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 61
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 61
aggaataatc agcggccctc a
21

<210> 62
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 62
Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 63
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 63
gataacaaca atcggccctc a
21

<210> 64
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 64
Asp Asn Asn Asn Arg Pro
1 5

<210> 65

<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 65
gaagtttcct accggttctc t
21

<210> 66
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 66
Glu Val Ser Tyr Arg Phe Ser
1 5

<210> 67
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 67
ttgggttcta atcgggcctc c
21

<210> 68
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 68
Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser
1 5

<210> 69
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 69
actgcatcca ctttgcaaag t
21

<210> 70
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 70

Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 71
<211> 27
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 71
atgcaacgta tagagtttcc attcact
27

<210> 72
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 72
Met Gln Arg Ile Glu Phe Pro Phe Thr
1 5

<210> 73
<211> 27
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 73
ctacagcata atagtaaccc tctcact
27

<210> 74
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 74
Leu Gln His Asn Ser Asn Pro Leu Thr
1 5

<210> 75
<211> 27
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 75
ctacagcata atagtgaccc gctcacc
27

<210> 76

<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 76
Leu Gln His Asn Ser Asp Pro Leu Thr
1 5

<210> 77
<211> 27
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 77
caacaatatg gtaactcacc attcact
27

<210> 78
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 78
Gln Gln Tyr Gly Asn Ser Pro Phe Thr
1 5

<210> 79
<211> 27
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 79
ctacagcaaa atagttaccc gctcact
27

<210> 80
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 80
Leu Gln Gln Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 81
<211> 27
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 81

caggcgtggg acagcagcac tgtggta
27

<210> 82
<211> 27
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 82
cagtcttatg ataccagcaa tcagggtg
27

<210> 83
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 83
Gln Ser Tyr Asp Thr Ser Asn Gln Val
1 5

<210> 84
<211> 33
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 84
gcagcatggg atgacagcct gaatgggccg gtg
33

<210> 85
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 85
Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Pro Val
1 5 10

<210> 86
<211> 33
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 86
gcagcatggg atgacagcct gagtaggccg gta
33

<210> 87

<211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 87
 Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ser Arg Pro Val
 1 5 10

<210> 88
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 88
 cagtcctatg acagcagcct gagtgctata
 30

<210> 89
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 89
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Ala Ile
 1 5 10

<210> 90
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 90
 atgcaaaata tacagcctcc tctcacc
 27

<210> 91
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 91
 Met Gln Asn Ile Gln Pro Pro Leu Thr
 1 5

<210> 92
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 92

atggaagctc ttcaaactat gtgcagt
27

<210> 93
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 93
Met Glu Ala Leu Gln Thr Met Cys Ser
1 5

<210> 94
<211> 27
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 94
ctacagcata atagttaccc tcgcagt
27

<210> 95
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 95
Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Arg Ser
1 5

<210> 96
<211> 27
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 96
caacaggcta acagtttccc gctcact
27

<210> 97
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 97
Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 98

<211> 28
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 98
atgcaacgta tagagtttcc attcactt
28

<210> 99
<211> 27
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 99
caacagtcta acagtttccc gctcact
27

<210> 100
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 100
Gln Gln Ser Asn Ser Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 101
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 101
agctatggca tgcac
15

<210> 102
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 102
Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 103
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 103

acctatggga tgcac
15

<210> 104
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 104
Thr Tyr Gly Met His
1 5

<210> 105
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 105
agctatggca tgcac
15

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

<400> 106
Ser Tyr Asp Met His
1 5

<210> 107
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 107
agcaactatg ctgcttgga c
21

<210> 108
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 108
Ser Asn Tyr Ala Ala Trp Asn
1 5

<210> 109

<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 109
agctatgaca tgcac
15

<210> 110
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 110
aactatggca tgcac
15

<210> 111
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 111
Asn Tyr Gly Met His
1 5

<210> 112
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 112
ggctactatt tgcac
15

<210> 113
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 113
Gly Tyr Tyr Leu His
1 5

<210> 114
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 114

agctatggta tcagt
15

<210> 115
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 115
Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5

<210> 116
<211> 48
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 116
aagtctagtc agagcctcct gcatagtgat ggaaagaact atttgttt
48

<210> 117
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 117
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asp Gly Lys Asn Tyr Leu Phe
1 5 10 15

<210> 118
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 118
Gly Tyr Thr Leu Asn
1 5

<210> 119
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 119
agctatgcca tgaac
15

<210> 120

<211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 120
 Ser Tyr Ala Met Asn
 1 5

<210> 121
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 121
 agatatgcca tgaac
 15

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

<400> 122
 Arg Tyr Ala Met Asn
 1 5

<210> 123
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 123
 tctatatggt atgatggaag taataaatat tatgtagact ccgtgaaggg c
 51

<210> 124
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 124
 Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 125
 <211> 51

<212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 125
 tttatatggg atgatggaag tgaaaaatat tatgtagact ccgtgaaggg c
 51

<210> 126
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 126
 Phe Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 127
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 127
 gttatgtggg atgatggaag taataaagac tatgtagact ccgtgaaggg c
 51

<210> 128
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 128
 Val Met Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Asp Tyr Val Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 129
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 129
 gttatatcag atgatggaag tcataaatac tctgcagact ccgtgaaggg c
 51

<210> 130
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 130
 Val Ile Ser Asp Asp Gly Ser His Lys Tyr Ser Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 131
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 131
 gaaatatgga atgatggaag taataaatac tatgcagact ccgtgaaggg c
 51

<210> 132
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 132
 Glu Ile Trp Asn Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 133
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 133
 gtgatatcac atgatggaag tgataaatac tatgcagact ccgtgaaggg c
 51

<210> 134
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 134

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

Gly

<210> 135
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 135
 ggtatatggt atgatggaag gaataaatac tatgtagact ccgtgaaggg c
 51

<210> 136
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 136
 Gly Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 137
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 137
 aggacatact acaggtccaa gtggtataat gattatgcag tatctgtgag aagt
 54

<210> 138
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 138
 Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala Val Ser Val
 1 5 10 15

Arg Ser

<210> 139
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 139
 tttatatcag atgatggaag taataaatac tatggagact ccgtgaaggg c
 51

<210> 140
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 140
 Phe Ile Ser Asp Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 141
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 141
 tttatatcag atgatggaag taataaatat tatggagact ccgtgaaggg c
 51

<210> 142
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 142
 gttatatcat atgatggaag taataaatac tatggagact ccgtgaaggg c
 51

<210> 143
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 143
 Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 144
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 144
 gttatatggt atgatggaag taataaatac tatgcagact ccgtgaaggg c
 51

<210> 145
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 145
 Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 146
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 146
 cttatatcat ttgatggaag taataaatac tatgcagact ccgtgaaggg c
 51

<210> 147
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 147
 Leu Ile Ser Phe Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 148
 <211> 51
 <212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 148

tggatcatcc ctgacagtgg tggcacaaag tatgcacaga agtttcaggg c
51

<210> 149

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 149

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

Gly

<210> 150

<211> 51

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 150

tggatcggcg tttacaatgg tcacacaaaa tatgcacaga agttccaggg c
51

<210> 151

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 151

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

Gly

<210> 152

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 152

gaagtttcct accggttctc t
21

<210> 153
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 153
 Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser His Lys Tyr Tyr Glu Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 154
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 154
 attatatggt ctgatggaat taacaaatac tatgcagact ccgtgaaggg c
 51

<210> 155
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 155
 Ile Ile Trp Ser Asp Gly Ile Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 156
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 156
 aacattaata gtaggagtag tctcatatac tacacagact ctgtgaaggg c
 51

<210> 157
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 157
 Asn Ile Asn Ser Arg Ser Ser Leu Ile Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Lys

1

5

10

15

Gly

<210> 158

<211> 51

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 158

tacattggta gtagtagtag tgccatatac tacggagact ctgtgaaggg c
51

<210> 159

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 159

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

Gly

<210> 160

<211> 51

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 160

tctatatggt atgatggaag taataaatat tatgtagact ccgtgaaggg c
51

<210> 161

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 161

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

Gly

<210> 162
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 162
 tacattggta gtagtagtag tgccatatac tacgcagact ctgtgaaggg c
 51

<210> 163
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 163
 Tyr Ile Gly Ser Ser Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 164
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 164
 cttggtggtg gttttgacta c
 21

<210> 165
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 165
 Leu Gly Gly Gly Phe Asp Tyr
 1 5

<210> 166
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 166
 atgggaggcg gctttgacta c
 21

<210> 167

<211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 167
 Met Gly Gly Gly Phe Asp Tyr
 1 5

<210> 168
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 168
 gaaaaagatc attacgacat ttgactggt tataactact actacggtct ggacgtc
 57

<210> 169
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 169
 Glu Lys Asp His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Asn Tyr Tyr Tyr Gly
 1 5 10 15

Leu Asp Val

<210> 170
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 170
 gaggagacgt attacgatat ttgactggc tatcatcact actacggtat ggacgtc
 57

<210> 171
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 171
 Glu Glu Thr Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr His His Tyr Tyr Gly
 1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 172
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 172
 gagcctcagt attacgatat ttgactggt tatgataact actacggtat ggacgtc
 57

<210> 173
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 173
 Glu Pro Gln Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Asp Asn Tyr Tyr Gly
 1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 174
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 174
 gaaaaaccgt attacgatat ttgactggt tatttctact actatggtat ggacgtc
 57

<210> 175
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 175
 Glu Lys Pro Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Phe Tyr Tyr Tyr Gly
 1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 176
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 176
 ttagcagtgg cctttgacta c
 21

<210> 177
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 177
 Leu Ala Val Ala Phe Asp Tyr
 1 5

<210> 178
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 178
 gaagatggca gtggctggta cggtgctttt gacatc
 36

<210> 179
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 179
 Glu Asp Gly Ser Gly Trp Tyr Gly Ala Phe Asp Ile
 1 5 10

<210> 180
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 180
 gatcaatagc atattttgac tggttattct tctgatgctt ttgatatc
 48

<210> 181
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 181
 Asp Gln Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Ser Ser Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5 10 15

<210> 182
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 182
 gcctattacg atattttgac tgattacccc cagtatgact actactacgg tatggacgtc
 60

<210> 183
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 183
 Ala Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Tyr Pro Gln Tyr Asp Tyr Tyr Tyr
 1 5 10 15

Gly Met Asp Val
 20

<210> 184
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 184
 gatgggtatt acgatatttt gactgggttat gaggatgatg cttttgatat c
 51

<210> 185
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 185
 Asp Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Glu Asp Asp Ala Phe Asp
 1 5 10 15

Ile

<210> 186
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 186

gaagggtttc attacgatat ttgactggt tcctacttct actactacgg tatggacgtc
60

<210> 187
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 187
Glu Gly Phe His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Ser Tyr Phe Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Gly Met Asp Val
20

<210> 188
<211> 30
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 188
agggtagcag tggctgggta ctttgactac
30

<210> 189
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 189
Arg Val Ala Val Ala Gly Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 190
<211> 27
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 190
atgcaaaata tacagcctcc tctcacc
27

<210> 191
<211> 18
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 191
Val Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Tyr Glu Tyr Tyr Tyr His Tyr Gly Met

1

5

10

15

Asp Val

<210> 192

<211> 57

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 192

gagagaggcc tctacgatat ttgactggt tattataact actacggtat tgacgtc
57

<210> 193

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 193

Glu Arg Gly Leu Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Asn Tyr Tyr Gly
1 5 10 15

Ile Asp Val

<210> 194

<211> 39

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 194

gatcagtata actggaacta ctactacggt atggacgtc
39

<210> 195

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 195

Asp Gln Tyr Asn Trp Asn Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 196

<211> 33

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 196
 tatagaagtg gctgggtcccc cctctttgac ttc
 33

<210> 197
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 197
 Tyr Arg Ser Gly Trp Ser Pro Leu Phe Asp Phe
 1 5 10

<210> 198
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 198
 tatagcagtg gctgggtcccc cctctttgac tac
 33

<210> 199
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 199
 Tyr Ser Ser Gly Trp Ser Pro Leu Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 200
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: Synthetic consensus sequence

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Ser or Thr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> Arg or Ser

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> Asp or Ala

<400> 200
 Arg Ser Xaa Gln Ser Leu Leu Asp Xaa Xaa Asp Gly Thr Tyr Thr Leu
 1 5 10 15

Asp

<210> 201
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: Synthetic consensus sequence

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> Gly or Asp

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> Leu or Phe

<400> 201
 Arg Ala Ser Gln Xaa Ile Arg Asn Asp Xaa Gly
 1 5 10

<210> 202
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: Synthetic consensus sequence

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> Val or Ala

<400> 202
 Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Xaa Cys

1

5

10

<210> 203
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic consensus
sequence

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Ser or Thr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> Gly or Asp

<400> 203
Xaa Tyr Xaa Met His
1 5

<210> 204
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic consensus
sequence

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)..(6)
<223> Glu or Gln

<400> 204
Ala Ala Ser Ser Leu Xaa Ser
1 5

<210> 205
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic consensus sequence

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2)..(2)

<223> Ser or Thr

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Thr or Ser

<400> 205

Gln Xaa Xaa Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 206

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic consensus sequence

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Ser, Phe, Val or Gln

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Tyr or Asn

<220>

<221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Asn or Gln

<220>

<221> MOD_RES

<222> (12)..(12)

<223> Val or Ala

<400> 206

Xaa Ile Trp Xaa Asp Gly Ser Xaa Lys Tyr Tyr Xaa Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 207
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: Synthetic consensus sequence

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Val or Phe

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> His, Asp or Tyr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> Asp, Asn or His

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (11)..(11)
 <223> Tyr or Ser

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)..(12)
 <223> Ala or Gly

<400> 207
 Xaa Ile Ser Xaa Asp Gly Ser Xaa Lys Tyr Xaa Xaa Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 208
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: Synthetic consensus sequence

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> His or Gln

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Asn, Asp or Tyr

<400> 208
 Leu Gln Xaa Asn Ser Xaa Pro Leu Thr
 1 5

<210> 209
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: Synthetic consensus
 sequence

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Asn or Ser

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> Ile or Val

<400> 209
 Gln Ala Trp Asp Ser Xaa Thr Val Xaa
 1 5

<210> 210
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: Synthetic consensus
 sequence

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)

<223> Lys, Glu or Pro

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Asp, Thr, Gln or Pro

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> His or Tyr

<220>

<221> MOD_RES

<222> (12)..(12)

<223> Asn, His, Asp or Phe

<220>

<221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> Tyr, His or Asn

<220>

<221> MOD_RES

<222> (17)..(17)

<223> Leu or Met

<400> 210

Glu	Xaa	Xaa	Xaa	Tyr	Asp	Ile	Leu	Thr	Gly	Tyr	Xaa	Xaa	Tyr	Tyr	Gly
1				5					10					15	

Xaa Asp Val

<210> 211

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic consensus sequence

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Leu or Met

<400> 211

Xaa	Gly	Gly	Gly	Phe	Asp	Tyr
1				5		

<210> 212
 <211> 339
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 212
 gatattgtgc tgacccagac tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc
 60

atctcctgca ggtctagtca gagcctcttg gatagagatg atggagacac ctatttggac
 120

tggtagctgc agaagccagg gcagtctcca cagctcctga tctatacgct ttcctatcgg
 180

gcctctggag tcccagacag gttcagtggc agtgggtcag gcactgattt ctactgaaa
 240

atcagcaggg tggaggctga ggatgttgga gtttattact gcatgcaacg tatagagttt
 300

ccattcactt tcggccctgg gaccaaagtg gatatcaaa
 339

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

<400> 213
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Arg
 20 25 30

Asp Asp Gly Asp Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

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

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

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

Arg Ile Glu Phe Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
100 105 110

Lys

```
<210> 214
<211> 323
<212> DNA
<213> Homo sapiens
```

```
<400> 214
agactccact ctccctgccc gtcacccctg gagagccggc ctccatctcc tgcaggtcta
60
```

gtcagagcct cttggatagt gctgatggag acacctattt ggactgggtac ctgcagaagc
120

cagggcagtc tccacagctc ctgatctata cgcttttcta tcgggcctct ggagtcccag
180

acaggttcag tggcagtggg tcagacactg atttctcact gaaaatcagc aggggtggagg
240

ctgaggatgt tggagtttat tactgcatgc aacgtataga gtttccattc actttcggcc
300

ctgggaccaa agtggatattc aaa
323

```
<210> 215
<211> 113
<212> PRT
<213> Homo sapiens
```

```
<400> 215
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1          5          10          15
```

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Ala Asp Gly Asp Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

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

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

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

Arg Ile Glu Phe Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
100 105 110

Lys

<210> 216

<211> 321

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 216

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc
60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca
120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca
180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag tgtgcagcct
240

gaagattttg taacttatta ctgtctacag cataatagta accctctcac tttcggcgga
300

gggaccaagg tggagatcaa a
321

<210> 217

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 217

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

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

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

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

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

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

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

<210> 218

<211> 321

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 218

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc
 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctgggtatca gcagaaacca
 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca
 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag tctgcagcct
 240

gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagta accctctcac ttctggcgga
 300

gggaccaagg tggagatcaa a
 321

<210> 219

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 219

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

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

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

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

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

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

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

<210> 220

<211> 321

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 220

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ttgtaggaga cagagtcacc
 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca
 120

gggaaagccc ctaagcgcct gctctatgct gcctccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca
 180

aggttcagcg gcagtgggtc tgggtcagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct
 240

gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtg acccgctcac cttcggccaa
 300

gggacacgac tggagattaa a
 321

<210> 221

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 221

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

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

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

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

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

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

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

<210> 222

<211> 324

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 222

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ttccagggga aagagccacc
 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcaactact tagcctggta ccagcagaaa
 120

tctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca
 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcaa caatatggta actcaccatt cactttcggc
 300

cctgggacca atgtggatat caaa
 324

<210> 223

<211> 108
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 223

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

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

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

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

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

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

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

<210> 224
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 224

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc
 60

gtcacttgcc gggcaagtca ggacattaga aatgattttg gctggtatca gcaaaaacca
 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tacaaagtgg ggtcccatca
 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttactctca caatcagcag cctgcagcct
 240

gaagattttg caacttatta ctgtctacag caaaatagtt acccgctcac ttctggggga
 300

gggaccaagg tggaaatcaa a
321

<210> 225
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 225
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

<210> 226
<211> 339
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 226
gatattgtga tgaccagac tccactctcc ctgccgtca cccctggaga gccggcctcc
60

atctcctgca ggtctactca gagcctcttg gatagtgatg atggagacac ctatttggac
120

tggtacctgc agaagccggg gcagtctcca cagctcctga tctatacgct ttcctatcgg
180

gcctctggag tcccagacag gttcagtggc agtgggtcag gcactgattt cacactgaaa
240

atcagcaggg tggaggctga ggatgttgga gtttattact gcatgcaacg tatagagttt
300

ccattcactt tcggccctgg gaccaaagtg gatatacaa
339

<210> 227
<211> 113
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 227
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Thr Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Asp Asp Gly Asp Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

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

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

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

Arg Ile Glu Phe Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
100 105 110

Lys

<210> 228
<211> 321
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 228
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc
60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca
120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tggaaagtgg ggtcccatca
180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag tgtgcagcct
240

gaagattttg taacttatta ctgtctacag cataatagta accctctcac tttcggcgga
300

gggaccaagg tggagatcaa a
321

<210> 229

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 229

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

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

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

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

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

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

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

<210> 230

<211> 321

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 230

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc
60

atcacttgcc aggcgagtca ggacattagt aagtatttaa attggtatca gcagaaacca
120

gggaaagccc ctaagctcct catctacgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca
180

aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct
240

gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatggtaatc tcccgatcac ctcgggcca
300

gggacacgac tggagagtaa a
321

<210> 231

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 231

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	Gln	Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Ser	Lys	Tyr
			20					25					30		

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

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

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

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

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

<210> 232

<211> 318
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 232
 tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc
 60
 acctgctctg gagataaatt gggggataaa tatgtttgct ggtatcagca gaagccaggc
 120
 cagtcccctg tgctgggtcat ctatcaaact tccaagcggc cctcagggat ccctgagcgg
 180
 ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actctgacca tcagcgggac ccaggctatg
 240
 gatgaggctg actattactg tcaggcgtgg gacagcaaca ctgtgatttt cggcggaggg
 300
 accaagctga ccgtccta
 318

<210> 233
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 233
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Val
 20 25 30
 Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45
 Gln Thr Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
 65 70 75 80
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Asn Thr Val Ile
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100

105

<210> 234
 <211> 318
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 234
 tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc
 60

acctgctctg gagataaatt gggggataaa tatgtttgct ggtatcagca gaagccaggc
 120

cagtcacctg tgctgggtcat ctatcaaact tccaagcggc cctcagggat ccctgagcgg
 180

ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actctgacca tcagcgggac ccaggctatg
 240

gatgaggctg actattactg tcaggcgtgg gacagcagca ctgtggtttt cggcggaggg
 300

accaagctga ccgtccta
 318

<210> 235
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 235
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15

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

Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45

Gln Thr Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val

85

90

95

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

<210> 236

<211> 318

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 236

tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc
 60

acctgctctg gagataaatt gggggataaa tatgcttgct ggtatcagca gaagccaggc
 120

cagtcccttg tactggtcac ctatcaatct accaagcggc cctcagggat ccctgagcgt
 180

ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actctgacca tcagcgggac ccaggctatg
 240

gatgaggctg actattactg tcaggcgtgg gacagcagca ctgtggtatt cggcggaggg
 300

accaagctga ccgtccta
 318

<210> 237

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 237

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

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

Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45

Gln Ser Thr Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met

65

70

75

80

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

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

<210> 238

<211> 330

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 238

aattttatgc tgactcagcc ccactctgtg tcggagtctc cggggaagac ggtaaccatc
 60

tcctgcaccc gcagcagtgg cagcattgtc agcaactttg tgcaatggta ccagcagcgc
 120

ccgggcagtt cccccaccac tgtgatctat gaggataacc aaagaccctc tggggtcctc
 180

gacggttct ctggctccat cgacagctcc tccaactctg cctccctcac catctctgga
 240

ctgaagactg aggacgaggc tgactactac tgtcagtctt atgataccag caatcaggtg
 300

ttcggcggag ggaccaagct gaccgtcctg
 330

<210> 239

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 239

Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys
 1 5 10 15

Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Arg Ser Ser Gly Ser Ile Val Ser Asn
 20 25 30

Phe Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ser Pro Thr Thr Val
 35 40 45

Ile Tyr Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly
65 70 75 80

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

Ser Asn Gln Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 240
<211> 330
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 240
cagtctgtcc tgactcagcc acccccagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc
60

tctgtgtactg gaatcacctc caacatcgga agcaatactg tacactggta ccagcagttc
120

ccaggaacgg cccccaaact cctcatctat agtaataatc agcggccctc aggggtccct
180

gaccgattct ctgggtccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tggggtccag
240

tctgaggatg aggctgatta ttactgtgca gcatgggatg acagcctgaa tgggtccggtg
300

ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta
330

<210> 241
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 241
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Pro Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ile Thr Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Thr Val His Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

35

40

45

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

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
 65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
 85 90 95

Asn Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 242

<211> 330

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 242

cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc
 60

tcttgttctg gaagcaggtc caacatcgga agtaattatg tatactggta ccaacagctc
 120

ccaggaacgg cccccaaact cctcatctat aggaataatc agcggccctc aggggtccct
 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccgg
 240

tccgaggatg aggctgatta ttactgtgca gcatgggatg acagcctgag tagggccgga
 300

ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta
 330

<210> 243

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 243

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn

20

25

30

Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

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

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
 65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
 85 90 95

Ser Arg Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 244

<211> 330

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 244

cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc
 60

tcttgcaactg ggagcagctc caacatcggg gcagggttatg ctgtacactg gtaccagcag
 120

cttccaggaa cagcccccaa actcctcatc tatgataaca acaatcggcc ctccaggggtc
 180

cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc
 240

caggctgagg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gaggctgctata
 300

ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta
 330

<210> 245

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 245

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

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

<210> 246

<211> 336

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 246

aatattgtga tgaccagac tccactctct ctgtccgtca cccctggaca gccggcctcc
60

atctcctgca agtctagtca gaggcctctg catagtgatg gaaagaacta tttgttttgg
120

tacctacaga agccaggcca gtctccacag ctctgatct atgaagtttc ctaccggttc
180

tctggagtgc cagatagggt cagtggcagc gggtcaggga cagatttctc attgaaaatc
240

agccgggtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaaaatat acagcctcct
300

ctcaccttcg gccaaaggac acgactggag attaaa
336

<210> 247

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 247

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asp Gly Lys Asn Tyr Leu Phe Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

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

Ile Gln Pro Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 248

<211> 336

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 248

ggtattgtgc tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc
60

atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg catagtaatg gatacaacta tttggattgg
120

tacttgcaga agccagggca gtctccgcag ctctgatct atttgggttc taatcggggc
180

tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc
240

agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tggaagctct tcaaactatg
300

tgcagttttg gccaggggac caagctggag atcaag
336

<210> 249
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 249
 Gly Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

Leu Gln Thr Met Cys Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 250
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 250
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc
 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca
 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatct
 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttactctca caatcagcaa cctgcagcct
 240

gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt accctcgcag ttttggccag
 300

gggaccaagc tggagatcaa a
321

<210> 251
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 251
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

<210> 252
<211> 321
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 252
gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc
60

atcacttgct gggcgagtca gggattagc agctgggttag cctgggtatca gcagaaacca
120

gggaaagccc ctaagctcct aatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca
180

cggttcagcg gcagtgggtc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct
240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgcacac tttcggcgga
300

gggaccaagg tggagatcaa a
321

<210> 253
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 253
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

<210> 254
<211> 339
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 254
gatattgtgc tgaccagac tccactctcc ctgccgtca ccctggaga gccggcctcc
60

atctcctgca ggtctagtca gagcctcttg gatagagatg atggagacac ctatttggac
120

tggtacctgc agaagccagg gcagtctcca cagctcctga tctatacgct ttcctatcgg
180

gcctctggag tcccagacag gttcagtggc agtgggtcag gcactgattt ctactgaaa
240

atcagcaggg tggaggctga ggatgttgga gtttattact gcatgcaacg tatagagttt
300

ccattcactt tcggccctgg gaccaaagtg gatatcaaa
339

<210> 255

<211> 113

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 255

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

Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Arg
			20					25					30		

Asp	Asp	Gly	Asp	Thr	Tyr	Leu	Asp	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln
		35					40					45			

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

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

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

Arg	Ile	Glu	Phe	Pro	Phe	Thr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Lys	Val	Asp	Ile
				100				105						110	

Lys

<210> 256

<211> 321

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 256

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcgt ctgtagggga cagagtcacc
60

atcacttgtc gggcgagtca ggggtattagc agctgggttag cctgggtatca gcagaaacca
120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatact gcattccactt tgcaaagtgg ggtcccatca
180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct
240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag tctaacagtt tcccgtcac tttcggcgga
300

gggaccaagg tggagatcaa a
321

<210> 257

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 257

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

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

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

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

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

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

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

<210> 258
 <211> 348
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 258
 caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggaat caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcatct atatggtatg atggaagtaa taaatattat 180
 gtagactccg tgaagggccg attcaccatc ttcagagaca attccaagaa aacgctgtat 240
 ctgcaaataga acaggctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagacttggt 300
 ggtgggttttg actactgggg ccagggaacc ctgggtcaccg tctcctca 348

<210> 259
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 259
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ser Lys Lys Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Leu Gly Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser

115

<210> 260

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 260

caggtgcaac tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc
60

tcctgtgcag cgtctggaat caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccagggt
120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atatggtatg atggaagtga aaaatattat
180

gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

ctgcaaatga acagtctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaatggga
300

ggcggctttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tctcctca
348

<210> 261

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 261

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

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

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

Ala Phe Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Ala Val Met Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Asp Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Lys Asp His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Asn Tyr Tyr
 100 105 110

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

<210> 264

<211> 467

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 264

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc
 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct
 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atgtggtatg atggaagtaa taaagactat
 180

gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 240

ctgcaaatga accgcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaaaaa
 300

gatcattacg acattttgac tggttataac tactactacg gtctggacgt ctggggccaa
 360

gggaccacgg tcaccgtctc ctacgcctcc accaagggcc catcggtctt cccctggcg
 420

ccctgctcca ggagcacctc cgagagcaca gcggccctgg gctgcct
 467

<210> 265

<211> 128

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 265

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

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

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

Ala Val Met Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Asp Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Lys Asp His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Asn Tyr Tyr
 100 105 110

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

<210> 266

<211> 384

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 266

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggagggtc cctgagactc
 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt acctatggga tgcactgggt ccgccagggt
 120

ccaggcaagg gtctggagtg ggtggcagtt atatcagatg atggaagtca taaatactct
 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 240

ctgcaaatga acagcctgag aactgaggac tcggctgtgt attactgtgc gagagaggag
300

acgtattacg atattttgac tggctatcat cactactacg gtatggacgt ctggggccaa
360

gggaccacgg tcaccgtctc ctca
384

<210> 267
<211> 128
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 267
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ala Val Ile Ser Asp Asp Gly Ser His Lys Tyr Ser Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

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

<210> 268
<211> 384
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 268

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc
60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct
120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagaa atatggaatg atggaagtaa taaatactat
180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atcccaagaa cacgctgtat
240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attattgtgc gagagagcct
300

cagtattacg atattttgac tggttatgat aactactacg gtatggacgt ctggggccaa
360

gggaccacgg tcaccgtctc ctca
384

<210> 269

<211> 128

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 269

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

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

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

Ala	Glu	Ile	Trp	Asn	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				

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

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

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

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

```
<210> 270
<211> 384
<212> DNA
<213> Homo sapiens
```

```
<400> 270
cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc
60
```

tctctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatgaca tgcactgggt ccgccaggct
120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtg atatcacatg atggaagtga taaatactat
180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

ctgcaaatga gcagtttgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaaaaa
300

cggattacg atattttgac tgggtatttc tactactatg gtatggacgt ctggggccaa
360

gggaccacgg tcaccgtctc ctca
384

```
<210> 271
<211> 128
<212> PRT
<213> Homo sapiens
```

<400> 271
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ala Val Ile Ser His Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Lys Pro Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Phe Tyr Tyr
 100 105 110

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

<210> 272

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 272

caggtgcagt tggcggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc
 60

tcctgtacag cgtctggaat caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct
 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcaggt atatggtatg atggaaggaa taaatactat
 180

gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa aacgctgtat
 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggttagca
 300

gtggcctttg actactgggg ccagggaact ttggtcaccg tctcctca
 348

<210> 273

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 273

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

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

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

Ala Gly Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser
 115

<210> 274

<211> 384

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 274

caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggct cctgagactc
 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct
 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atgtggtatg atggaagtaa taaagactat
 180

gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 240

ctgcaaatga accgcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaaaaa
 300

gatcattacg acattttgac tggttataac tactactacg gtctggacgt ctggggccaa
 360

gggaccacgg tcaccgtctc ctca
 384

<210> 275

<211> 128

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 275

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

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

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

Ala Val Met Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Asp Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Lys Asp His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Asn Tyr Tyr
100 105 110

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

<210> 276

<211> 372

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 276

caggtacagc tgcagcagtc aggtccagga ctggtgaggc cctcgcagac cctctcactc
60

acctgtgcca tctccgggga cagtgtctct agcaactatg ctgcttgga ctggatcagg
120

cagtcccat cgagaggcct tgagtggctg ggaaggacat actacagggtc caagtggat
180

aatgattatg cagtatctgt gagaagtcga acaaccatca acccagacac atccaagaac
240

cagttctccc tgcagttgaa ctctgtgact cccgaggaca cggctgtgta ttactgtaca
300

agagaagatg gcagtggctg gtacgggtgct tttgacatct ggggccaagg gacaatggtc
360

accgtctctt ca
372

<210> 277
<211> 124
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 277
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Tyr Tyr Cys Thr Arg Glu Asp Gly Ser Gly Trp Tyr Gly Ala Phe Asp
100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 278
<211> 374
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 278
caggtgcaac tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc
60

tcctgtgcag cctctgggag caccttcaga agctatgaca tgcactgggt ccgccaggct
120

ccaggcaagg ggctgggagtg ggtggcattt atatcagatg atggaagtaa taaatactat
180

ggagactccg tgaagggccg attgaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

ctgcaaataga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatcaa
300

tacgatattt tgactggtta ttcttctgat gcttttgata tctggggcca agggacaatg
360

gtcaccgtct cttc
374

<210> 279

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 279

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

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

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

Ala	Phe	Ile	Ser	Asp	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Gly	Asp	Ser	Val
	50					55						60			

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

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

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

Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser
		115					120					125

<210> 280
 <211> 375
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 280
 caggtgcaac tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc
 60

tcctgtgcag cctctgggag caccttcaga agctatgaca tgcactgggt ccgccaggct
 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atatcagatg atggaagtaa taaatattat
 180

ggagactccg tgaagggccg attgaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 240

ctgcaaata acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attattgtgc gagagatcaa
 300

tacgatattt tgactgggta ttcttctgat gcttttgata tctggggcca agggacaatg
 360

gtcacogtct cttca
 375

<210> 281
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 281
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

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

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

Ala Phe Ile Ser Asp Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

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

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 282

<211> 375

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 282

<400> 282
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc
60

tccctgtgcag cctctggaag caccttcaga agctatgaca tgcactgggt ccgccaggct
120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaatactat
180

ggagactccg tgaagggccg attgaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatcaa
300

tacgatattt tgactggta ttcttctgat gcttttgata tctggggcca agggacaatg
360

gtcaccgtct cttca
375

<210> 283

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 283

<400> 283
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

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

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 284

<211> 387

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 284

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc gtgggtccagc ctgggagggtc cctgagactc
 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccagggt
 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat
 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagcctat
 300

tacgatattt tgactgatta cccccagtat gactactact acggtatgga cgtctggggc
 360

caagggacca cggtcaccgt ctcctca
 387

<210> 285

<211> 129

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 285

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

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

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

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Ala Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Tyr Pro Gln Tyr Asp Tyr
100 105 110

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

Ser

<210> 286

<211> 378

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 286

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaagtc cctgagactc
60

tcctgtgcag tctctggatt catcttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct
120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcactt atatcatttg atggaagtaa taaatactat
180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat
240

ctgcaaatac acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatggg
300

tattacgata ttttgactgg ttatgaggat gatgcttttg atatctgggg ccaagggaca
360

atgggtcaccg tctcttca
378

<210> 287

<211> 126

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 287

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

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

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

Ala	Leu	Ile	Ser	Phe	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				

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

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

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

Phe	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser
		115					120					125	

<210> 288

<211> 387

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 288

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc
60

tcctgcaagg cttctggata caccttcacc ggctactatt tgcactgggt gcgacaggcc
120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcatccctg acagtgggtg cacaaagtat
180

gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac
240

ttggagctga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagaaggg
300

tttcattacg atattttgac tggttcctac ttctactact acggtatgga cgtctggggc
360

caagggacca cggtcaccgt ctcctca
387

<210> 289

<211> 129

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 289

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Gly Phe His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Ser Tyr Phe Tyr

100

105

110

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

Ser

<210> 290

<211> 357

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 290

caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc
 60

tcctgcaagg cttctgggta cacctttacc agctatggta tcagttgggc gcgacaggcc
 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcggcgttt acaatgggtca cacaaaatat
 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac
 240

atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccatat ttactgtgac gagaagggta
 300

gcagtggctg ggtactttga ctactggggc caggggaacc tggtcaccgt ctcctca
 357

<210> 291

<211> 119

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 291

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

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

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

Gly Trp Ile Gly Val Tyr Asn Gly His Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe

50

55

60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 292

<211> 381

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 292

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc gtggtccagc ctgggagggtc cctgagactc
60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agatatggca tgcactgggt ccgccaggct
120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtca taaatactat
180

gaagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attctaagaa cacgctgtat
240

ctgcaaatga acagcctgag agccgacgac acgggtgtgt attactgtgc gagagtcggg
300

tatggcagtg gctggtacga gtactattac cactacggtg tggacgtctg gggccaaggg
360

accacggtca ccgtctcctc a
381

<210> 293

<211> 127

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 293

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

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

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

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser His Lys Tyr Tyr Glu Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Arg Val Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Tyr Glu Tyr Tyr Tyr His Tyr
 100 105 110

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 294

<211> 384

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 294

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggagggtc cctgagactc
 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct
 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtgacaatt atatggtctg atggaattaa caaatactat
 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccata tccagagaca attccaagaa cacgctgaat
 240

ctgcaaatga acagtttgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagagaga
 300

ggcctctacg atattttgac tggttattat aactactacg gtattgacgt ctggggccaa
 360

gggaccacgg tcaccgtctc ctca
384

<210> 295
<211> 128
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 295
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

<210> 296
<211> 366
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 296
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggagac ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt ggctatacct tgaactgggt ccgccaggct
120

ccagggaagg ggctggagtg ggtttcaaac attaatagta ggagtagtct catatactac
180

acagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctcaactgtat
240

ctgcaaatac acagcctgag agacgaggac acggctgtgt atttctgtgc gagagatcag
300

tataactgga actactacta cggatatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc
360

tcctca
366

<210> 297
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 297
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

Thr Leu Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Asn Ile Asn Ser Arg Ser Ser Leu Ile Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

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

<210> 298

<211> 360
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 298
 gaggtgcggc tgggtggagtc tgggggagac ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatgcca tgaactgggt ccgccagggt
 120
 ccaggaagg ggctggagtg gatttcatac attggtagta gtagtagtgc catatactac
 180
 ggagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctactgtat
 240
 ctgcaaatga acagcctgag agacgaggac acggctgtgt attactgtgc gagatataga
 300
 agtggctggc ccccccctctt tgacttctgg ggccagggaa gcctggtcac cgtctcctca
 360

<210> 299
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 299
 Glu Val Arg Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Gly Ser Ser Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Tyr Arg Ser Gly Trp Ser Pro Leu Phe Asp Phe Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 300

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 300

cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc
 60

tcctgtgcag cgtctggaat caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct
 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcatct atatggtatg atggaagtaa taaatattat
 180

gtagactccg tgaagggccg attcaccatc ttcagagaca attccaagaa aacgctgtat
 240

ctgcaaataga acaggctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagacttggt
 300

ggtgggttttg actactgggg ccagggaacc ctgggtcaccg tctcctca
 348

<210> 301

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 301

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

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

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ser Lys Lys Thr Leu Tyr

65

70

75

80

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

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

Thr Val Ser Ser
 115

<210> 302
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 302
 gaggtgcggc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc
 60

tcctgtacag cctctggatt ccccttcaat agatatgcca tgaactgggt ccgccaggct
 120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtttcatac attggtagta gtagtagtgc catatactac
 180

gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctcaactgtat
 240

ctgcaaatga acagcctgag agatgaagac acggctgtgt attactgtgc gagatatagc
 300

agtggctggt cccccctctt tgactactgg ggccagggaa ccctgggtcac cgtctcctca
 360

<210> 303
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 303
 Glu Val Arg Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

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

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

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

<210> 304

<211> 321

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 304

cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcac tccccgcat ctgatgagca gttgaaatct
60

ggaactgcct ctgttggtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag
120

tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac
180

agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag
240

aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag
300

agcttcaaca ggggagagtg t
321

<210> 305

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 305

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
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> 306

<211> 318

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 306

ggtcagccca aggctgcccc ctcggtcact ctgttcccgc cctcctctga ggagcttcaa
60

gccacaagg ccacactggt gtgtctcata agtgacttct acccgggagc cgtgacagtg
120

gcctggaagg cagatagcag ccccgtaag gcgggagtgg agaccaccac accctccaaa
180

caaagcaaca acaagtacgc ggccagcagc tatctgagcc tgacgcctga gcagtggaag
240

tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg
300

gccctacag aatgttca
318

<210> 307

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 307

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

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 308

<211> 978

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 308

gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag
60

agcacagcgg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggg gacgggtgtcg
120

tggaactcag gcgctctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtcct acagtcctca
180

ggactctact ccctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcaacttcgg caccagacc
240

tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc
300

aaatgttgtg tcgagtgcc accgtgcca gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc
360

ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacgtgc
420

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc
480

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt
540

gtggtcagcg tcctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc
600

aaggtctcca acaaaggcct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa aaccaaaggg
660

cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac
720

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctaccca gcgacatcgc cgtggagtgg
780

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac
840

ggtccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac
900

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc
960

tccctgtctc cgggtaaa
978

<210> 309

<211> 326

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 309

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg
1				5					10					15	

Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	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 Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

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

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

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

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

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

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

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

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

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

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

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

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325

<210> 310

<211> 236

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 310

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 20 25 30

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

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

Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val
 65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr
 85 90 95

Ile Ser Ser Val Gln Pro Glu Asp Phe Val Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln
 100 105 110

His Asn Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
 115 120 125

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

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

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

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 180 185 190

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

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

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

<210> 311

<211> 473

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 311

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
 1 5 10 15

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

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

Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Val Ala Val Met Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Asp Tyr Val
 65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
 85 90 95

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Lys Asp His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr
 115 120 125

Asn Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
 130 135 140

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

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
 165 170 175

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
 180 185 190

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
 195 200 205

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly
 210 215 220

Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
 225 230 235 240

Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys
 245 250 255

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 260 265 270

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

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

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

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His
325 330 335

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

$\langle 210 \rangle$ 312

<211> 236

<212> PRT

<213> Homo sapiens

 $\langle 400 \rangle$ 312

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
20 25 30

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

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

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

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr
 85 90 95

Ile Ser Ser Val Gln Pro Glu Asp Phe Val Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln
 100 105 110

His Asn Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
 115 120 125

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

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

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

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 180 185 190

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

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

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

<210> 313

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic primer

<400> 313

aagctcgagg tcgactagac caccatggac atgagggtcc ccgctcagct cctg
54

<210> 314

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 314

Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu
1				5				10	

<210> 315

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic primer

<400> 315

aaccgtttaa acgcggccgc tcaacactct cccctgttga a
41

<210> 316

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 316

Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys
1				5	

<210> 317

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic primer

<400> 317

aagctcgagg tcgactagac caccatggag tttgggctga gctgggtttt c
51

<210> 318

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 318

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe
1 5

<210> 319

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic primer

<400> 319

gaccacggtc accgtctcct cagcctccac caagggccca tcggtctt
48

<210> 320

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic primer

<400> 320

aagaccgatg ggcccttggt ggaggctgag gagacgggtga ccgtggtc
48

<210> 321

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 321

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

Phe

<210> 322
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: Synthetic primer

<400> 322
 aaccgtttaa acgcggccgc tcatttaccc ggagacaggg a
 41

<210> 323
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 323
 Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 1 5

<210> 324
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 324
 ggctatacct tgaac
 15

REIVINDICAÇÕES

1. Uma proteína de ligação a antígeno isolada consistindo em uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo caracterizada pelo fato de que consiste em:

5 a. uma CDR3 da cadeia leve consistindo em uma sequência selecionada do grupo consistindo em:

i. uma sequência da CDR3 da cadeia leve que difere em não mais que um total de três adições, substituições e/ou eliminações de aminoácido de uma sequência da CDR3 selecionada do grupo consistindo nas sequências da CDR3 da cadeia leve de L1-L23, N^os de ID da SEQ: 72; 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 100;

ii. L Q X₂₁ N S X₂₂ P L T (N^o de ID da SEQ: 208);

iii. Q A W D S X₂₃ T V X₂₄ (N^o de ID da SEQ: 209);

15 b. uma sequência da CDR3 da cadeia pesada consistindo em uma sequência selecionada do grupo consistindo em:

i. uma sequência da CDR3 da cadeia pesada que difere em não mais que um total de quatro adições, substituições e/ou eliminações de aminoácido de uma sequência da CDR3 selecionada do grupo consistindo nas sequências da CDR3 da cadeia pesada de H1-H23, N^os de ID da SEQ: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199;

ii. E X₂₅ X₂₆ X₂₇ Y D I L T G Y X₂₈ X₂₉ Y Y G X₃₀ D V (N^o de ID da SEQ: 210)

25 iii. X₃₁ G G G F D Y (N^o de ID da SEQ: 211); ou

c. a sequência da CDR3 da cadeia leve de (a) e a sequência da CEDR3 da cadeia pesada de (b); onde,

X₂₁ é um resíduo de histidina, ou um resíduo de

glutamina,

X_{22} é um resíduo de aspargina, um resíduo de aspartato, ou um resíduo de tirosina,

X_{23} é um resíduo de aspargina ou um resíduo de serina,

X_{24} é um resíduo de isoleucina ou um resíduo de valina,

X_{25} é um resíduo de lisina, um resíduo de glutamato, ou um resíduo de prolina,

X_{26} é um resíduo de aspartato, um resíduo de treonina, um resíduo de glutamina, ou um resíduo de prolina,

X_{27} é um resíduo de histidina ou um resíduo de tirosina,

X_{28} é um resíduo de aspargina, um resíduo de histidina, um resíduo de aspartato, ou um resíduo de fenilalanina,

X_{29} é um resíduo de tirosina, um resíduo de histidina, ou um resíduo de asparagina,

X_{30} é um resíduo de leucina ou um resíduo de metionina,

X_{31} é um resíduo de leucina ou um resíduo de metionina,

e onde a mencionada proteína de ligação ao antígeno especificamente se liga ao receptor de glucagon humano.

2. A proteína de ligação a antígeno isolada da reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo consistindo em:

a. uma sequência da CDR1 da cadeia leve selecionada do grupo consistindo em:

i. uma CDR1 da cadeia leve que difere em não mais que três adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR1 de L1-L23, N^{os} de ID da SEQ: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 e 41;

5 ii. R S X₁ Q S L L D X₂ X₃ D G T Y T L D (N^o de ID da SEQ: 200)

iii. R A S Q X₄ I R N D X₅ G (N^o de ID da SEQ: 201); e

iv. S G D K L G D K Y X₆ C (N^o de ID da SEQ: 202);

10 onde

X₁ é um resíduo de serina ou um resíduo de treonina,

X₂ é um resíduo de arginina ou um resíduo de serina,

15 X₃ é um resíduo de aspartato ou um resíduo de alanina,

X₄ é um resíduo de glicina ou um resíduo de aspartato,

20 X₅ é um resíduo de leucina ou um resíduo de fenilalanina,

X₆ é um resíduo de valina ou um resíduo de alanina,

b. uma sequência de CDR2 da cadeia leve selecionada do grupo consistindo em:

25 i. uma CDR2 da cadeia leve que difere em não mais que duas adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência de CDR2 de L1-L23, N^{os} de ID da SEQ: 43, 45, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68 e 70;

ii. A A S S L X₉ S (Nº de ID da SEQ: 204); e

iii. Q X₁₀ X₁₁ K R P S (Nº de ID da SEQ: 205); onde

X₉ é um resíduo de glutamina ou um resíduo de glutamato,

5 X₁₀ é um resíduo de serina ou um resíduo de treonina,

X₁₁ é um resíduo de treonina, ou um resíduo de serina,

c. uma sequência da CDR1 da cadeia pesada
10 selecionada do grupo consistindo em:

i. uma CDR1 da cadeia pesada que difere em não mais que duas adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência da CDR1 de H1-H23, Nºs de ID da SEQ: 102,104,106,108, 111, 113,115, 117, 118, 120 e 122;

15 ii. X₇ Y X₈ M H (Nº de ID da SEQ: 203) onde

X₇ é um resíduo de serina ou um resíduo de treonina,

X₈ é um resíduo de glicina ou um resíduo de aspartato; e

20 d. uma CDR2 da cadeia pesada selecionada do grupo consistindo em:

i. uma sequência pesada que difere em não mais que três adições, substituições e/ou eliminações de aminoácidos de uma sequência de CDR2 de H1-H23, Nºs de ID da SEQ: 124, 126, 128,,
25 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 e 163;

ii. X₁₂ I W X₁₃ D G S X₁₄ K Y Y X₁₅ D S V K G (Nº de ID da SEQ: 206);

iii. X₁₆ I S X₁₇ D G S X₁₈ K Y X₁₉ X₂₀ D S V K G (Nº de ID da SEQ: 207); onde

X₁₂ is um resíduo de serina, um resíduo de fenilalanina, um resíduo de valina, ou um resíduo de glutamato,

5 X₁₃ é um resíduo de tirosina ou um resíduo de asparagina,

X₁₄ é um resíduo de aspargina ou um resíduo de glutamato,

10 X₁₅ é um resíduo de valina ou um resíduo de alanina,

X₁₆ é um resíduo de valina ou um resíduo de fenilalanina,

X₁₇ é um resíduo de histidina, um resíduo de aspartato, ou um resíduo de tirosina

15 X₁₈ é um resíduo de aspartato, um resíduo de asparagina, ou um resíduo de histidina,

X₁₉ é um resíduo de tirosina, ou um resíduo de serina,

20 X₂₀ é um resíduo de alanina ou um resíduo de glicina,

onde a dita proteína de ligação ao antígeno especificamente se liga ao receptor de glucagon humano.

3. A proteína de ligação a antígeno isolada da reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que consiste em:

25 a. um domínio variável da cadeia leve consistindo em;

i. uma sequência da CDR1 da cadeia leve selecionada entre os Nºs de ID da SEQ: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22,

24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 e 41;

ii. uma sequência da CDR2 da cadeia leve selecionada entre os N^os de ID da SEQ: 43, 45, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68 e 70;

5 iii. uma sequência da CDR3 da cadeia leve selecionada entre os N^os de ID da SEQ: 72, 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97 e 100; e

b. um domínio variável da cadeia pesada consistindo em:

10 i. uma sequência da CDR1 da cadeia pesada selecionada entre os N^os de ID da SEQ: 102, 104, 106, 108, 111, 113, 115, 117, 118, 120, e 122;

ii. uma sequência de CDR2 da cadeia pesada selecionada entre os N^os de ID da SEQ: 124, 126, 128, 130, 132,
15 134, 136, 138, 140, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 e 163; e

iii. uma sequência da CDR3 da cadeia pesada selecionada entre os N^os de ID da SEQ: 165, 167, 169, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197 e
20 199; ou

c. o domínio variável da cadeia leve de (a) e o domínio variável da cadeia pesada de (b), onde a proteína de ligação a antígeno especificamente se liga ao receptor de glucagon humano.

25 4. Uma proteína de ligação a antígeno isolada caracterizada pelo fato de que consiste em:

a. uma sequência do domínio variável da cadeia leve selecionada do grupo consistindo em;

i. aminoácidos com uma sequência pelo menos 80% idêntica a uma sequência do domínio variável da cadeia leve selecionada de L1-L23, N^os de ID da SEQ: 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255 e 257;

ii. uma sequência de aminoácidos codificados por uma sequência de polinucleotídeos que é pelo menos 80% idêntica a uma sequência de polinucleotídeos que codifica uma sequência do domínio variável da cadeia leve de L1-L23, N^os de ID da SEQ: 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254 e 256;

iii. uma sequência de aminoácidos codificados por uma sequência de polinucleotídeos que hibridiza sob condições moderadamente rígidas para o complemento de um polinucleotídeo consistindo em uma sequência do domínio variável da cadeia leve de L1-L23 dos N^os de ID da SEQ: 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254 e 256;

b. uma sequência do domínio variável da cadeia pesada selecionada do grupo consistindo em:

i. uma sequência de aminoácidos que é pelo menos 80% idêntica a uma sequência do domínio variável da cadeia pesada de H1-H23 dos N^os de ID da SEQ: 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301 e 303;

ii. uma sequência de aminoácidos codificados por uma sequência de polinucleotídeos que é pelo menos 80% idêntica a uma sequência de polinucleotídeos que codifica a sequência do

domínio variável da cadeia pesada de H1-H23, N^{os} de ID da SEQ: 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 292, 294, 296, 298, 300 e 302;

5 iii. uma sequência de aminoácidos codificados por
uma sequência de polinucleotídeos que hibridiza sob condições
moderadamente rígidas para o complemento de um polinucleotídeo
consistindo em uma sequência do domínio variável da cadeia pesada
de H1-H23, N^{os} de ID da SEQ: 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270,
272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 292, 294, 296, 298,
10 300 e 302; ou

 c. o domínio variável da cadeia leve de (a) e o
domínio variável da cadeia pesada de (b), onde a proteína de
ligação a antígeno se liga ao receptor de glucagon humano.

5 5. A proteína de ligação a antígeno isolada da
15 reivindicação 4, caracterizada pelo fato de que consiste em:

 a. uma sequência do domínio variável da cadeia
leve selecionada do grupo consistindo em: L1-L23 dos N^{os} de ID da
SEQ: 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235,
237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255 e 257;

20 b. uma sequência do domínio variável da cadeia
pesada selecionada do grupo consistindo em: H1-H23 dos N^{os} de ID
da SEQ: 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279,
281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301 e 303; ou

 c. o domínio variável da cadeia leve de (a) e o
25 domínio variável da cadeia pesada de (b), onde a proteína de
ligação a antígeno especificamente se liga ao receptor de glucagon
humano.

 6. A proteína de ligação a antígeno da

reivindicação 5, caracterizada pelo fato de que o domínio variável da cadeia leve e um domínio variável da cadeia pesada são selecionados do grupo de combinações consistindo em: L1H1, L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22 e L23H23, onde a proteína de ligação a antígeno especificamente se liga ao receptor de glucagon humano.

7. A proteína de ligação a antígeno da reivindicação 6, caracterizada pelo fato de que consiste ainda em:

a. a sequência constante da cadeia leve do N° de ID da SEQ: 305;

b. a sequência constante da cadeia leve do N° de ID da SEQ: 307;

c. a sequência constante da cadeia pesada do N° de ID da SEQ: 309;

d. a sequência constante da cadeia leve do N° de ID da SEQ: 305 e a sequência constante da cadeia pesada do N° de ID da SEQ: 309, ou

e. a sequência constante da cadeia leve do N° de ID da SEQ: 307 e a sequência constante da cadeia pesada do N° de ID da SEQ: 309.

8. A proteína de ligação isolada da reivindicação 1 ou 4, caracterizada pelo fato de que a proteína de ligação a antígeno é selecionada do grupo consistindo em um anticorpo humano, um anticorpo humanizado, anticorpo quimérico, um anticorpo monoclonal, um anticorpo policlonal, um anticorpo recombinante, um fragmento de anticorpo de ligação a antígeno, um

anticorpo de cadeia simples, um diacorpo, um triacorpo, um tetracorpo, um fragmento Fab, um fragmento F(fa')x, um anticorpo de domínio, um anticorpo IgD, um anticorpo IgE e um anticorpo IgM, um anticorpo IgG1, um anticorpo IgG2, um anticorpo IgG3, um anticorpo IgG4, com o anticorpo IgG4 tendo pelo menos uma mutação na região de junção.

9. A proteína de ligação a antígeno da reivindicação 8, caracterizada pelo fato de que a proteína de ligação é um anticorpo humano.

10 10. A proteína de ligação a antígeno da reivindicação 1 ou 4, caracterizada pelo fato de que quando ligada ao receptor de glucagon humano:

a. se liga ao receptor de glucagon humano com substancialmente o mesmo Kd que um anticorpo de referência;

15 b. inibe a estimulação do glucagon do receptor de glucagon humano com substancialmente a mesma CI₅₀ que o dito anticorpo de referência; ou

c. compete pela ligação com o dito anticorpo de referência no receptor de glucagon humano, onde o dito anticorpo de referência consiste em uma combinação de sequências do domínio variável da cadeia leve e da cadeia pesada selecionadas do grupo consistindo em L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L11H11, L12H12, L13H13, L15H15, L21H21 e L22H22.

25 11. Um anticorpo humano isolado caracterizado pelo fato de que, quando ligado ao receptor de glucagon humano:

a. se liga ao receptor de glucagon humano com substancialmente o mesmo Kd que o anticorpo de referência;

b. inibe a estimulação do glucagon do receptor

de glucagon humano com substancialmente a mesma CI_{50} que o dito anticorpo de referência; ou

c. compete pela ligação com o dito anticorpo de referência no receptor de glucagon humano, onde o dito anticorpo de referência é selecionado do grupo consistindo na-1, A-2, A-3, A-4, A-5, A-6, A-7, A-8, A-9, A-11, A-12, A-13, A-15, A-21 e A-22.

12. O anticorpo humano isolado da reivindicação 11, caracterizado pelo fato de que quando ligado ao receptor de glucagon humano:

a. especificamente se liga aos aminoácidos Ser80 a Ser119 do receptor de glucagon humano;

b. reduz a sinalização do glucagon com um valor de CI_{50} de 90 nM ou menos;

c. reduz a glicemia em um modelo animal; ou

d. tanto (a) como (b), ou

e. (a), (b) e (c).

13. O anticorpo da reivindicação 12, caracterizado pelo fato de que o animal é um modelo de camundongo ob/ob.

14. Uma composição farmacêutica caracterizada pelo fato de que consiste na proteína de ligação a antígeno da reivindicação 1 ou 4 em admistura com um transportador farmaceuticamente aceitável da mesma.

15. Uma composição farmacêutica caracterizada pelo fato de que consiste no anticorpo humano das reivindicações 11 ou 12 em admistura com um transportador farmaceuticamente aceitável da mesma.

16. Um ácido nucléico isolado caracterizado pelo

fato de que consiste em uma sequência de polinucleotídeos que codifica o domínio variável da cadeia leve, o domínio variável da cadeia pesada, ou ambos, do agente de ligação a antígeno da reivindicação 1 ou 5.

5 17. O ácido nucléico isolado da reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que a sequência é selecionada de L1-L23, N^os de ID da SEQ: 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254 e 256; H1-H23, N^os de ID da SEQ: 258, 260, 262, 264, 266, 268,
10 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300 e 302, ou ambos.

18. Um vetor de expressão recombinante caracterizado pelo fato de que consiste no ácido nucléico da reivindicação 16.

15 19. Uma célula hospedeira caracterizada pelo fato de que consiste no vetor da reivindicação 18.

20. Um hibridoma caracterizado pelo fato de que é capaz de produzir o anticorpo da reivindicação 9.

21. Um método caracterizado pelo fato de que é
20 para produzir uma proteína de ligação a antígeno que especificamente se liga ao receptor de glucagon humano que consiste na incubação da célula hospedeira da reivindicação 19 sob condições que permitam que ela expresse a proteína de ligação a antígeno.

25 22. Um método para reduzir a glicemia em um sujeito com necessidade de tal tratamento, caracterizado pelo fato de que consiste na administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz da composição da reivindicação 14 ao

sujeito.

23. Um método para melhorar a tolerância á glicose em um sujeito com necessidade de tal tratamento, caracterizado pelo fato de que consiste na administração de uma
5 quantidade terapeuticamente eficaz da composição da reivindicação 14 ao sujeito.

24. Um método para prevenir ou tratar o diabetes tipo 2 ou um distúrbio associado em um sujeito com necessidade de tal tratamento, caracterizado pelo fato de que consiste na
10 administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz da composição da reivindicação 14 ao sujeito.

25. O método da reivindicação 24, caracterizado pelo fato de que o sujeito é um ser humano.

26. O método da reivindicação 24, caracterizado
15 pelo fato de que o distúrbio associado é hiperglicemia, glicemia de jejum comprometida, tolerância à glicose diminuída, dislipidemia e síndrome metabólica.

27. Um método para reduzir a glicemia em um
20 sujeito com necessidade de tal tratamento, caracterizado pelo fato de que consiste na administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz da composição da reivindicação 15 ao sujeito.

28. Um método para melhorar a tolerância à glicose em um sujeito com necessidade de tal tratamento,
25 caracterizado pelo fato de que consiste na administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz da composição da reivindicação 15 no indivíduo.

29. Um método para prevenir ou tratar o diabetes

tipo 2 ou um distúrbio associado em um sujeito com necessidade de tal tratamento, caracterizado pelo fato de que consiste na administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz da composição da reivindicação 15 ao sujeito.

5 30. O método da reivindicação 29 caracterizado pelo fato de que o sujeito é um ser humano.

 31. O método da reivindicação 29, caracterizado pelo fato de que o distúrbio associado é hiperglicemia, glicemia de jejum comprometida, tolerância à glicose diminuída,
10 dislipidemia e síndrome metabólica.

 32. Um kit para o tratamento do diabetes tipo 2 caracterizado pelo fato de que consiste na composição da reivindicação 14.

 33. Um kit para o tratamento do diabetes tipo 2
15 caracterizado pelo fato de que consiste na composição da reivindicação 15.

 34. O uso da composição farmacêutica das reivindicações 14 e 15 caracterizado pelo fato de que é utilizado na preparação de um medicamento para tratar distúrbios que se
20 beneficiem com a redução da glicemia.

 35. O uso da reivindicação 32 caracterizado pelo fato de que os distúrbios são selecionados entre diabetes tipo 2, hiperglicemia, glicemia de jejum comprometida, tolerância à glicose diminuída, dislipidemia e síndrome metabólica.

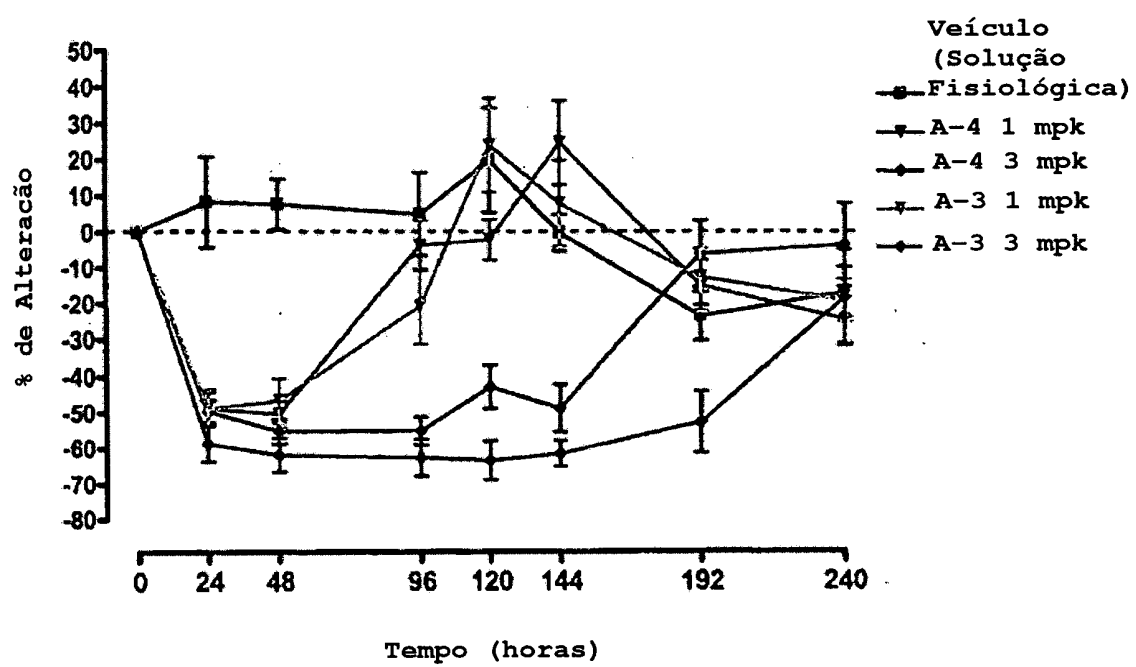


FIG. 1

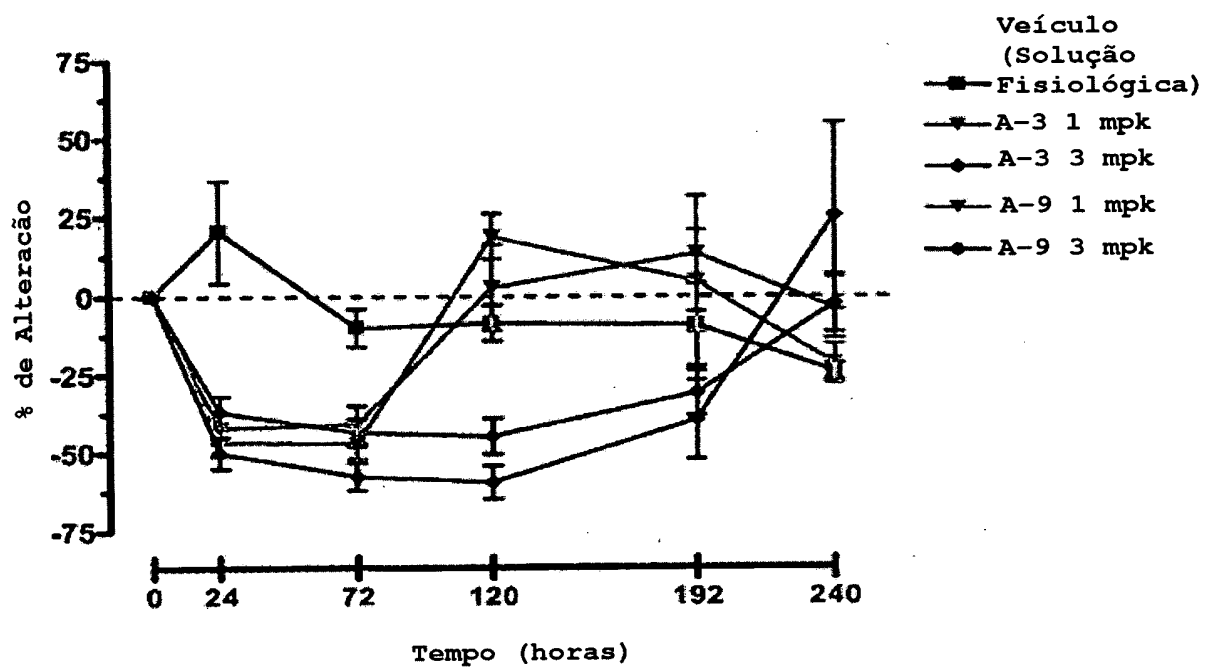


FIG. 2

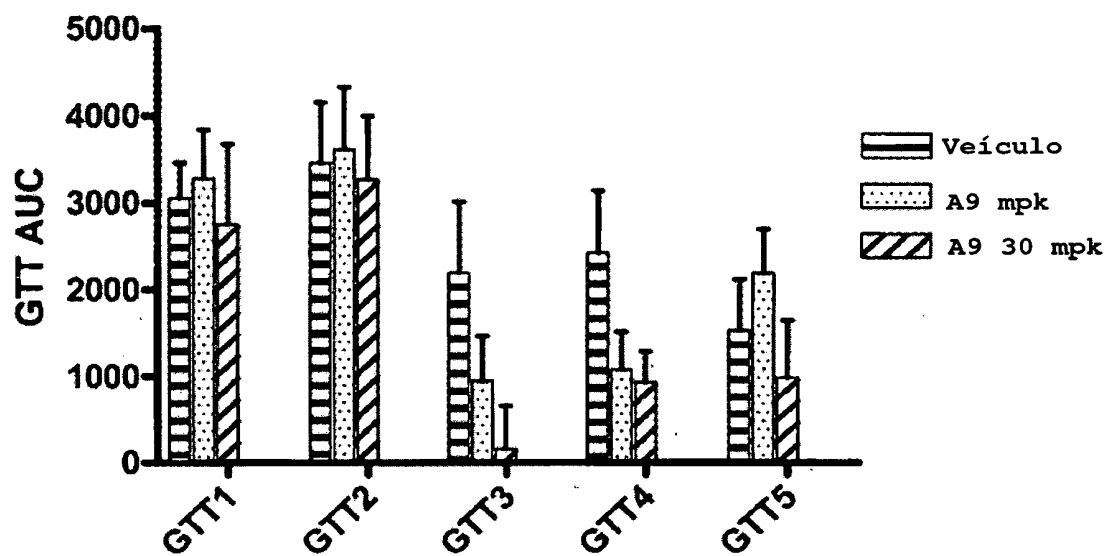


FIG. 3

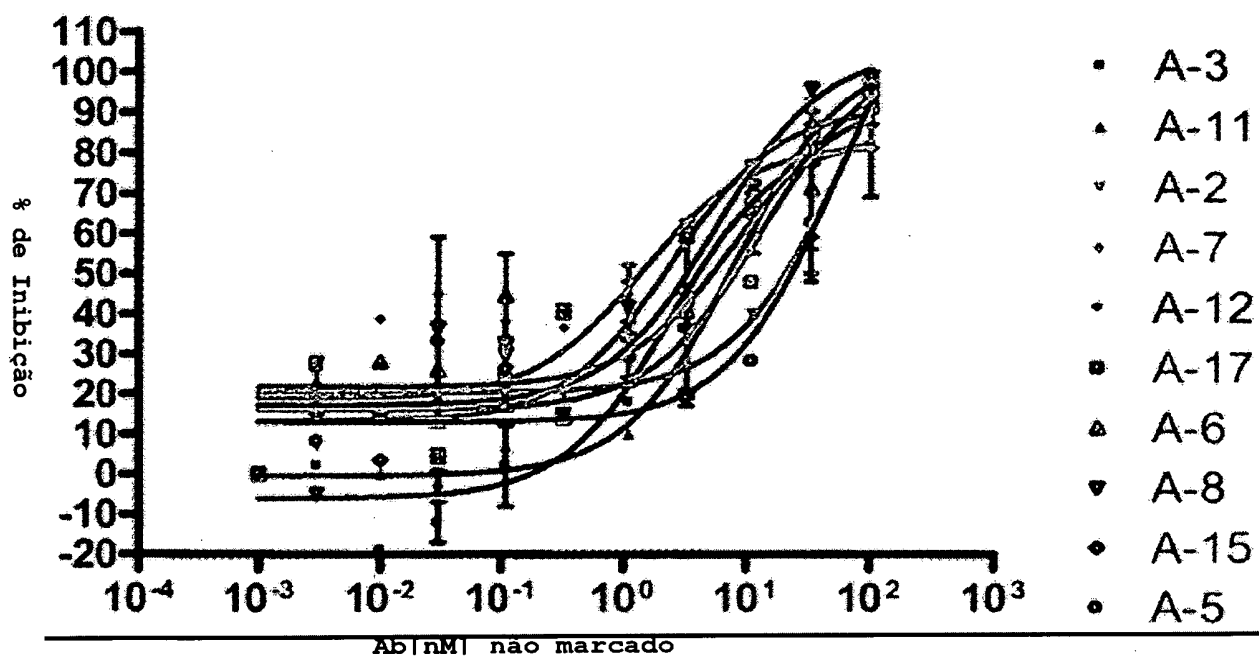


FIG. 4

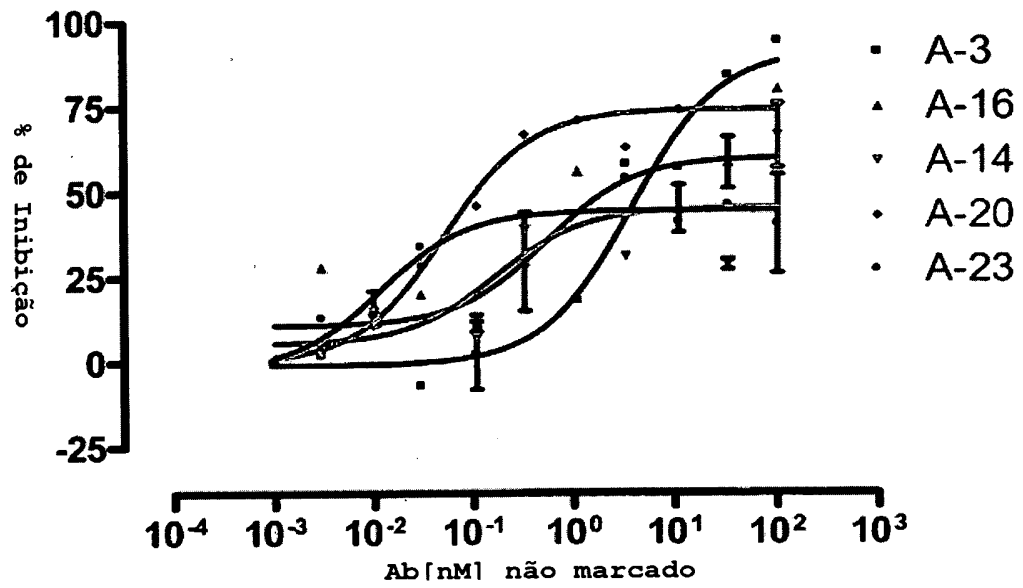


FIG. 5

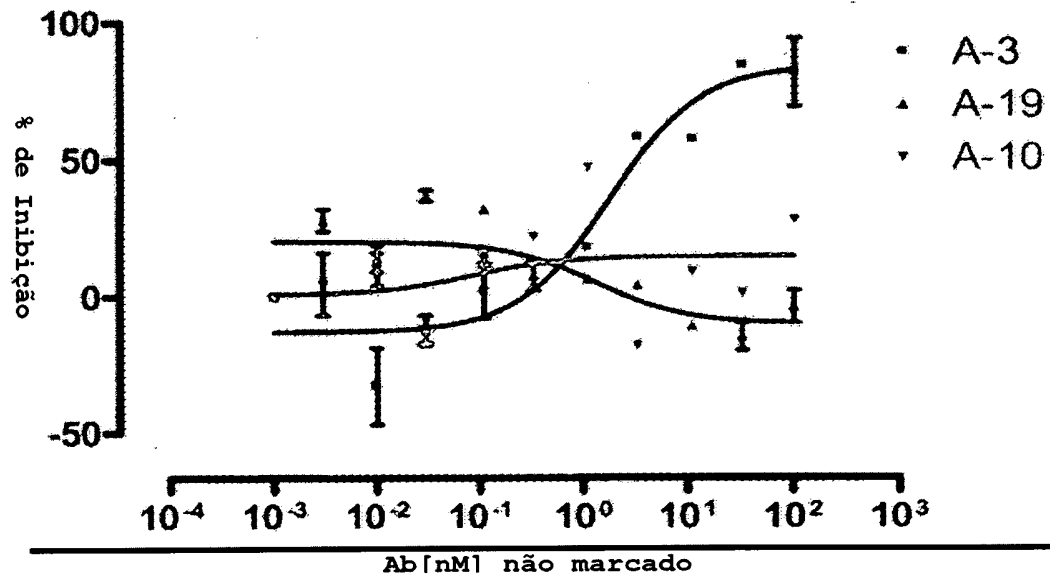


FIG. 6

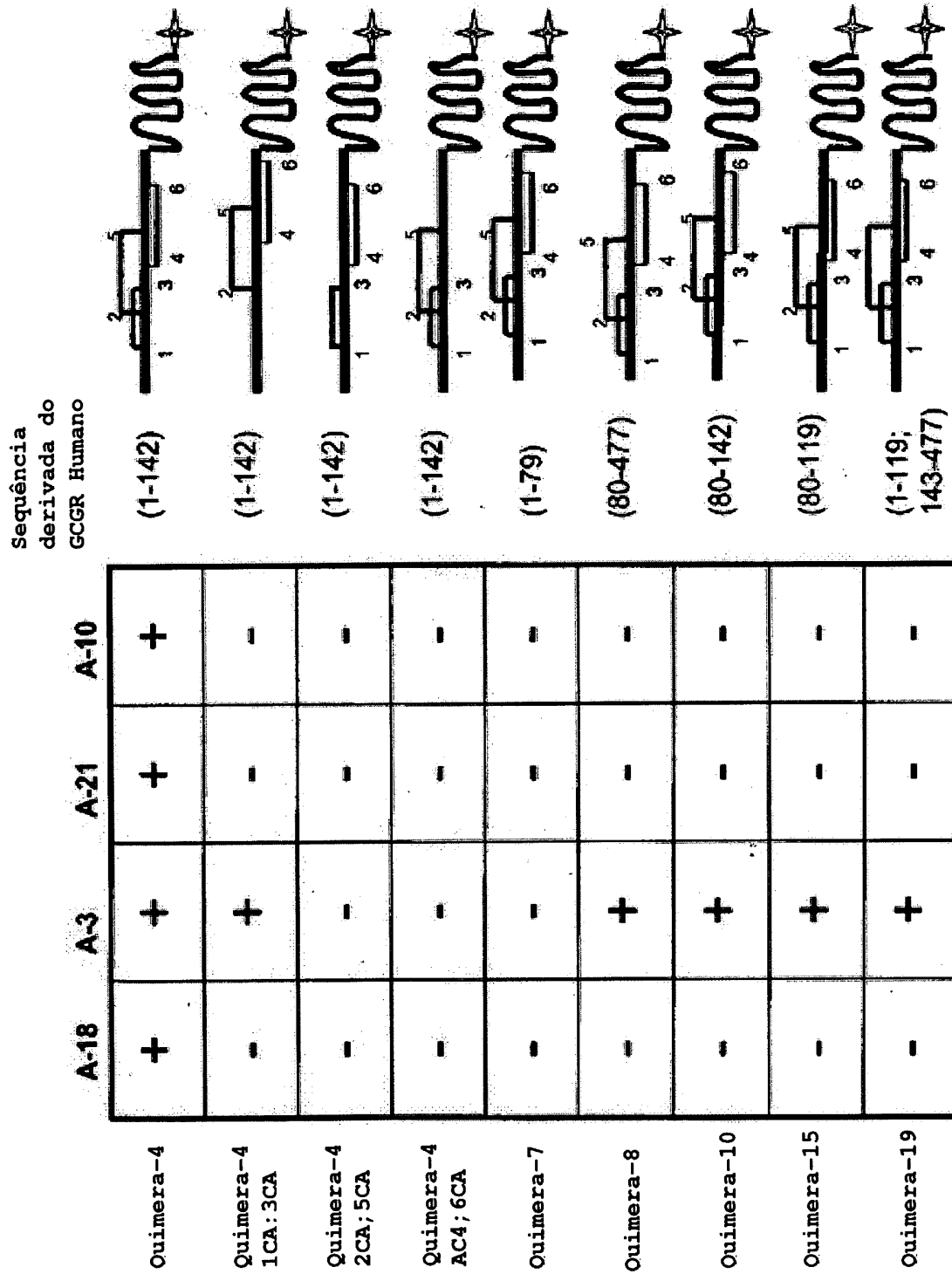


FIG. 7

RESUMO

"COMPOSIÇÕES E MÉTODOS RELATIVOS AOS ANTICORPOS RECEPTORES DE GLUCAGON".

A presente revelação fornece as composições e
5 métodos relacionados às proteínas de ligação ao antígeno, em
particular os anticorpos que especificamente se ligam ao receptor
de glucagon humano. A revelação fornece os ácidos nucleicos que
codificam tais proteínas de ligação ao antígeno e anticorpos e os
métodos para produzir e utilizar tais anticorpos, incluindo os
10 métodos para tratar e prevenir o diabetes tipo 2 e distúrbios
associados, administrando tais anticorpos a um sujeito que
necessite de tal tratamento.