

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 581 229**

(51) Int. Cl.:

C07K 16/24 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.09.2008 E 08830362 (3)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.05.2016 EP 2205635**

(54) Título: **Proteínas de unión a antígeno capaces de unirse a linfofagocitina estromal tímica**

(30) Prioridad:

10.09.2007 US 971178 P
25.08.2008 US 91676 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
02.09.2016

(73) Titular/es:

AMGEN INC. (100.0%)
ONE AMGEN CENTER DRIVE
THOUSAND OAKS, CA 91320, US

(72) Inventor/es:

COMEAU, MICHAEL R.;
SMOTHERS, JAMES F.;
YOON, BO-RIN P. y
MEHLIN, CHRISTOPHER

(74) Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 581 229 T3

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

DESCRIPCIÓN

Proteínas de unión a antígeno capaces de unirse a linfopoyetina estromal tímica

Campo de la invención

El campo de esta invención se refiere a composiciones de anticuerpos humanos capaces de unirse a linfopoyetina estromal tímica humana, así como a métodos relacionados.

Antecedentes de la invención

La prevalencia de enfermedades alérgicas tales como asma, rinitis alérgica, dermatitis atópica y alergias alimentarias parece estar aumentando en los últimos años, sobre todo en los países desarrollados, afectando a un porcentaje cada vez mayor de la población (Kay, N Engl. J. Med. 344:30-37 (2001)). La linfopoyetina estromal tímica (LPET) es

10 una citoquina derivada de células epiteliales producida en respuesta a los estímulos pro-inflamatorios. Se ha descubierto que la LPET promueve respuestas inflamatorias alérgicas principalmente a través de su actividad sobre células dendríticas y mastocitos (Soumelis et al., Nat Immun 3(7):673-680 (2002), Allakhverdi et al., J. Exp. Med. 204(2):253-258 (2007)). Se ha informado de que la expresión de LPET humana aumenta en las vías respiratorias asmáticas en correspondencia con la gravedad de la enfermedad (Ying et al., J. Immunol. 174:8183-8190 (2005)).

15 Además, los niveles de proteína de LPET son detectables en el líquido de lavado broncoalveolar (LBA) concentrado de los pacientes de asma, y otros pacientes que sufren trastornos alérgicos. Además, se encuentra aumento de los niveles de proteína y ARNm de LPET en la piel lesional de la dermatitis atópica (DA) de los pacientes. Por lo tanto, los antagonistas de LPET serían útiles en el tratamiento de trastornos inflamatorios.

20 Además, también se ha encontrado que la LPET promueve la fibrosis, como se informa en la Solicitud de los Estados Unidos con el Núm. de Serie 11/344.379. La enfermedad fibrótica se produce durante el proceso de reparación de tejidos si la fase de fibrosis continúa sin control, dando lugar a una amplia remodelación tisular y la formación de tejido cicatrizal permanente (Wynn, Nature Rev. Immunol. 4, 583 (2004)). Se ha estimado que hasta 45% de las muertes en los Estados Unidos se puede atribuir a enfermedades fibroproliferativas, que pueden afectar a muchos tejidos y sistemas de órganos (Wynn, más arriba, en 595 (2004)). El documento WO 2007/096149

25 describe anticuerpos para LPET.

Actualmente, los tratamientos anti-inflamatorios se utilizan para tratar trastornos fibróticos, ya que la fibrosis es común a muchas enfermedades inflamatorias persistentes, tales como la fibrosis pulmonar idiopática, la enfermedad renal progresiva, y la cirrosis hepática. Sin embargo, los mecanismos implicados en la regulación de la fibrosis parecen ser distintos de los de la inflamación, y las terapias anti-inflamatorias no siempre son eficaces en la reducción o prevención de la fibrosis (Wynn, más arriba). Por lo tanto, sigue existiendo la necesidad de desarrollo de tratamientos para reducir y prevenir la fibrosis.

Por lo tanto, se esperaría que los antagonistas de LPET fueran útiles para el tratamiento de estos trastornos inflamatorios y fibróticos. La presente descripción proporciona tales tratamientos y métodos de tratamiento.

Compendio de la invención

35 La presente descripción proporciona una proteína de unión a antígeno aislada que comprende a. una secuencia de CDR3 de cadena ligera seleccionada entre i. una secuencia de CDR3 de cadena ligera que difiere en no más de un total de dos adiciones, sustituciones, y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia de CDR3 seleccionada del grupo que consiste en secuencias de CDR3 de cadena ligera de A1 a A27; ii. QQAX₈SFPLT (SEQ ID NO: 251); y b. una secuencia de CDR3 de cadena pesada seleccionada entre i. una secuencia de CDR3 de cadena pesada que

40 difiere en no más de un total de tres adiciones, sustituciones, y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia de CDR3 seleccionada del grupo que consiste en una secuencia de CDR3 de cadena pesada de A1 a A27; ii. GGGIX₁₂VADYYX₁₃YGMDV (SEQ ID NO: 255); iii. DX₂₁GX₂₂SGWPLFX₂₃Y (SEQ ID NO: 259); en donde X₈ es un residuo de N o un residuo de D; X₁₂ es un residuo de P o un residuo de A; X₁₃ es un residuo de Y o un residuo de F; X₂₁ es un residuo de G o un residuo de R; X₂₂ es un residuo de S o un residuo de T; X₂₃ es un residuo de A o un residuo de D, y en donde dicha proteína de unión a antígeno se une específicamente a LPET.

45 La proteína de unión a antígeno aislada de la presente descripción comprende adicionalmente al menos uno de los siguientes: a. una secuencia de CDR1 de cadena ligera seleccionada entre i. una secuencia de CDR1 de cadena ligera que difiere en no más de tres adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia de CDR1 de cadena ligera de A1-A27; ii. RSSQLX₁YSDGX₂TYLN (SEQ ID NO: 246);

50 iii. RASQX₄X₅SSWLA (SEQ ID NO: 249); b. una secuencia de CDR2 de cadena ligera seleccionada entre i. una secuencia de CDR2 de cadena ligera que difiere en no más de dos adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia de CDR2 de A1-A27; ii. KVSX₃ (residuos 1-4 del SEC ID NO: 247); iii. X₆X₇SSLQS (SEQ ID NO: 250); o iv. QDX₉KRPS (SEQ ID NO: 252); y c. una secuencia de CDR1 de cadena pesada seleccionada entre i. una secuencia de CDR1 de cadena pesada que se diferencia en no más de dos adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia de CDR1 de A1-A27; ii. X₁₀YGMH (SEQ ID NO: 253);

y iii. $X_{15}X_{16}YMX_{17}$ (SEQ ID NO: 257); y d. una secuencia de CDR2 de cadena pesada seleccionada entre i. una secuencia de CDR2 de cadena pesada que se diferencia en no más de tres adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia de CDR2 de A1-A27; ii. $VIWX_{11}DGSNKYYADSVKG$ (SEQ ID NO: 254); iii. $VISYDGSX_{14}KYYADSVKG$ (SEQ ID NO: 256); y iv. $WINPNSGGTNX_{18}X_{19}X_{20}KFQG$ (SEQ ID NO: 258); en donde X_1 es un residuo de V o un residuo de I; X_2 es un residuo de N o un residuo de D; X_3 es un residuo de Y o un residuo de N; X_4 es un residuo de G o un residuo de S; X_5 es un residuo de L o un residuo de I; X_6 es un residuo de N o un residuo de T; X_7 es un residuo de T o un residuo de A; X_8 es un residuo de K o un residuo de N; X_{10} es un residuo de S o un residuo de N; X_{11} es un residuo de Y o un residuo de F; X_{14} es un residuo de Y o un residuo de N; X_{15} es un residuo de D o un residuo de G; X_{16} es un residuo de Y o un residuo de D; X_{17} es un residuo de Y o un residuo de H; X_{18} es un residuo de Y o un residuo de H; X_{19} es un residuo de V o un residuo de A; X_{20} es un residuo de Q o un residuo de R, y en donde dicha proteína de unión a antígeno se une específicamente a LPET.

La proteína de unión a antígeno aislada comprende: a. un dominio variable de cadena ligera que comprende: i. una secuencia de CDR1 de cadena ligera seleccionada entre A1-A27; ii. una secuencia de CDR2 de cadena ligera seleccionada entre A1-A27; iii. una secuencia de CDR3 de cadena ligera seleccionada entre A1-A27; o b. un dominio variable de cadena pesada que comprende i. una secuencia de CDR1 de cadena pesada seleccionada entre A1-A27; ii. una secuencia de CDR2 de cadena pesada seleccionada entre A1-A27, y iii. una secuencia de CDR3 de cadena pesada seleccionada entre A1-A27; o c. el dominio variable de cadena ligera de (a) el dominio variable de cadena pesada de (b).

La proteína de unión a antígeno aislada comprende a. una secuencia de dominio variable de cadena ligera seleccionada entre i. aminoácidos que tienen una secuencia idéntica en al menos 80% a una secuencia de dominio variable de cadena ligera seleccionada entre L1-L27; ii. una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos 80% a una secuencia de polinucleótido que codifica la secuencia del dominio variable de cadena ligera de L1-L27; iii. una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de polinucleótido que hibrida en condiciones moderadamente rigurosas con el complemento de un polinucleótido que consiste en una secuencia de dominio variable de cadena ligera de L1-L27; b. una secuencia del dominio variable de cadena pesada seleccionada entre i. una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 80% a una secuencia de dominio variable de cadena pesada de H1-H27; ii. una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos 80% a una secuencia de polinucleótido que codifica la secuencia del dominio variable de cadena pesada de H1-H27; iii. una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de polinucleótido que hibrida en condiciones moderadamente rigurosas con el complemento de un polinucleótido que consiste en una secuencia de dominio variable de cadena pesada de H1-H27; o c. el dominio variable de cadena ligera de (a) y el dominio variable de cadena pesada de (b), en donde dicha proteína de unión a antígeno se une específicamente a LPET.

Una proteína de unión a antígeno aislada de la presente descripción comprende: a. una secuencia de dominio variable de cadena ligera seleccionada entre: L1-L27; b. una secuencia de dominio variable de cadena pesada seleccionada entre H1-H27; o, c. el dominio variable de cadena ligera de (a) y el dominio variable de cadena pesada de (b), en donde la proteína de unión a antígeno se une específicamente a LPET.

En un aspecto, la invención se refiere a un anticuerpo humano anti-LPET que comprende:

a. un dominio variable de la cadena ligera que comprende:

i. una secuencia CDR1 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 13;
ii. una secuencia CDR2 de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 60; y
iii. una secuencia CDR3 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 105;

b. un dominio variable de la cadena pesada que comprende:

i. una secuencia CDR1 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 145;
ii. una secuencia CDR2 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 173; y
iii. una secuencia CDR3 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 212.

Más específicamente, la invención se refiere a un anticuerpo humano anti-LPET que comprende:

a. una secuencia del dominio variable de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en:

i. aminoácidos que tienen una secuencia idéntica en al menos 80% al SEQ ID NO: 363;

ii. una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos 80% al SEQ ID NO: 362;

5 iii. una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de polinucleótido que hibrida en condiciones moderadamente rigurosas con el complemento de un polinucleótido que consiste en el SEQ ID NO: 362; y

b. una secuencia del dominio variable de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en:

i. una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 80% al SEQ ID NO: 361;

10 ii. una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos 80% al SEQ ID NO: 360;

15 iii. una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de polinucleótido que hibrida en condiciones moderadamente rigurosas con el complemento de un polinucleótido que consiste en el SEQ ID NO: 360.

En un aspecto adicional, el anticuerpo humano anti-LPET comprende una secuencia de dominio variable de la cadena ligera y una secuencia de dominio variable de la cadena pesada seleccionadas entre L19.2H19, L20.1H20, L20.2H20, L21H21, L22H22, L23H23, L24H24, L25H25, L26H26.

20 En un aspecto adicional, el anticuerpo humano anti-LPET comprende una proteína de unión que se une a LPET sustancialmente con la misma Kd que un anticuerpo de referencia A5. En otro aspecto, la proteína de unión a antígeno aislado comprende una proteína de unión que inhibe la actividad de LPET de acuerdo con el análisis de OPG celular primario con la misma CI50 que un anticuerpo de referencia A5.

25 20 En un aspecto adicional más, el anticuerpo humano anti-LPET compite de manera cruzada por la unión de LPET a un anticuerpo de referencia. En otro aspecto, la proteína de unión a antígeno aislada se une al mismo epítopo que un anticuerpo de referencia.

30 En un aspecto, el anticuerpo humano anti-LPET se selecciona entre un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, anticuerpo químico, un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal, un anticuerpo recombinante, un fragmento de anticuerpo de unión a antígeno, un anticuerpo de cadena sencilla, un diacuerpo, un triacuerpo, un tetracuerpo, un fragmento Fab, un fragmento F(fa')x, un anticuerpo de dominio, un anticuerpo IgD, un anticuerpo IgE, y el anticuerpo IgM, y el anticuerpo IgG1, y el anticuerpo IgG2, y el anticuerpo IgG3, y el anticuerpo IgG4, y el anticuerpo IgG4 que tiene al menos una mutación en la región bisagra que alivia la tendencia a enlaces disulfuro intra cadena H. En un aspecto, la proteína de unión a antígeno aislada es un anticuerpo humano.

35 30 También se proporciona una molécula de ácido nucleico aislada que comprende una secuencia de polinucleótido que codifica el dominio variable de cadena ligera, el dominio variable de cadena pesada, o ambos, del anticuerpo de la presente descripción. En una realización, el polinucleótido comprende una secuencia variable de cadena ligera L1-L27, y/o una secuencia variable de cadena pesada H1-H27, o ambas.

40 35 También se proporcionan vectores que comprenden los polinucleótidos de la presente descripción. En una realización, el vector es un vector de expresión. También se proporciona una célula anfitriona que comprende el vector. También se proporciona un hibridoma capaz de producir la proteína de unión a antígeno de la presente invención. También se proporciona un método de fabricación de la proteína de unión a antígeno que comprende cultivar la célula anfitriona bajo condiciones que permitan que se exprese la proteína de unión a antígeno.

45 40 También se proporciona una composición farmacéutica que comprende los anticuerpos de la presente invención. En una realización, la composición farmacéutica comprende un anticuerpo humano. También se proporciona un método de tratamiento de una afección inflamatoria relacionada con LPET en un sujeto que necesite tal tratamiento que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición al sujeto. En una realización, la afección inflamatoria es el asma alérgica, la rinosinusitis alérgica, la conjuntivitis alérgica, o la dermatitis atópica. También se proporciona un método de tratamiento de un trastorno fibrótico relacionado con LPET en un sujeto que necesite tal tratamiento que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición al sujeto. En una realización, el trastorno fibrótico es la esclerodermia, la enfermedad pulmonar intersticial, la fibrosis pulmonar idiopática, la fibrosis resultante de la hepatitis B o C crónica, la fibrosis inducida por radiación y la fibrosis resultante de la cicatrización de heridas.

Breve descripción de los dibujos

50 FIG. 1A-FIG. 1F. La FIG. proporciona la secuencia de aminoácidos de las regiones CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de A1-A27. Adicionalmente se proporciona una secuencia de nucleótidos ilustrativa que codifica cada CDR.

FIG. 2A-FIG. 2F. La FIG. proporciona la secuencia de aminoácidos de las regiones CDR1, CDR2, y CDR3 de

cadena pesada de A1-A27. Adicionalmente se proporciona una secuencia de nucleótidos ilustrativa que codifica cada CDR.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a anticuerpos humanos anti-LPET que se unen específicamente a la citoquina linfopoyetina estromal tímica humana (LPET), incluyendo proteínas de unión a antígeno que inhiben la unión y señalización de LPET, tales como anticuerpos antagonistas de LPET, fragmentos de anticuerpos y derivados de anticuerpos. Los anticuerpos son útiles para inhibir o bloquear la unión de LPET a su receptor, y para el tratamiento de enfermedades inflamatorias, enfermedades fibróticas, y otras afecciones relacionadas.

La presente invención proporciona adicionalmente composiciones, kits, y métodos referentes a anticuerpos humanos que se unen a LPET. También se proporcionan moléculas de ácido nucleico, y derivados y fragmentos de los mismos, que comprenden una secuencia de polinucleótido que codifica la totalidad o una porción de un polipéptido que se une a LPET, tal como un ácido nucleico que codifica todo o parte de un anticuerpo anti-LPET, fragmento de anticuerpo, o derivado de anticuerpo. La presente invención proporciona adicionalmente vectores y plásmidos que comprenden tales ácidos nucleicos, y células o líneas celulares que comprenden tales ácidos nucleicos y/o vectores y plásmidos. Los métodos proporcionados incluyen, por ejemplo, métodos de preparación, identificación o aislamiento de anticuerpos anti-LPET, métodos para determinar si un anticuerpo se une a LPET, métodos de preparación de composiciones, tales como composiciones farmacéuticas, que comprenden un anticuerpo que se une a LPET, y métodos para la administración de un anticuerpo que se une a LPET en un sujeto, por ejemplo, métodos para el tratamiento de una afección mediada por LPET, y para la modulación de una actividad biológica asociada con la señalización de LPET in vivo o in vitro.

LPET

La linfopoyetina estromal tímica (LPET) se refiere a una citoquina de tipo I de cuatro haces α -helicoidales que es un miembro de la familia IL-2, pero muy estrechamente relacionada con IL-7. Las citoquinas son proteínas reguladoras de bajo peso molecular secretadas en respuesta a ciertos estímulos, que actúan sobre los receptores en la membrana de las células diana. Las citoquinas regulan una variedad de respuestas celulares. Las citoquinas se describen en general en referencias tales como *Cytokines*, A. Mire-Sluis y R. Thorne, ed., Academic Press, Nueva York, (1998).

La LPET se clonó originalmente de una línea de células del estroma tímico murino (Sims et al., J. Exp. Med 192 (5), 671-680 (2000)), y se encontró que apoyaba el desarrollo temprano de células B y T. La LPET humana se clonó y se encontró que tenía una identidad de 43 por ciento en la secuencia de aminoácidos con el homólogo murino (Quentmeier et al. Leukemia 15, 1286-1292 (2001), y Patente de Estados Unidos Núm. 6.555.520). Las secuencias de polinucleótido y de aminoácidos de LPET humana se presentan en el SEQ ID NO: 1 y 2 respectivamente. Se encontró que LPET se unía con baja afinidad a una cadena del receptor de la familia de receptores de hematopoyetina denominado receptor de LPET (RLPET), que se describe en la Solicitud de Patente de Estados Unidos Núm. 09/895.945 (Publicación Núm. 2002/0068323) (SEQ ID NO: 3 y 4). La secuencia de polinucleótido que codifica RLPET humano se presenta como SEQ ID NO: 3 de la presente solicitud, y la secuencia de aminoácidos se presenta como SEC ID NO: 4 de la presente solicitud, respectivamente. El dominio soluble de RLPET abarca aproximadamente los aminoácidos 25 a 231 del SEQ ID NO: 4. La LPET se une con alta afinidad a un complejo heterodimérico de RLPET y el receptor alfa de interleuquina 7 IL-7R α (Park et al., J. Exp. Med 192: 5 (2000), Solicitud de Patente de Estados Unidos Núm. 09/895.945, Número de publicación U.S. 2002/0068323). La secuencia del receptor α de IL-7 se muestra en la Figura 2 de la Patente de Estados Unidos Núm. 5.264.416. La secuencia del dominio soluble del receptor α de IL-7 abarca los aminoácidos 1-219 de la Figura 2 en la Patente de Estados Unidos Núm. 5.264.416.

Según se utiliza en la presente memoria el término "polipéptidos de LPET" se refiere a diversas formas de LPET útiles como inmunógenos. Estos incluyen LPET expresadas en forma modificada, en la que un sitio de escisión de furina se ha eliminado mediante la modificación de la secuencia de aminoácidos, como se describe en la publicación de la solicitud de patente PCT WO 03/032898. La LPET modificada conserva la actividad, pero la secuencia completa se expresa más fácilmente en células de mamífero tales como células CHO. Los ejemplos de polipéptidos de LPET incluyen el SEQ ID NO: 2, el SEQ ID NO: 373, y el SEQ ID NO: 375.

Además, la LPET de cinomolgo se ha identificado y se muestra en el Ejemplo 1 a continuación y se define en el SEQ ID NO: 380, por ejemplo.

La LPET se produce en células epiteliales humanas, incluyendo células de la piel, bronquiales, traqueales, y epiteliales de las vías respiratorias, queratinocitos, células estromales y mastocitos, células del músculo liso, y fibroblastos de pulmón y dérmicos, como se determina por medio de análisis de ARNm cuantitativo (Soumelis et al., Nature Immunol. 3 (7) 673-680 (2002)). La LPET tanto murina como humana están involucradas en la promoción de la inflamación alérgica.

TABLA 1

Nombre de la proteína	Especie	Sinónimos	Bases de datos (o Solicitud de Patente)	Núm. de Acceso
LPET	Homo sapiens	Proteína linfopoyetina estromal tímica	GenBank/SEQ ID NO: 2 de la patente de los Estados Unidos Núm. 6555520	AAK67940/
LPET modificada	Homo sapiens	Linfopoyetina estromal tímica	SEQ ID NO: 10, 12, 14, 16, 17, 18 del documento WO 03/032898	
LPET	Mus musculus	Linfopoyetina derivada de estroma tímica Linfopoyetina derivada de estroma tímica	GenBank	AAF81677
RLPET	Homo sapiens	Factor 2 de tipo receptor de citoquina (CRL2); IL-XR; receptor de proteína linfopoyetina estromal tímica	SEQ ID NO: 5 del documento US 2002/0068323	
RLPET	Mus	Factor 2 de tipo receptor de citoquina; Receptor delta de citoquina de tipo 1; molécula 2 de tipo receptor de citoquina (CRLM-2); receptor de proteína linfopoyetina estromal tímica	GenBank, SWISSPROT	Q8CII9
IL-7R	Homo sapiens	Receptor de la interleuquina-7	GenBank/Patente de Estados Unidos Núm: 5264416	NM_002185

Actividad LPET

Las actividades de LPET incluyen la proliferación de células BAF que expresan RLPET humano (BAF/HTR), como se describe en la publicación de la solicitud de patente PCT WO 03/032898. El bioanálisis BAF/HTR utiliza una línea celular pro-linfocitos B murinos, que ha sido transfectada con el receptor de LPET humano. Las células BAF/HTR dependen de huLPET para el crecimiento, y proliferan en respuesta a huLPET activa añadida en muestras de ensayo. Después de un período de incubación, se mide la proliferación celular por medio de la adición de colorante Azul Alamar I o timidina tritiada. La proliferación también se puede medir usando un kit comercialmente disponible tal como el kit de análisis de proliferación celular CyQUANT (Invitrogen).

Otros análisis para la actividad de huLPET incluyen, por ejemplo, un análisis de medición de la inducción de crecimiento de células T de la médula ósea humana por LPET como se describe en la Patente de los Estados Unidos 6.555.520. Otra actividad de LPET es la capacidad de activar STAT5 como se describe en la referencia a Levin et al., J. Immunol. 162: 677-683 (1999) y en la publicación de patente PCT WO 03/032898.

Otros análisis incluyen la producción de CCL17/TARC inducida por LPET a partir de monocitos humanos primarios y células dendríticas como se describe en la publicación de la solicitud de los Estados Unidos Núm. 2006/0039910 (número de serie. 11/205.909).

Los análisis basados en células útiles para la medición de actividad de LPET se describen en los ejemplos siguientes. Estos incluyen el análisis de proliferación de células BAF descrito anteriormente, así como el análisis de células primarias descrito a continuación que mide la producción de osteoprotegerina (OPG) inducida por LPET a partir de células dendríticas humanas primarias, así como el análisis de células mononucleares de sangre periférica de cinomolgo, también descrito a continuación.

Las actividades de LPET incluyen además actividades *in vivo*. Estas se pueden medir en modelos de ratón, por ejemplo, tales como los descritos en Zhou et al., Nat Immunol 6(10), 1047-1053 (2005), y Yoo et al., J Exp Med. 202 (4), 541-549 (2005). Por ejemplo, un anticuerpo anti-LPET murina demostró que disminuía la celularidad de LBAF y los niveles en LBAF de IL-5 e IL-13 en un modelo de asma por Ova (Zhou et al.).

Definiciones

Las secuencias de polinucleótidos y polipéptidos se indican usando las abreviaturas de una o tres letras convencionales. A menos que se indique lo contrario, las secuencias de polipéptidos tienen sus extremos amino a la

izquierda y sus extremos carboxi a la derecha, y las secuencias de ácidos nucleicos de hebra sencilla, y la hebra superior de las secuencias de ácidos nucleicos de doble hebra tienen sus extremos 5' a la izquierda y sus extremos 3' a la derecha. También se puede describir una secuencia de polipéptidos o polinucleótidos concreta explicando cómo difiere de una secuencia de referencia.

- 5 Las secuencias de polinucleótidos y polipéptidos de los dominios variables de la cadena ligera y pesada concretas, L1 ("dominio 1 variable de la cadena ligera"), H1 ("dominio 1 variable de la cadena pesada"), etc. Los anticuerpos que comprenden una cadena ligera y una cadena pesada se indican combinando el nombre de los dominios variables de la cadena ligera y de la cadena pesada. Por ejemplo, "L4H7," indica un anticuerpo que comprende el dominio variable de cadena ligera de L4 y el dominio variable de cadena pesada de H7.
- 10 A menos que se defina lo contrario en la presente memoria los términos científicos y técnicos utilizados en relación con la presente invención tendrán los significados que se entienden comúnmente por los expertos normales en la técnica. Además, a menos que sea requerido por el contexto, los términos en singular incluirán el plural y los términos en plural incluirán el singular. Generalmente, las nomenclaturas utilizadas en relación con, y las técnicas de, cultivo de células y tejidos, biología molecular, inmunología, microbiología, genética y química de proteínas y de 15 ácidos nucleicos e hibridación descritas en la presente memoria son aquellas bien conocidas y comúnmente utilizadas en la técnica. Los métodos y técnicas de la presente invención se realizan generalmente de acuerdo con métodos convencionales bien conocidos en la técnica y como se describe en diversas referencias generales y más específicas que se citan y discuten a lo largo de la presente memoria descriptiva a menos que se indique lo contrario. Véanse, p. ej., Sambrook et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2^a edición, Cold Spring Harbor 20 Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989) y Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates (1992), y Harlow y Lane Antibodies: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990). Las reacciones enzimáticas y las técnicas de purificación se realizan según las especificaciones del fabricante, comúnmente logradas en la técnica o como se describe en la presente memoria. La terminología utilizada en relación con, y los procedimientos y técnicas de laboratorio, de la química analítica, la 25 química orgánica sintética, y química médica y farmacéutica descritas en la presente memoria son aquellas bien conocidas y comúnmente utilizadas en la técnica. Las técnicas convencionales se pueden utilizar para síntesis químicas, análisis químicos, preparación farmacéutica, formulación, y suministro, y el tratamiento de los pacientes.

Se entenderá que los siguientes términos, a menos que se indique de otro modo, tienen los siguientes significados: El término "molécula aislada" (donde la molécula es, por ejemplo, un polipéptido, un polinucleótido, o un anticuerpo) 30 es una molécula que en virtud de su origen o fuente de derivación (1) no está asociada con los componentes asociados de forma natural que lo acompañan en su estado nativo, (2) está sustancialmente libre de otras moléculas de la misma especie (3) es expresada por una célula de una especie diferente, o (4) no se encuentra en la naturaleza. Por lo tanto, una molécula que se sintetiza químicamente, o se expresa en un sistema celular diferente de la célula a partir de la cual se origina naturalmente, estará "aislada" de sus componentes asociados de forma natural. Una molécula también puede volverse sustancialmente libre de los componentes asociados de forma natural 35 por aislamiento, utilizando mecanismos de purificación bien conocidos en la técnica. La pureza u homogeneidad de la molécula se puede analizar por medio de una serie de medios bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, la pureza de una muestra de polipéptido se puede analizar utilizando electroforesis en gel de poliacrilamida y tinción del gel para visualizar el polipéptido utilizando mecanismos bien conocidos en la técnica. Para ciertos propósitos, se 40 puede proporcionar una mayor resolución mediante el uso de HPLC u otros medios bien conocidos en la técnica para la purificación.

Los términos "inhibidor de LPET" y "antagonista de LPET" se utilizan indistintamente. Cada uno es una molécula que inhibe de forma detectable la señalización de LPET. La inhibición causada por un inhibidor de LPET no tiene que ser completa siempre que sea detectable utilizando un análisis. Por ejemplo, el análisis basado en células descrito en el 45 Ejemplo 4 a continuación, demuestra un análisis útil para determinar la inhibición de señalización de LPET.

Los términos "péptido" "polipéptido" y "proteína" se refieren a una molécula que comprende dos o más residuos de aminoácidos unidos entre sí por enlaces peptídicos. Estos términos abarcan, p. ej., proteínas nativas y artificiales, fragmentos de proteínas y análogos de polipéptidos (tales como muteínas, variantes y proteínas de fusión) de una secuencia de proteína, así como proteínas modificadas post-traduccionalmente, o de otra manera covalentemente o 50 no covalentemente. Un péptido, polipéptido o proteína puede ser monomérico o polimérico.

El término "fragmento de polipéptido" según se utiliza en la presente memoria se refiere a un polipéptido que tiene una deleción amino-terminal y/o carboxi-terminal en comparación con una proteína completa correspondiente. Los fragmentos pueden tener, por ejemplo, al menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 50, 70, 80, 90, 100, 150 o 200 aminoácidos de longitud. Los fragmentos también pueden tener, por ejemplo, a lo sumo 1000, 750, 500, 250, 55 200, 175, 150, 125, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 15, 14, 13, 12, 11, o 10 aminoácidos de longitud. Un fragmento puede comprender adicionalmente, en uno o ambos de sus extremos, uno o más aminoácidos adicionales, por ejemplo, una secuencia de aminoácidos de una proteína de origen natural diferente (p. ej., un dominio Fc o de cremallera de leucina) o una secuencia de aminoácidos artificial (p. ej., una secuencia conectora artificial).

60 Los polipéptidos de la invención incluyen polipéptidos que han sido modificados en cualquier forma y por cualquier

razón, por ejemplo, para: (1) reducir la susceptibilidad a la proteólisis, (2) reducir la susceptibilidad a la oxidación, (3) alterar la afinidad de unión para formar complejos de proteínas, (4) alterar las afinidades de unión, y (4) conferir o modificar otras propiedades fisicoquímicas o funcionales. Los análogos incluyen muteínas de un polipéptido. Por ejemplo, las sustituciones de uno o varios aminoácidos (p. ej., sustituciones de aminoácidos conservativas) se pueden realizar en la secuencia de origen natural (p. ej., en la porción del polipéptido fuera del dominio o los dominios que forman contactos intermoleculares). Una "sustitución de aminoácidos conservativa" es una que no cambia sustancialmente las características estructurales de la secuencia parental (p. ej., un aminoácido de sustitución no debe tender a romper una hélice que existe en la secuencia original, o alterar otros tipos de estructura secundaria que caracterizan la secuencia parental o que sean necesarios para su funcionalidad). Los ejemplos de estructuras secundarias y terciarias de polipéptidos reconocidas en la técnica se describen en Proteins, Structures and Molecular Principles (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, Nueva York (1984)); Introduction to Protein Structure (C. Branden y J. Tooze, eds., Garland Publishing, Nueva York, N.Y. (1991)); y Thornton et al. Nature 354: 105 (1991).

Una "variante" de un polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos en donde uno o más residuos de aminoácidos se insertan, eliminan, y/o sustituyen en la secuencia de aminoácidos con respecto a otra secuencia de polipéptidos. Las variantes de la invención incluyen proteínas de fusión. Las variantes de anticuerpos descritas en la presente memoria también incluyen las que resultan del procesamiento. Tales variantes incluyen las que tienen uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez o más aminoácidos adicionales en el extremo N-terminal de una cadena ligera o pesada, p. ej., como resultado de la escisión de la secuencia señal ineficaz. Tales variantes incluyen también aquellas que pierden uno o más aminoácidos del extremo N o C de una cadena ligera o pesada.

Un "derivado" de un polipéptido es un polipéptido (p. ej., un anticuerpo) que ha sido modificado químicamente, p. ej., a través de la conjugación a otro radical químico tal como, por ejemplo, polietilenglicol, albúmina (p. ej., albúmina de suero humano), fosforilación, y glicosilación. A menos que se indique lo contrario, el término "anticuerpo" incluye, además de los anticuerpos que comprenden dos cadenas pesadas completas y dos cadenas ligeras completas, derivados, variantes, fragmentos y muteínas de los mismos, cuyos ejemplos se describen a continuación.

Una "proteína de unión a antígeno" de acuerdo con la presente descripción es una proteína capaz de unirse a un antígeno y, opcionalmente, un armazón o una porción marco que permite que la porción de unión al antígeno adopte una conformación que promueva la unión de la proteína de unión a antígeno al antígeno. En una realización una proteína de unión a antígeno de la presente invención comprende al menos una CDR. Los ejemplos de las 30 proteínas de unión a antígeno incluyen anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (p. ej., una porción de unión a antígeno de un anticuerpo), derivados de anticuerpos, y análogos de anticuerpos. La proteína de unión a antígeno puede comprender, por ejemplo, un armazón de proteína alternativo o armazón artificial con CDR o derivados de 35 CDR injertados. Tales armazones incluyen, pero no se limitan a, los armazones derivados de anticuerpos que comprenden mutaciones introducidas, por ejemplo, para estabilizar la estructura tridimensional de la proteína de unión a antígeno, así como armazones totalmente sintéticos que comprenden, por ejemplo, un polímero biocompatible. Véanse, por ejemplo, Korndorfer et al., 2003, Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics, Volumen 53, Artículo 1:121-129; Roque et al., 2004, Biotechnol. Prog. 20: 639-654. Además, se pueden utilizar miméticos de anticuerpos peptídicos ("PAM"), así como armazones basados en miméticos de anticuerpos que utilizan componentes de fibronectina como armazón.

40 Una proteína de unión a antígeno puede tener, por ejemplo, la estructura de una inmunoglobulina de origen natural. Una "inmunoglobulina" es una molécula tetramérica. En una inmunoglobulina de origen natural, cada tetrámero está compuesto de dos pares idénticos de cadenas polipeptídicas, teniendo cada par una cadena "ligera" (aproximadamente 25 kDa) y una cadena "pesada" (aproximadamente 50-70 kDa). La porción amino-terminal de cada cadena incluye una región variable de aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos principalmente responsables del reconocimiento del antígeno. La porción carboxi-terminal de cada cadena define una región constante responsable principalmente de la función efectora. Las cadenas ligeras humanas se clasifican como cadenas ligeras kappa y lambda. Las cadenas pesadas se clasifican como mu, delta, gamma, alfa, o epsilon, y definen el isotipo del anticuerpo como IgM, IgD, IgG, IgA, e IgE, respectivamente. Dentro de las cadenas ligera y pesada, las regiones variable y constante están unidas por una región "J" de aproximadamente 12 o más aminoácidos, con la cadena pesada incluyendo también una región "D" de aproximadamente 10 aminoácidos más. 45 Véase, en general, Fundamental Immunology. Capítulo 7 (Paul, W., ed., 2^a ed. Raven Press, N.Y. (1989)). Las regiones variables de cada par de cadenas ligera/pesada forman el sitio de unión del anticuerpo de manera que una inmunoglobulina intacta tiene dos sitios de unión.

50 Las cadenas de inmunoglobulina de origen natural exhiben la misma estructura general de las regiones marco relativamente conservadas (FR) unidas por tres regiones hipervariables, también llamadas regiones determinantes de la complementariedad o CDR. Desde el extremo N al extremo C, tanto las cadenas ligeras como las pesadas comprenden los dominios FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. La asignación de aminoácidos a cada dominio se realiza de acuerdo con las definiciones de Kabat et al. en Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5^a Ed., US Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, NIH Publication núm. 91-3242, 1991. Los anticuerpos intactos incluyen anticuerpos policlonales, monoclonales, químéricos, humanizados o completamente 55 humanos que tienen cadenas pesadas y ligeras completas.

Un "anticuerpo" se refiere a una inmunoglobulina intacta o a una porción de unión a antígeno de la misma que compite con el anticuerpo intacto por la unión específica, a menos que se especifique lo contrario. Las porciones de unión a antígeno pueden ser producidas por técnicas de ADN recombinante o por escisión enzimática o química de anticuerpos intactos. Las porciones de unión a antígeno incluyen Fab, Fab', F(ab')₂, Fd, Fv, y anticuerpos de dominios (dAbs), y fragmentos de regiones determinantes de la complementariedad (CDR), anticuerpos de cadena sencilla (scFv), diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, y polipéptidos que contienen al menos una porción de una inmunoglobulina que es suficiente para conferir al polipéptido la unión a un antígeno específico.

Un fragmento Fab es un fragmento monovalente que tiene los dominios V_L, V_H, C_L y C_{H1}; un fragmento F(ab')₂ es un fragmento bivalente que tiene dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra; un fragmento Fd tiene los dominios V_H y C_{H1}; un fragmento Fv tiene los dominios V_L y V_H de un solo brazo de un anticuerpo; y un fragmento dAb tiene un dominio V_H, un dominio V_L, o un fragmento de unión a antígeno de un dominio V_H o V_L (Patentes de los Estados Unidos Núms. 6.846.634, 6.696.245, Publicaciones de las Solicitudes de los Estados Unidos Núms. 05/0202512, 04/0202995, 04/0038291, 04/0009507, 03/0039958, Ward et al Nature 341: 544-546, 1989).

Un anticuerpo de cadena sencilla (scFv) es un anticuerpo en el que una región V_L y una región V_H están unidas por medio de un conector (p. ej., una secuencia sintética de residuos de aminoácidos) para formar una cadena de proteína continua en donde el conector es lo suficientemente largo como para permitir que la cadena de proteína se pliegue sobre sí misma y forme un sitio de unión a antígeno monovalente (véanse, p. ej., Bird et al., 1988, Science 242: 423-26 y Huston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 85: 5879-83). Los diacuerpos son anticuerpos bivalentes que comprenden dos cadenas polipeptídicas, en donde cada cadena polipeptídica comprende dominios V_H y V_L unidos por un conector que es demasiado corto como para permitir el emparejamiento entre los dos dominios de la misma cadena, permitiendo así que cada dominio se empareje con un dominio complementario en la otra cadena polipeptídica (véase, p. ej., Holliger et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-48, y Poljak et al., 1994, Structure 2: 1121-1123). Si las dos cadenas polipeptídicas de un diacuerpo son idénticas, en ese caso, un diacuerpo resultante de su emparejamiento tendrá dos sitios de unión a antígeno idénticos. Las cadenas polipeptídicas que tienen diferentes secuencias se pueden utilizar para elaborar un diacuerpo con dos sitios de unión a antígeno diferentes. Del mismo modo, los triacuerpos y los tetracuerpos son anticuerpos que comprenden tres y cuatro cadenas de polipéptidos, respectivamente, y que forman tres y cuatro sitios de unión a antígeno, respectivamente, que pueden ser iguales o diferentes.

Las regiones determinantes de complementariedad (CDR) y las regiones marco (FR) de un anticuerpo dado se pueden identificar usando el sistema descrito por Kabat et al. en Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5^a Ed., US Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, NIH Publication núm. 91-3242, 1991. Se pueden incorporar una o más CDR a una molécula ya sea covalentemente o no covalentemente para que sea una proteína de unión a antígeno. Una proteína de unión a antígeno puede incorporar una o varias CDR como parte de una cadena polipeptídica más grande, puede unir covalentemente una o varias CDR a otra cadena polipeptídica, o puede incorporar una o varias CDR de forma no covalente. Las CDR permiten que la proteína de unión a antígeno se una específicamente a un antígeno concreto de interés.

Una proteína de unión a antígeno puede tener uno o más sitios de unión. Si hay más de un sitio de unión, los sitios de unión pueden ser idénticos entre sí o pueden ser diferentes. Por ejemplo, una inmunoglobulina humana de origen natural típicamente tiene dos sitios de unión idénticos, mientras que un anticuerpo "biespecífico" o "bifuncional" tiene dos sitios de unión diferentes.

El término "anticuerpo humano" incluye todos los anticuerpos que tienen una o más regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina humana. En una realización, todos los dominios variables y constantes derivan de secuencias de inmunoglobulina humana (un anticuerpo completamente humano). Estos anticuerpos se pueden preparar en una variedad de formas, cuyos ejemplos se describen a continuación, incluyendo a través de la inmunización con un antígeno de interés de un ratón que se modifica genéticamente para expresar los anticuerpos derivados de genes que codifican la cadena pesada y/o ligera humana.

Un anticuerpo humanizado tiene una secuencia que difiere de la secuencia de un anticuerpo derivado de una especie no humana por una o más sustituciones, delecciones, y/o adiciones de aminoácidos, de modo que es menos probable que el anticuerpo humanizado induzca una respuesta inmunitaria, y/o induce una respuesta inmunitaria menos severa, en comparación con el anticuerpo de una especie no humana, cuando se administra a un sujeto humano. En una realización, ciertos aminoácidos del marco y los dominios constantes de las cadenas pesada y/o ligera del anticuerpo de especie no humana se mutan para producir el anticuerpo humanizado. En otra realización, el dominio o los dominios constantes de un anticuerpo humano se fusionan con el dominio o los dominios variables de una especie no humana. En otra realización, uno o más residuos aminoácidos de una o más secuencias de CDR de un anticuerpo no humano se cambian para reducir la probabilidad de inmunogenicidad del anticuerpo no humano cuando se administra a un sujeto humano, en donde los residuos de aminoácido cambiados o bien no son críticos para la unión inmunoespecífica del anticuerpo a su antígeno, o bien los cambios en la secuencia de aminoácidos que se realizan son cambios conservativos, de manera que la unión del anticuerpo humanizado al antígeno no es significativamente peor que la unión del anticuerpo no humano al antígeno. Los ejemplos de cómo elaborar anticuerpos humanizados se pueden encontrar en las Patentes de los Estados Unidos Núms. 6.054.297, 5.886.152 y

5.877.293.

El término "anticuerpo químérico" se refiere a un anticuerpo que contiene una o más regiones de un anticuerpo y una o más regiones de uno o más anticuerpos distintos. En una realización, una o más de las CDR derivan de un anticuerpo anti-LPET humana. En otra realización, todas las CDR derivan de un anticuerpo anti-LPET humana. En otra realización, las CDR de más de un anticuerpos anti-LPET humana se mezclan y se emparejan en un anticuerpo químérico. Por ejemplo, un anticuerpo químérico puede comprender una CDR1 de la cadena ligera de un primer anticuerpo anti-LPET humana, una CDR2 y una CDR3 de la cadena ligera de un segundo anticuerpo anti-LPET humana y las CDR de la cadena pesada de una tercer anticuerpo anti-LPET. Adicionalmente, las regiones marco pueden derivar de uno de los mismos anticuerpos anti-LPET, de uno o más anticuerpos diferentes, tales como un anticuerpo humano, o de un anticuerpo humanizado. En un ejemplo de un anticuerpo químérico, una porción de la cadena pesada y/o ligera es idéntica, homóloga a, o derivada de un anticuerpo de una especie particular o perteneciente a una clase o subclase de un anticuerpo particular, mientras que el resto de las cadenas son idénticas a, homólogas a, o derivadas de uno o varios anticuerpos de otra especie o pertenecientes a otra clase o subclase de anticuerpo. También se incluyen fragmentos de tales anticuerpos que exhiben la actividad biológica deseada (es decir, la capacidad de unirse específicamente al receptor de LPET humana).

Los fragmentos o análogos de anticuerpos pueden ser fácilmente preparados por los expertos normales en la técnica siguiendo las enseñanzas de esta memoria descriptiva y utilizando mecanismos bien conocidos en la técnica. Los extremos amino- y carboxi preferidos de los fragmentos o análogos se encuentran cerca de los límites de los dominios funcionales. Los dominios estructurales y funcionales pueden identificarse por comparación de los datos de las secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos con bases de datos de secuencias públicas o privadas. Se pueden utilizar métodos de comparación computarizados para identificar motivos de secuencia o dominios de conformación de proteína pronosticados que existen en otras proteínas de estructura y/o función conocidas. Los métodos de identificación de secuencias de proteínas que se pliegan en una estructura tridimensional conocida son conocidos. Véase, por ejemplo, Bowie et al., 1991, Science 253: 164.

25 A "anticuerpo injertado con CDR" es un anticuerpo que comprende una o más CDR derivadas de un anticuerpo de una especie o isotipo en particular y el marco de otro anticuerpo de la misma o diferente especie o isotipo.

Un "anticuerpo multi-específico" es un anticuerpo que reconoce más de un epítopo en uno o más antígenos. Una subclase de este tipo de anticuerpo es un "anticuerpo biespecífico", que reconoce dos epítopos distintos en el mismo o diferentes antígenos.

30 Una proteína de unión a antígeno, incluyendo un anticuerpo, "se une específicamente" a un antígeno, tal como LPET si se une al antígeno con una elevada afinidad de unión tal como se determina por un valor de Kd (o el correspondiente Kb, como se define a continuación) de 10^{-7} M o menos.

35 Un "dominio de unión a antígeno", una "región de unión a antígeno" o un "sitio de unión a antígeno" es una porción de una proteína de unión a antígeno que contiene residuos de aminoácido (u otros radicales) que interaccionan con un antígeno y contribuyen a la especificidad de la proteína de unión a antígeno y a la afinidad por el antígeno. Para un anticuerpo que se une específicamente a su antígeno, esto incluirá al menos una parte de al menos uno de sus dominios CDR.

40 El "porcentaje de identidad" de dos secuencias de polinucleótidos o polipéptidos se determina comparando las secuencias utilizando el programa informático GAP (una parte del GCG Wisconsin Package, versión 10.3 (Accelrys, San Diego, CA)) utilizando sus parámetros por defecto.

45 Los términos "polinucleótido", "oligonucleótido" y "ácido nucleico" se utilizan indistintamente e incluyen moléculas de ADN (p. ej., ADNc o ADN genómico), moléculas de ARN (p. ej., ARNm), análogos de ADN o ARN generados utilizando análogos de nucleótidos (p. ej., ácidos péptidonucleicos y análogos de nucleótidos de origen no natural), y sus híbridos. La molécula de ácido nucleico puede ser de hebra sencilla o de doble hebra. En una realización, las moléculas de ácido nucleico de la invención comprenden un marco de lectura abierto contiguo que codifica un anticuerpo, o un fragmento, derivado, muteína, o variante del mismo, de la invención.

50 Dos polinucleótidos de hebra sencilla son "complementos" entre sí si sus secuencias se pueden alinear en una orientación antiparalela de tal manera que todos los nucleótidos de un polinucleótido se enfrentan a sus nucleótidos complementarios en el otro polinucleótido, sin la introducción de huecos, y sin nucleótidos no apareados en el extremo 5' o el extremo 3' de cualquier secuencia. Un polinucleótido es "complementario" a otro polinucleótido, si los dos polinucleótidos pueden hibridar entre sí en condiciones moderadamente rigurosas. Por lo tanto, un polinucleótido puede ser complementario a otro polinucleótido sin ser su complemento.

55 Un "vector" es un ácido nucleico que se puede utilizar para introducir otro ácido nucleico conectado a él en una célula. Un tipo de vector es un "plásmido", que se refiere a una molécula de ADN de doble hebra lineal o circular en el que se pueden ligar segmentos de ácido nucleico adicionales. Otro tipo de vector es un vector viral (p. ej., retrovirus de replicación defectuosa, adenovirus y virus adeno-asociados), en donde se pueden introducir segmentos de ADN adicionales en el genoma viral. Ciertos vectores son susceptibles de replicación autónoma en una célula anfitriona en la que se introducen (p. ej., vectores bacterianos que comprenden un origen de replicación bacteriano y

vectores episomales de mamíferos). Otros vectores (p. ej., vectores no episomales de mamíferos) se integran en el genoma de una célula anfitriona tras la introducción en la célula anfitriona, y de ese modo replican junto con el genoma del anfitrión. Un "vector de expresión" es un tipo de vector que puede dirigir la expresión de un polinucleótido seleccionado.

- 5 Una secuencia de nucleótidos está "unida operablemente" a una secuencia reguladora si la secuencia reguladora afecta a la expresión (p. ej., el nivel, el tiempo, o la ubicación de la expresión) de la secuencia de nucleótidos. Una "secuencia reguladora" es un ácido nucleico que afecta a la expresión (p. ej., el nivel, el tiempo, o la ubicación de la expresión) de un ácido nucleico al que está unida operablemente. La secuencia reguladora puede, por ejemplo, ejercer sus efectos directamente sobre el ácido nucleico regulado, o a través de la acción de una o más de otras moléculas (p. ej., polipéptidos que se unen a la secuencia reguladora y/o al ácido nucleico). Los ejemplos de las secuencias reguladoras incluyen promotores, potenciadores y otros elementos de control de la expresión (p. ej., señales de poliadenilación). Otros ejemplos de secuencias reguladoras son descritos, por ejemplo, por Goeddel, 1990, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA y Baron et al., 1995, Nucleic Acids Res. 23: 3605-06.
- 10 15 Una "célula anfitriona" es una célula que se puede utilizar para expresar un ácido nucleico, p. ej., un ácido nucleico de la invención. Una célula anfitriona puede ser un procariota, por ejemplo, *E. coli*, o puede ser un eucariota, por ejemplo, un eucariota unicelular (p. ej., una levadura u otro hongo), una célula vegetal (p. ej., una célula vegetal de tabaco o tomate), una célula animal (p. ej., una célula humana, una célula de mono, una célula de hámster, una célula de rata, una célula de ratón, o una célula de insecto) o un hibridoma. Las células anfitrionas ilustrativas incluyen líneas celulares de ovario de hámster chino (CHO) o sus derivados incluyendo la cepa CHO DXB-11, que tiene deficiencia de DHFR (véase Urlaub et al., 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216-20), líneas de células CHO que crecen en medio libre de suero (véase Rasmussen et al., 1998, Cytotechnology 28:31), células CS-9, un derivado de células CHO DXB-11, y células AM-1/D (descrito en la Patente de los Estados Unidos Núm. 6.210.924). Otras líneas de células CHO incluyen CHO-K1 (ATCC núm. CCL-61), EM9 (ATCC núm. CRL-1861), y UV20 (ATCC núm. CRL-1862). Los ejemplos de otras células anfitrionas incluyen la línea COS-7 de células de riñón de mono (ATCC CRL 1651) (véase Gluzman et al., 1981, Cell 23: 175), células L, células C127, células 3T3 (ATCC CCL 163), células HeLa, líneas celulares BHK (ATCC CRL 10), la línea celular CV1/EBNA derivada de la línea celular de riñón de mono verde africano CV1 (ATCC CCL 70) (véase McMahan et al., 1991, EMBO J. 10: 2821), células de riñón de embriones humanos tales como 293, 293 EBNA o MSR 293, células A431 epidérmicas humanas, células Colo205 humanas, otras líneas celulares de primate transformadas, células diploides normales, cepas celulares derivadas de cultivo in vitro de tejido primario, explantes primarios, células HL -60, U937, HaK o Jurkat. Típicamente, una célula anfitriona es una célula cultivada que puede ser transformada o transfectada con un ácido nucleico que codifica el polipéptido, que puede ser expresado a continuación en la célula anfitriona. La frase "célula anfitriona recombinante" se puede utilizar para referirse a una célula anfitriona que ha sido transformada o transfectada con un ácido nucleico que se va a expresar. Una célula anfitriona también puede ser una célula que comprende el ácido nucleico, pero no lo expresa a un nivel deseado a menos que se introduzca una secuencia reguladora en la célula anfitriona de tal manera que se una operablemente con el ácido nucleico. Se entiende que el término célula anfitriona se refiere no sólo a la célula sujeto particular sino a la progenie o progenie potencial de dicha célula. Debido a que pueden producirse ciertas modificaciones en generaciones sucesivas debido, por ejemplo, a mutación o influencias ambientales, tal progenie puede no ser, de hecho, idéntica a la célula parental, pero aún está incluida dentro del alcance del término según se utiliza en la presente memoria.

Proteínas de unión a antígeno

- En un aspecto, la presente descripción proporciona anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, derivados de anticuerpos, mutáfnas de anticuerpos, y variantes de anticuerpos que se unen a LPET humana. Las proteínas de unión a antígeno de acuerdo con la presente descripción incluyen proteínas de unión a antígeno que se unen a LPET humana, y de ese modo reducen la actividad de LPET. Por ejemplo, las proteínas de unión a antígenos pueden interferir en la unión de LPET a su receptor, y por lo tanto reducir la actividad de LPET.

- 45 50 [0065] Se describe una proteína de unión a antígeno que comprende una o más secuencias de CDR que difieren de una secuencia de CDR mostrada en la FIG. 1A-1F o en la FIG. 2A-2F en no más de 5, 4, 3, 2, 1, ó 0 residuos de aminoácido.

- Al menos una secuencia de CDR3 de la proteína de unión a antígeno es una secuencia de la FIG. 1A-1F o la FIG. 2A-2F. La secuencia de CDR3 de la cadena ligera de la proteína de unión a antígeno es una secuencia de cadena ligera de A1 a A27, y la secuencia de la cadena pesada de la proteína de unión al antígeno es una secuencia de CDR3 de la cadena pesada de A1 a A27.

- 55 60 La proteína de unión a antígeno comprende adicionalmente 1, 2, 3, 4, ó 5 secuencias de CDR que difieren cada una de forma independiente en 5, 4, 3, 2, 1, ó 0 adiciones, sustituciones, y/o delecciones de aminoácidos individuales de una secuencia de CDR de A1-A27. Las CDR de cadena ligera de las proteínas de unión a antígeno ilustrativas A1-A27 y las CDR de la cadena pesada de las proteínas de unión a antígeno ilustrativas A1-A27 se muestran en la FIG... 1A-1F y en la FIG. 2A-2F, respectivamente. También se muestran las secuencias de polinucleótidos que codifican las secuencias de aminoácidos de las CDR. Además, las secuencias consenso de las secuencias de CDR

se proporcionan a continuación.

SECUENCIAS CONSENSO DE CDR

CDR DE CADENA LIGERA VARIABLE																
<u>Grupo 1a</u>																
Consenso CDR1 LC																
A16.1	R	S	S	Q	S	L	V	Y	S	D	G	N	T	Y	L	N
A18.1							V					N				
A13.1							V									D
A19.1							V									D
A20.1							V									D
A14.1							V									N
A15.1							I									N

R S S Q LX₁YSDGX₂TYLN (SEQ ID NO: 246)

X₁ es un residuo de V (valina) o un residuo de I (isoleucina),

- 5 X₂ es un residuo de N (asparagina) o un residuo de D (ácido aspártico);

Consenso CDR2 LC

					X ₃			
A16.1	K	V	S	Y	W	D	S	
A18.1				Y				
A13.1				N				
A19.1				N				
A20.1				N				
A14.1				N				
A15.1				N				

KVSX₃WDS (SEQ ID NO: 247)

X₃ es un residuo de Y (tirosina) o un residuo de N (asparagina);

Consenso CDR3 de LC

A16.1	M	Q	G	T	H	W	P	P	A
A18.1									
A13.1									
A19.1									
A20.1									
A14.1									
A15.1									

10 MQGTHQPPA (SEQ ID NO: 248)

Grupo 1b

ES 2 581 229 T3

Consenso CDR1 LC

					X ₄	X ₅						
A13.2	R	A	S	Q	G	L	S	S	W	L	A	
A14.2					G	L						
A19.2					G	L						
A20.2					G	L						
A16.2					S	L						
A18.2					S	L						
A15.2					G	I						

RASQX₄X₅SSWLA (SEQ ID NO: 249)

X₄ es residuo de G (glicina) o un residuo de S (serina);

X₅ es un residuo de L (leucina) o un residuo de I (isoleucina);

5 Consenso CDR2 LC

	X ₆	X ₇							
A13.2	N	T	S	S	L	Q	S		
A14.2	N	T							
A19.2	N	T							
A20.2	N	T							
A16.2	N	A							
A18.2	N	A							
A15.2	T	T							

X₆X₇SSLQS (SEQ ID NO: 250)

X₆ es un residuo de N (asparagina) o un residuo de T (treonina);

X₇ es un residuo de T (treonina) o un residuo de A (alanina);

Consenso CDR3 LC

					X ₈						
A13.2	Q	Q	A	N	S	F	P	L	T		
A14.2				N							
A19.2				N							
A20.2				N							
A16.2				N							
A18.2				N							
A15.2				D							

10 QQAX₈SFPLT (SEQ ID NO: 251)

X₈ es un residuo de N (asparagina) residuo de D (ácido aspártico);

Grupo 2

Consenso CDR1 LC

A6	S	G	D	K	L	G	D	K	Y	A	C
A8											

SGDKLGDKYAC (SEQ ID NO: 15)

ES 2 581 229 T3

Consenso CDR2 LC

			X					
A6	Q	D	K	K	R	P	S	
A8			N					

QDX₉KRPS (SEQ ID NO: 252)

X₉ es un residuo de K (lisina) o un residuo de N (asparagina);

Consenso CDR3 LC

A6	Q	A	W	D	S	S	T	V	V
A8									

5 QAWDSSTVV (SEQ ID NO: 107)

Grupo 3

Consenso CDR1 LC

A3	T	G	S	S	S	N	I	G	A	G	F	D	V	H
A4														

TGSSSNIGAGFDVH (SEQ ID NO: 10)

Consenso CDR2 LC

A3	D	N	N	N	R	P	S
A4							

10 DNNNRPS (SEQ ID NO: 57)

LC consenso CDR3

A3	Q	S	Y	D	S	N	L	S	G	S	I	V	V
A4													

QSYDSNLSGSIVV (SEQ ID NO: 102)

CDR DE CADENA PESADA VARIABLE

Grupo 1

Consenso CDR1 HC

	X ₁₀						
A13	S	Y		G	M	H	
A14	S						
A19	S						
A20	S						
A16	N						
A18	N						
A15	N						

15 X₁₀YGMH (SEQ ID NO: 253)

X₁₀ es un residuo de S (serina) o un residuo de N (asparagina);

Consenso CDR2 HC

				X ₁₁													
A13	V	I	W	Y	D	G	S	N	K	Y	Y	A	D	S	V	K	G
A14				Y													
A19				Y													
A20				Y													
A16				Y													
A18				Y													
A15				F													

VIWX₁₁DGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO: 254)

X₁₁ es un residuo de Y (tirosina) o un residuo de F (fenilalanina).

Consenso CDR3 HC

				X ₁₂						X ₁₃							
A13	G	G	G	I	P	V	A	D	Y	Y	Y	Y	G	M	D	V	
A14					P						Y						
A19					P						Y						
A20					P						Y						
A16					A						Y						
A18					A						Y						
A15					A						F						

5 GGGIX₁₂VADYYX₁₃YGMDV (SEQ ID NO: 255)

X₁₂ es un residuo de P (prolina) o un residuo de A (alanina);

X₁₃ es un residuo de Y (tirosina) o un residuo de F (fenilalanina).

Grupo 2

Consenso CDR1 HC

A6	S	Y	G	I	H
A8					

10 SYGIH (SEQ ID NO: 147)

Consenso CDR2 HC

					X ₁₄												
A6	V	I	S	Y	D	G	S	Y	K	Y	Y	A	D	S	V	K	G
A8								N									

VISYDGGSX₁₄KYYADSVKG (SEQ ID NO: 256)

X₁₄ es un residuo de Y (tirosina) o un residuo de N (asparagina).

Consenso CDR3 HC

A6	G	D	S	W	N	D	R	L	N	Y	Y	F	Y	D	M	D	V
A8																	

15 GDSWNDRLNYYFYDMDV (SEQ ID NO: 214)

Grupo 3

Consenso CDR1 HC

	X ₁₅	X ₁₆			X ₁₇
A3	D	Y	Y	M	Y
A4	G	D			H

X₁₅X₁₆YMX₁₇ (SEQ ID NO: 257)X₁₅ es un residuo de D (ácido aspártico) o un residuo de G (glicina);

- 5 X
- ₁₆
- es un residuo de Y (tirosina) o un residuo de D (ácido aspártico);

X₁₇ es un residuo de Y (tirosina) o un residuo de H (histidina).

Consenso CDR2 HC

									X ₁₈	X ₁₉	X ₂₀						
A3	W	I	N	P	N	S	G	G	T	N	Y	V	Q	K	F	Q	G
A4										H	A	R					

WINPNSGGTNX₁₈X₁₉X₂₀KFQG (SEQ ID NO: 258)X₁₈ es un residuo de Y (tirosina) o un residuo de H (histidina);

- 10 X
- ₁₉
- es un residuo de V (valina) o un residuo de A (alanina);

X₂₀ es un residuo de Q (glutamina) o un residuo de R (arginina).

Consenso CDR3 HC

		X ₂₁		X ₂₂								X ₂₃	
A3	D	G	G	S	S	G	W	P	L	F	A	Y	
A4		R		T							D		

(SEQ ID NO: 259)

X₂₁ es un residuo de G (glicina) o un residuo de G (arginina);

- 15 X
- ₂₂
- es un residuo de S (serina) o un residuo de T (treonina);

X₂₃ es un residuo de A (alanina) o un residuo de D (ácido aspártico).

La Tabla 2 siguiente proporciona las secuencias de ácido nucleico (ADN) que codifican los dominios pesados variables (H númer.) y los dominios ligeros variables (L númer.), y las secuencias de aminoácidos de los dominios pesados variables y ligeros variables para las proteínas de unión a antígeno LPET ilustrativas A1-A27, respectivamente. Las CDR 1, 2 y 3 para cada dominio variable son sucesivas desde el principio hasta el final de cada secuencia. Las regiones marco (FR) están subrayadas. Los marcos 1, 2, 3 y 4 para cada dominio variable son sucesivos desde el principio hasta el final de cada secuencia (p. ej., la primera porción subrayada de la secuencia es Fr1, la segunda es Fr2, la tercero es Fr3 y la última es Fr4 en cada secuencia).

TABLA 2

ADN H1	<p><u>CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT</u> <u>CTCCTGTGCAGCGCTGGATTACCTTCAGTAACATGGCATGCAC</u>TGGTCCGCCAGGC <u>TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAAACT</u> <u>ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG</u> <u>TATCTGAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTATATTACTGTGCGAGTCT</u> <u>AGTGGGAGCTACCAACTACTACGGTATGGACGTCTGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG</u> <u>TCTCCTCA</u> (SEQ ID NO: 260)</p>
Proteína H1	<p><u>QVQLVESGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKY</u> <u>YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASLVGATNYYGMDVWGQGTVTV</u> <u>SS</u> (SEQ ID NO: 261)</p>
ADN L1	<p><u>TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCCTGCTGTCTGGCCTTGGGACAGACAGTCAGGATC</u> <u>ACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAACGCTATTATGCAAGCTGGTACCAAGCAGAACGCCAGG</u> <u>ACAGGCCCTGTACTTGTCATCTCTGGTAAAACACTACCGGCCCTCAGGGATCCAGACCG</u> <u>ATTCTCTGGCTCCAGCTCAGGAAACACAGCTTCCITGACCATCACTGGGCTCAGGCCGA</u> <u>AGATGAGGCTGACTACTACTGTAACTCCCAGGACAGAACAGTGGTAACCATCTGGTGTITC</u> <u>GGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA</u> (SEQ ID NO: 262)</p>
Proteína L1	<p><u>SSELTDPAVSVALGQTVRTCQGDLSRSYYASWYQQKPGQAPVLVISGKNYRPSGIPDRFSG</u> <u>SSSGNTASLTITGAQAEDADYYCNSRDRSGNHLVFGGGTKLTVL</u> (SEQ ID NO: 263)</p>
ADN H2	<p><u>GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGTCGTGGTACAGCCTGGGGGTCCCTGAGACT</u> <u>CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTGTATTTACCATGCAC</u>TGGTCCCGTCAAGCT <u>CCGGGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCTCTTATTAGTTGGGATGGTGGTAGCACACATAT</u> <u>GCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCAGAGACAACAGCAAAAAACTCCCTGTA</u> <u>TATGAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACAGCGCCTGTATTACTGTGCAAGAGGTC</u> <u>CTTACTACTACTCTACGGTATGGACGTCTGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCT</u> <u>CA</u> (SEQ ID NO: 264)</p>
Proteína H2	<p><u>EVQLVESGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFDDFTMHWVRQAPGKGLEWVSLISWDGGSTYY</u> <u>ADSVKGRFTISRDNSKNSLYMQMNSLRTEDSALYYCARGPYYFYGMDVWGQGTVTVSS</u> (SEQ ID NO: 265)</p>
ADN L2	

TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCCTGCTGTCTGGCCTTGGGACAGACAGTCAGGATC
ACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAACCTATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAACGCCAGG
ACAGGCCCTATACTTGTCATCTGATAAAAACAACCGGCCCTCAGGGATCCCAGACCG

ATTCTCTGGCTCCAGCTCAGGAAACACAGCTTCTTGACCATCACTGGGCTCAGGCCGA
AGATGAGGCTGACTATTACTGTAACCTCCGGACAGCAGTGATAACCATCTAGTGGTATT
TCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTA
(SEQ ID NO: 266)

Proteína L2

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSLRTYYASWYQQKPGQAPILVISDKNNRPSGIPDRFSG
SSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSDNHLVVFGGTLTVL
(SEQ ID NO: 267)

ADN H3

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGCTGAGGTGAAGAACGCTGGGCCTCAGTGAAGGT
CTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTCACCGACTACTATATGACTGGGTGCGACAGGC
CCCTGGACAAGGGCCTGAGTGGATGGATGGATCAACCTAACAGTGGTGGCACAAACT
ATGTACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGACCAGGGACACGTCCATCAGCACAGCC
TACATGGAGCTGAGCAGGATGAGATCCGACGACACGGCCGTGATTACTGTGCGAGAGA
TGGGGTAGCAGTGGCTGGCCCTCTTGCCTACTGGGCCTGGAACCCCTGGTCACCGT
CTCCTCA(SEQ ID NO: 268)

Proteína H3

QVQLVOSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDYYMYWVRQAPGQGPEWMGWNPNSGGTN
YVQKFQGRVTMTRDTISIAYMELSRMRSDTAVYYCARDGGSSGWPLFAYWGLTLTV
SS(SEQ ID NO: 269)

ADN L3

CAGTCTGTGCTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGCCCCAGGGCAGAGGGTCACCAT
CTCCTGCACTGGGAGCAGCTAACATGGGGCAGGTTTGATGTACACTGGTACCA
GCTCCAGGAACAGCCCCAAACTCCTCATCTATGATAACAAACATGGCCCTCAGGGT
CCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCACTGGGCT
CCAGGCTGAGGAATGAGGCTGATTACTGCCAGTCCTATGACAGCAACCTGAGTGGTTC
GATTGTGGTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTA(SEQ ID NO: 270)

Proteína L3

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGFDVHWYQQLPGTAPKLLIYDNNNRPSGV
PDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDADEADYYCQSYDSNLGSIVVFGGTLTVL(SEQ ID NO: 271)

ADN H4

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGCCTCAGTGAAGGT
CTCCTGCAAGGCTTCTGGATACATCTCACCGCGACTATATGCACTGGGTGCGACAGGC
CCCTGGACAAGGCTGGAGTGGATGGATGGAATCACCCCTAACAGTGGTGGCACAAACC
ATGCACGGAAGTTTCAGGGCAGGGTACCATGACCAGGGACACGTCCATCAGCACAGCC
TACATGGAGCTGAGCAGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTATTACTGTGTGAGAGA
TAGGGTACCACTGGCTGCCACTCTTGACTATTGGGCCAGGAACACTGGTCACCGT
CTCCTCA (SEQ ID NO: 272)

Proteína H4

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFTGDYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGTN
HARKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCVRDRGTSWPLFDYWQQTLVTY
SS (SEQ ID NO: 273)

ADN L4

CAGTCTGTGCTGACGCCGCCCTCAGTGTCTGGGCCAGGGCAGAGGGTACCAT
CTCCTGCACTGGAGCAGCTCAAACATCGGGCAGGTTTGATGTGCACTGGTACCAAGCT
GCTTCAGGAACAGCCCCAAACTCCTCATCTTGATAACAACAATGCCCTCAGGGT
CCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCACTGGCT
CCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGCCAGTCCTATGACAGCACCTGAGTGGTTC
GATTGTGGTATTTCGGCGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA (SEQ ID NO: 274)

Proteína L4

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSNIGAFDVHWYQLLPGTAPKLLIFDNNNRPSGV
PDR FSGSKSGTSASLAITGLQAEDeadYYCQSVDNLGSIVVFGGTLTVL (SEQ ID NO: 275)

ADN H5

CAGATGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACTTCAAGAACCTATGGCATGCACTGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGACTGGAGTGGTGGCAGTTATGGTATGATGAAAGTAATAACACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGCCGATTCAACATCACCAGAGACAATTCCAAGAACACTCTG
AATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGGCCGAGGACACGGCTGTATTACTGTGCGAGAGC
CCCTCAGTGGAGCTAGTTATGAAAGCTTTGATATCTGGGCCAAGGGACAATGGTCAC
CGTCTCTCA (SEQ ID NO: 360)

Proteína H5

QMQLVESGGVVQPGRLSRLSCAASGFTFRTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKH
YADSVKGRFTIRDNSKNTLNLOMNSLRAEDTAVYYCARAPQWELVHEAFDIWGQGTMVT
VSS (SEQ ID NO: 361)

ADN L5

TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGGACAGACGCCAGGATT
ACCTGTGGGGAAACAACCTTGGAAAGTAAAAGTGTGCACTGGTACCAAGCAGAACGCCAGG
CCAGGCCCTGTGCTGGTCTATGATGATAGCGACCGCCCTCATGGATCCCTGAGCG
ATTCTCTGGCTCCAACCTGGAAACACGGCCACCCCTGACCATCAGCAGGGCGAAGCCG
GGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGTGTGGATAGTAGTAGTGTATGATGTGGTATTTC
GGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA (SEQ ID NO: 362)

Proteína L5

SYVLTOPPSVSVA PGQTARITCGNNLGSKSVH WYQQKPGQAPV LVVYDDSDRPSWIPERFS
GSNSGNTATLTISRGEAGDEADYYCQVWDSSDHVVFGGGTKLTVL
(SEQ ID NO: 363)

ADN H6

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGC GTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAATTTCAGTAGCTATGGCATTCACTGGGTCCGCCAGGCT
CCAGGCAAGGGCTGGAGTGGTGGCAGTTATATCATATGATGGAAGTTATAAATAC
TGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCAACC ATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGT
ATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTATTACTGTGCGAGAGGG
GACTCCTGGAACGACAGATTAAACTACTACTTACGATATGGACGTCTGGGGCCAAGG
GACCACGGTCACCGTCTCCTCA
(SEQ ID NO: 276)

Proteína H6

QVOLVESGGVVQPGRLRLSCAASGFIFSSYGIHWVRQAPKGLEWVAVISYDGSYKYYA
DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGDSWNDRLNYYFYDMDVWGQGT
TVTVSS (SEQ ID NO: 277)

ADN L6

TCCTATGAGCTGACTCAGGCACCCCTCAGTGTCCGTGTCCCCAGGACAGACAGCCAGC
ATC ACCTGCTCTGGAGATAAAATTGGGGATAAAATATGCTTGCTGGTATCAGCAGAACGCCAGG
CCAGTCCCCTGTGCTGGTCATCTATCAAGATAAGAAGCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCG
ATTCTCTGGCTCCA ACTCTGGAACACAGCCACTCTGACC ATCAGCGGGACCAGGCTAT
GGATGAGGCTGACTATTACTGTCAGGCGTGGACAGCAGCACTGTGGTATTTCGGCGGA
GGGACCAAGCTGACCGTCCTA
(SEQ ID NO: 278)

Proteína L6

SYELTOAPS SVSPGQTASITCSGD KLDKYACWYQQKPGQSPV LVIYQDKKRPSGIPERFSG
SNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQA WDSSTVVFGGGTKLTVL
(SEQ ID NO: 279)

ADN H7

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTCACAGACCC
GTCCCTCACCTGTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCG
CCAGCACCCAGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGTTCATCCATTACAGTGGGACCACCT
ACTACAACCGTCCCTCAAGAGTCGACTTACCCATCAGTAGACACGTCAAGAGCCAGT
TCTCCCTGAAGCTGAAC TCTGTGACTGCCGCGACACGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG
AAGTTGGCAGCTCGTGGGTAACTGGTTGACCCCTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACC
GTCTCCCTCA (SEQ ID NO: 280)

Proteína H7

QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWWSWIRQHPGKGLEWIGFIHYSGTTYYNP
SLKSRLTLSVDTSKS QFSLKLN SVAADTA VYYCAREVGSSGNWFDPWGQGT
LTVSS (SEQ ID NO: 281)

ADN L7

TCCTATGAGCTGACTCAGCCACCCCTCAGTGTCCGTGTCCCCCAGGACAGACAGCCAGCATC
ACCTGCTCTGGAGATAAAATTGGGGATAAATATGCTTGTGGTATCAGCAGAAGCCAGG
CCAGTCCCCTGTGGTGGTCACTATCAAGATAACAAGCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCG
ATTCTCTGGCTCCAACACTCTGGAACACAGCCACTTGACCATCAGCGGGACCCAGGCTAT
GGATGAGGCTGACTATTACTGTCAAGCGTGGGACAGCACCACTGCGATATTTCGGCGGA
GGGACCAAGCTGACCGTCCTA
(SEQ ID NO: 282)

Proteína L7

SYELTOPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQQKPGQSPVVVIYQDNKRPSGIPERFSG
SNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSTTAIFGGGTKLTVL
(SEQ ID NO: 283)

ADN H8

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTCAGTAGCTATGGCATTCACTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGCCAGTTATATCATATGATGGAAGTAATAAATACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGG
GGACTCCTGGAACGACAGATTAAACTACTTACGATATGGACGTCTGGGGCCAAG
GGACACCGTCACCGTCTCCTCA
(SEQ ID NO: 284)

Proteína H8

QVQLVESGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGIHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYA
DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDSWNDRLNYYFYDMDVWGQGT
TVTVSS (SEQ ID NO: 285)

ADN L8

TCCTATGAGCTGACTCAGCCACCCCTCAGTGTCCGTGTCCCCCAGGACAGACAGCCAGCATC
ACCTGCTCTGGAGATAAAATTGGGGATAAATATGCTTGTGGTATCAGCAGAAGCCAGG
CCAGTCCCCTGTACTGGTCACTATCAAGATAACAAGCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCG
ATTCTCTGGCTCCAACACTCTGGAACACAGCCACTTGACCATCAGCGGGACCCAGGCTAT
GGATGAGGCTGACTATTACTGTCAAGCGTGGGACAGCACGACTGTGGTATTTCGGCGGA
GGGACCAAGCTGACCGTCCTA
(SEQ ID NO: 286)

Proteína L8

SYELTOPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQQKPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSG
SNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTVVFGGGTKLTVL
(SEQ ID NO: 287)

ADN H9

CAGGTGCAGTTGGTGGAGTCTGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCGTCTGGATATACCTCAATAGCTATGGCATGCACTGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGCTGGAGTGGTGCAGTTATGGTATGATGGAAGTAATACTACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCATTACCATCTCCAGAGACATTCCAAGAACACTCTGT
ATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAG
GTCCGGCGTATAGCAGTGGCTGGTACGCCCTTGACTACTGGGCCAGGGAACCT
GGTCACCGTCTCCTCA
(SEQ ID NO: 288)

Proteína H9

QVOLVESGGVVQPGRSLRLSCAASGYTFNSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNTY
YADSVKGRFTISRDISKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREVRAYSSGWYAAFDYWQQTL
VTVSS (SEQ ID NO: 289)

ADN L9

TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCCTGCTGTCTGTGGCCTTGGGACAGACAGTCAGGATC
ACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAACATTTATGCAAACCTGGTACCAGCAGAACGCCAGG
ACAGGCCCCCTGAGTTCTTCTATGTAACACAGCTCCCTGACCATCACTGCGGCTCAGCGGA
ATTCTCTGGCTCCAGCTCAGGAAACACAGCTCCCTGACCATCACTGCGGCTCAGCGGA
AGATGAGGCTGACTATTATTGTAACTCCCAGGACAGCAGTGGTAACCATGTGGTATTTCG
GCGGAGGGACCACGCTGACCGTCTTA
(SEQ ID NO: 290)

Proteína L9

SSELTDQPAVSVALGQTVRITCQGDLSRIFYANWYQQKPGQAPVVVFY
GKNNRPSGIPDRFS
GSSSGNTASLTITAAQAEDEADYYCNSRDSSGNHVFGGGTTLTVL
(SEQ ID NO: 291)

ADN H10

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTCAACGTCTGGATTCACCTCAGTAGTTATGGCATGCACTGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGCTGGAGTGGTGGCAGTTATGGTATGATGGAAGTAGTAAATACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCATTACCATCTCCAGAGACAACTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGT
AAGAAGTGGAGCTACTACGAACAGTATTACTACGGTATGGACGCTGGGCCAGGGA
CCACGGTCGCCGTCTCCTCA
(SEQ ID NO: 292)

Proteína H10

QVOLVESGGVVQPGRSLRLSCATSGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSSKYY
ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVRSGSYYEQYYYGMDVWGQGTT
VAVSS (SEQ ID NO: 293)

ADN L10

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGGCGGGCAAATCAGTACATTAGCACCTATTAAATTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGGTCTGATTATGCTGCATCCAGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCACTGGCAGTGGATTGAGACAGATTCACTCTACCATCAGCAGTCTGCAACCT
GAAGATTTGCAACTTACTACTGTCACTGGAGCTACACTACCCCCGATCACCTTCGGCCA
AGGGACACGACTGGAGATTAAC
(SEQ ID NO: 294)

Proteína L10

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRANQYISTYLNWYQQKPGKAPKVLIYAASSLQSGVPSRFS
GSGFETDFLTISLQPEDFATYYCQQSYTTPITFGQGTRLEIK
(SEQ ID NO: 295)

ADN H11

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTCAGTAGTTAGCATGAACCTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGTTCA TACATTAGTGGTCGTACTAGTAGCGTATACTA
CGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCAACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACTACTG
ATCTGCACATGAACAGCCTGAGAGACGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAAGT
GGGATCTACTACGACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGT
CTCCTCA (SEQ ID NO: 296)

Proteína H11

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSYISGRRTSSVYYA
DSVKGRFTISRDNAKNSLYLHMNSLRDEDTAVYYCARSGIYYDYYGMDVWGQGTTVTVSS
(SEQ ID NO: 297)

ADN L11

GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTCTCTGGCGAGAGGGCCCCC
ATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTAAACAGCTCCAACAATAAGAACTACTTAGCT
TGGTACCAAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCA TTACTGGACATCCACCCGG
GAAGGCGGGTCCCTGACCGATTCACTGGCAGCGGGTCTGGACAGATTCACTCTCAC
CATCAGCAGCCTGCAAGGCTGAAGATGTGGCAGTTATTACTGTCA GAGTATTACTAC
TCCTGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAGATCAA (SEQ ID NO: 298)

Proteína L11

DIVMTQSPDSLAVSLGERAPINCKSSQSVLNSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIWTSTREG
GVPDRFSGSGTDFTLTISLQAEDEVAVYYCQQYFTTPWTFQGQTKVEIK (SEQ ID NO: 299)

ADN H12

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTCAGTAGCTATGGCATGCAC TGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATGGTATGATGGAAGTAATAAATACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCAACCATCTCCAGAGACAATTCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGG
GGCAGCCACTGCTATAGATTACTACTACCTACGGTATGGACGTCTGGGGCCTAGGGAC
CACGGTCACCGTCTCCTCA
(SEQ ID NO: 300)

Proteína H12

QVQLVESGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYY
ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGAATAIDYYYSYGMDVWGLGTT
VTVSS (SEQ ID NO: 301)

ADN L12

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCCGTGTCTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCACC
 ATCACTTGTGCGGGCGAGTCAGGGTATTAGTAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCGGAACCA
 GGAAAAGCCCCTAACGTTCTGATCTACTGCATCCAGTTGCAAAGTGCGGTCATCA
 CGGTCAGCGGAGTGGACTGGACAGATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGGCTGACAGTTCCCGCTCACTTTCGGCGG
AGGGACCAAGGTGGAGATCAA (SEQ ID NO: 302)

Proteína L12

DIQMTOSPSSVSASVGDRVITCRASQISSWLAWYQRKPGKAPKFLIYTASSLQSGVPSRES
GSGSGTDFTLTISSLQPEDSATYYCQQADSFPLTFGGTKVEIK (SEQ ID NO: 303)

ADN H13

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAAGCCTCTGGATTCACCTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGCTGGACTGGTGGCAGTTATGGTATGATGGAAGTAATAAAACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGCCGATTACCACATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGG
GGGGGGTATACCACTAGCTGACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGA
CCACGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 304)

Proteína H13

QVQLVESGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYY
ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGGIPVADYYYYGMDVWGQGTT
VTVSS (SEQ ID NO: 305)

ADN L13.1

GATGTTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCGTACCCCTGGACAGCCGCCCTCC
ATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGCTAAAGCCTCGTCTACAGTGATGGAGACACCTACTTGAATTGG
TTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCCAAGGCCCTAATTATAAGGTTCTAACTGGGAC
TCTGGGTCCCATACAGATTAGCGGCAGTGGTCAGGGACTGATTCACACTGCAAATC
AGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGATTACTACTGCATGCAAGGTACACACTGGCC
TCCGGCCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA (SEQ ID NO: 306)

Proteína L13.1

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQLVYSDGDTYLNWFQQRPGOSPRRLIYKVSNWDSG
VPYRFSGSGSGTDFTLQISRVEADVGJYYCMQGTHWPPAFGQGTRLEJK (SEQ ID NO: 307)

ADN L13.2

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGTGGCGAGTCAGGGTCTTAGCAGCTGGTTAGCC~~TGGT~~TACAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCAAGCTCTGATGTATAACACATCCAGTTGCAAAGT~~GGGGTCCC~~ATC
AAGGTTCA~~GCG~~CAGTGGATCTGGACAGATTCA~~G~~TCTACC~~A~~TCAGCAGCCTGCAGC
CTGAAGATTTC~~G~~CAAGTTACTATTGTCAACAGGCTAACAG~~TT~~CCCTCTCACTTT~~CG~~CG
GAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA
(SEQ ID NO: 308)

Proteína L13.2

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITCRASQGLSSWLA~~WYQQKPGKAPKLLMYNTSSLQSGVPSRF~~
SGSGSGTDFSLTISSLQPEDFASYYCQQANSPLTFGGTKVEIK
(SEQ ID NO: 309)

ADN H14

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGC~~GTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT~~

CTCCTGTGCAGCGTCTGGATT~~CAC~~CTCAGTAGCTATGGCATGC~~ACTGGTCCGCCAGGC~~

TCCAGGCAAGGGC~~TGGAGTGGTGGCAGTTATATGGTATGATG~~GAAGTAATAAATAC

ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCATT~~ACCATCTC~~CAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG

TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGATTACTGTGCGAGAGG

GGGGGGTATACCA~~G~~TAGCTGACTACTACTACGGTATGGAC~~GCTGGGGCCAAGGGA~~

CCACGGTCACCGTCTCCTCA
(SEQ ID NO: 304)

Proteína H14

QVQLVESGGVVOPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVI~~WYDGSNKYY~~
ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGGIPVADYYYYGMDV~~WGQGTT~~
VTVSS (SEQ ID NO: 305)

ADN L14.1

GATGTTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCGTACCC~~CTGGACAGCCGGCTCC~~
ATCTCCTGCAGGTCTAGTC~~AAAGCCTCGT~~CTACAGTGATG~~GAACACCTACTTGA~~ATTGG
TTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCAAGGCC~~CTAATTATAAGGTTCTA~~ACTGGGAC
TCT~~GGGTCCC~~AGACAGATT~~CAGCGCATTGGTCAGG~~CACTGACTTCACACTGAAAATC
~~AGCAGGGTGGAGGCTGAGGATG~~TTG~~GGGTTTACTACTGCATGCAAGGTACACACTGGCC~~
TCCGGCCTT~~CGGCCAAGG~~ACACGACTGGAGAT~~AAA~~ (SEQ ID NO: 310)

Proteína L14.1

DVVM~~TQSP~~LSLPVTLGQPAS~~ISCRSS~~SQLVYSDGNTYLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSNWD~~SG~~
VPDRFSGIGSGTDFLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWP~~PAFGQGTR~~LEIK (SEQ ID NO: 311)

ADN L14.2

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGTGGCGAGTCAGGGTCTTAGCAGCTGGTTAGCC~~TGGT~~TACAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCAAGCTCTGATGTATAACACATCCAGTTGCAAAGT~~GGGGTCCC~~ATC
AAGGTTCA~~GCG~~CAGTGGATCTGGACAGATTCA~~G~~TCTACC~~A~~TCAGCAGCCTGCAGC
CTGAAGATTTC~~G~~CAAGTTACTATTGTCAACAGGCTAACAG~~TT~~CCCTCTCACTTT~~CG~~CG
GAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA
(SEQ ID NO: 312)

Proteína L14.2

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITCRASQGLSSWLA~~WYQQKPGKAPKLLMYNTSSLQSGVPSRF~~
SGSGSGTDFSLTISSLQPEDFASYYCQQANSFPLTFGGGTKEIK
(SEQ ID NO: 309)

ADN H15

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGC~~TGGTCCAGCCTGGGAAGTC~~CCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCGCTGGATTCCCCTCAGTA~~ACTATGGCATGCAC~~TGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGACT~~TGGAATGGGTGGCAGTT~~ATATGGTTGAT~~GGAAAGTAATAAAT~~ACT
ATCGGACTCCGTGAAGGGCGATT~~CACCATCTCCAGAGACA~~ATCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGATTACTGTGCGAGAGG
GGGGGGTATAGCAGTGGCTGACTACTACTTCTACGGTATGGACGTCTGGGCCAAGGGA
CCACGGTCACCGTCTCCTCA
(SEQ ID NO: 313)

Proteína H15

QVQLVESGGVVQPGKSLRLSCAASGFPFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVA~~VIWFDSNKYY~~
ADSVKGRFTISRDNPKNTLYLQMNSLRAEDTA~~VYYYCARGGGIAVADYYFYGMDVWGQGTT~~
VTVSS (SEQ ID NO: 314)

ADN L15.1

GATGTTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCGTACCC~~TTGGACAGCCGGC~~CTCC
ATCTCCTGCAGGTCTAGTCAAAGCCTCATATACAGTGAT~~GGAAACACTTACT~~TGAATTGG
TTTCAACAGAGGCCAGGCCAATCTCAAGGCC~~CTAATT~~TATAAGGTTCTAA~~CTGGGAC~~
TCTGGGGTCCCAGACAGATT~~CAGCGGCAGTGGTCAGGCA~~CTGATTTCACACTGAAAAT
CAGCAGGGTGGAGGCTGAGGAT~~GTTGGATT~~TACTGCAT~~GCAAGGTACACACTGGC~~
CTCCGGCCT~~TCGCCAAGGGACACGACTGGAGAT~~AAA (SEQ ID NO: 315)

Proteína L15.1

DVVMTOPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLIYSDGNTYLNWFOQRPGQSPRRLIYKVSNWDSCV
PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQGTHWPPAFGQGTRLEIK (SEQ ID NO: 316)

ADN L15.2

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCCGTCTGCATCTG~~TAGGAGACAGAGTCACC~~
ATTACTTGT~~CGGGCAGTCAGGT~~TATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTAT~~CAGCAGAAACCA~~
GGGAAAGCCC~~CTAAGGTCTGACCT~~ATACTACATCCAGTTGCAAAGTGGGGT~~CCCATCA~~
AGGTT~~CAGCGGCAGTGGATCTGG~~ACAGATT~~TCACTCTCACCACAGCAGCCTGCAGCCT~~
GAAGATT~~TGCTACTTACT~~TTTGTCAACAGGCTGACAGTTCCCTCTCACT~~TTCCGGCGGG~~
GGGACCAAGGTGGAGAT~~AAA~~ (SEQ ID NO: 317)

Proteína L15.2

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITCRASQGISSWLA~~WYQQKPGKAPKVLTYTSSLQSGVPSRF~~
GSGSGTDFLT~~ISSLQPEDFATYFCQQADS~~FPLTFGGGTKEIK
(SEQ ID NO: 318)

ADN H16

CAGGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTCACCTAAGTACTATGGCATGCACTGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAAACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGGCGATTACCACATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGATTACTGTGCGAGAGG
GGGGGGTATAGCAGTGGCTGACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGG
CCACGGTCACCGTCTCCTCA
(SEQ ID NO: 319)

Proteína H16

QVOLVESGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKY
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGIAVADYYYYGMDVWGQG
TTVTVSS (SEQ ID NO: 320)

ADN L16.1

GATTTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCGTACCCCTGGACAGCCGCCCTCC
ATCTCCTGCAGGTCTAGTCAAAGCCTCGTATACAGTGATGAAACACCTACTTGAATTGG
TTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCCAAGGCCCTAATTATAAGGTTCTACTGGGAC
TCTGGGTCCCAGACAGATTAGCAGCAGTGGTCAAGCACTGATTACACTGAAAAT
CAGTAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGTTTATTACTGCATGCAAGGTACACACTGGC
CTCCGGCTTTCGGCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA (SEQ ID NO: 321)

Proteína L16.1

DVVMTOPLSLPVTLGQPASISCRSSQLVYSDGNTYLNWFQQRPGQSPRRIYKVSYWDSG
VPDRFSGSGSTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPPAFQGTRLEIK (SEQ ID NO: 322)

ADN L16.2

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCCGTCTGCATCTGTAAGGAGACAGACTCACC
ATCACTTGTGGCGAGTCAGAGTCTTAGCAGCTGGTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAACTCCCTGCTCCATAATGCATCCAGTTGCAAAGTGGGTCCCATCA
AGGTCAGCGGAGTGGACTGGACAGATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTGTAAATTACTATTGTCAACAGGCTAACAGTTCCCTCTACTTTCCGGCGGA
GGGACCAGGGTGGAGATCAA
(SEQ ID NO: 323)

Proteína L16.2

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITCRASQLSSWLAWYQQKPGKAPKLLLHNASSLQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISLQPEDFVNYYCQQANSFPLTFGGGTRVEIK
(SEQ ID NO: 324)

ADN H17

CAGGTGAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTAAGACT
CTCCTGTGCAGCCCTGGATTACCTTAAGTAGTTATGGCATGCTCTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTTATGGTTGATGGAAGTTATAAAAAC
ATGCAGACTCCGTGAAGGGCGATTACCACATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGCGAGCCGAGGACACGGCTGTGATTACTGTGCGAGAGA
TAGTACAACATGGCCCACTTGACTACTGGGCCAGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTC
A (SEQ ID NO: 325)

Proteína H17
<u>QVQLVESGGVVQPGRSLRLSCAASGFTLSSYGMWLVRQAPGKGLEWVAVLWFDGSYKNY</u> <u>ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSTTMAHFDYWQGTLTVSS</u> <u>(SEQ ID NO: 326)</u>
ADN L17
<u>CAGACTGTGGTGACCCAGGAGCCATCGTTCTCAGTGTCCCCCTGGAGGGACAGTCACACTC</u> <u>ACTTGTGGCTTGAACCTCTGGCTCAGTCTCTACTAGTTACTTCCCCAGCTGGTACCGAGCAG</u> <u>ACCCCAGGCCAGGCTCCACGCACGCTCATCTACAGCACAAACAGTCGCTCTTCTGGGTC</u> <u>CCTGATCGCTTCTGGCTCCATCCTGGGAACAAAGCTGCCCTCACCACACGGGGGCC</u> <u>CAGGCAGATGATGAATCTGATTATTACTGTGTGCTGTATATGGTAGAGGCATTGGGTG</u> <u>TTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTTA (SEQ ID NO: 327)</u>
Proteína L17
<u>QTVVTQEFSVSPGGTVLTGCLNSGSVSTSYPFWYQOTPGQAPRTLIYSTNSRSSGVPDFR</u> <u>SGSILGNKAALTITGAQADDESDYYCVLYMRCIWVFGGGTKLTVL</u> <u>(SEQ ID NO: 328)</u>
ADN H18
<u>CAGGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT</u> <u>CTCCCTGTGCAGCGCTCTGGATTACCTCAGTAACATGGCATGCAC</u> <u>TGGTCCGCCAGGC</u> <u>TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAAACT</u> <u>ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG</u> <u>TATCTGAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGATTACTGTGCGAGAGG</u> <u>GGGGGTATAGCAGTGGCTGACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGCCAAGGGA</u> <u>CCACGGTCACCGTCTCCTCA</u> <u>(SEQ ID NO: 319)</u>
Proteína H18
<u>QVQLVESGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKY</u> <u>YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGIAVADYYYYGMDVWGQG</u> <u>TTTVSS (SEQ ID NO: 320)</u>
ADN L18.1
<u>GATGTTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCGTACCCCTGGACAGCCGGCTCC</u> <u>ATCTCCTGCAGGTCTAGTCAAAGCCTCGTATACAGTGTGGAAACACCTACTTGAATTGG</u> <u>TTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCAAGGCCCTAATTATAAGGTTCTACTGGGAC</u> <u>TCTGGGTCCCAGACAGATTACGCAGCAGTGGTCAGGCACGTGATTACACTGAAAAT</u> <u>CAGTAGGGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTTTATTACTGCATGCAAGGTACACACTGGC</u> <u>CTCCGGCCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATCAA (SEQ ID NO: 329)</u>
Proteína L18.1
<u>DVVMTOQPLSLPVTLGQPASISCRSSSQLVYSDGNTYLNWFOQRPGOSPRRLIYKVSYWDSG</u> <u>VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCMQGTHWPPAEGQGTRLEIK (SEQ ID NO: 330)</u>

ADN L18.2

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC

ATCACTTGTGGCGAGTCAGAGTCTTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCAAACTCCTGCTCTATAATGCATCCAGTTGCAAAGTGGGGCCCCATCA
AGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTGTAACTTACTATTGTCAACAGGCTAACAGTTCCCTCTCACTTTGGCGGA
GGGACCAGGGTGGAGATCAA

(SEQ ID NO: 331)

Proteína L18.2

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITCRASQLSSWLAWYQQKPGKAPKLLYNASSLQSGAPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFVYYCQQANSPLTFGGTRVEIK

(SEQ ID NO: 332)

ADN H19

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCCTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAAACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTATTACTGTGCAGAGAGG
GGGGGGTATACCACTAGCTGACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGA
CCACGGTCACCGTCTCCTCA

(SEQ ID NO: 304)

Proteína H19

QVQLVESGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYY
ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGGIPVADYYYYGMDVWGQGTT
VTVSS (SEQ ID NO: 305)

ADN L19.1

GATGTTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCGTACCCCTGGACAGCCGGCTCC
ATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGCTACAGTGATGGAGACACCTACTTGAATTGG
TTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCAAGGCCCTAATTATAAGGTTCTAACTGGGAC
TCTGGGTCCCATAAGATTCAAGCGGCAGTGGGTCAAGGCACTGATTTCACACTGCAAATC
AGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGATTTACTACTGCATGCAAGGTACACACTGGCC
TCCGGCCCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA (SEQ ID NO: 306)

Proteína L19.1

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQLVYSDGDTYLNFQQRPGOSPRRLIYKVSNWDSG
VPYRFSGSGTDFTLQISRVEAEDVGIYYCMQGTHWPFAFGQGTRLEIK (SEQ ID NO: 307)

ADN L19.2

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGTCCGGCGAGTCAGGGTCTTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCAAGCTCTGATGTATAACACATCCAGTTGCAAAGTGGGGTCCCATC
AAGGTTCAAGCGGAGTGGATCTGGACAGATTCACTCACCACAGCAGCCTGCAGC
CTGAAGATTTCGAAGTTACTATTGTCAACAGGCTAACAGTTCCCTCTCACTTTGGCG
GAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA
(SEQ ID NO: 308)

Proteína L19.2

DIOMTOSPSSVSASVGDRVITCRASQGLSSWLA WYQQKPGKAPKLLMYNTSSLQSGVPSRF
SGSGSGTDFSLTISSLQPEDFASYYCQQANSPLTFGGTKVEIK
(SEQ ID NO: 309)

ADN H20

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCAGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTCAGTAGCTATGGCATGCAC
TGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGTGGCAGTTATGGTATGATGGAAGTAATAAATAC

ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCAACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACACGCCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGATTACTGTGCGAGAGG
GGGGGGTATACCACTAGCTGACTACTACTACGGTATGGACGT
CTGGGGCCAAGGGGA
CCACGGTCACCGTCTCCTCA
(SEQ ID NO: 304)

Proteína H20

QVQLVESGGVVQPGRSLRLSCAASGFTSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYY
ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGGIPVADYYYYGMDVWGQGTT
VTVSS (SEQ ID NO: 305)

ADN L20.1

GATGTTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCGTACCCCTGGACAGCCGGCTCC
ATCTCCTGCAGGTCTAGTC
AAAGCCTCGTCTACAGTGATGGAGACACCTACTTGAATTGG
TTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCCAAGGCCCTAATTATAAGGTTCTAACTGGAC
TCTGGGTCCCATACAGATTCAAGCGCAGTGGTCAGGCCACTGATTTCACACTGCAAATC
AGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGATTACTACTGCATGCAAGGTACACACTGGCC
TCCGGCCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTTAA (SEQ ID NO: 306)

Proteína L20.1

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQLVYSDGDTYLNW
FQQRPGQSPRRIYKVSNWDSG
VPYRFSGSGSGTDFTLQISRVEADVGIYYCMQGTHWPPAFGQGTRLEIK (SEQ ID NO: 307)

ADN L20.2

GACATCCAGATGACCCAGTCCCCATCTCCGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGTCCGGCGAGTCAGGGTCTTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCAAGCTCCTGATGTATAACACATCCAGTTGCAAAGTGGGTCCCATC
AAGGTTCAAGCGGAGTGGATCTGGACAGATTCACTCACCATCAGCAGCCTGCAGC
CTGAAGATTTGCAAGTTACTATTGTCAACAGGCTAACAGTTCCCTCTCACTTTGGCG
GAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA
(SEQ ID NO: 333)

Proteína L20.2

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITCRASQGLSSWLA WYQQKPGKAPKLLMYNTSSLQSGVPSRF
SGSGSGTDFSLTISSLQPEDFASYYCQQANSPLTFGGTKVEIK
(SEQ ID NO: 309)

ADN H21

GAGGTGCAGCTTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGTCCGCCAGGC
TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGTCTCAGCAATTAGTGGTAGTGGTGGAAAGTACACACT
ACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTACCATCTCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATTACTGTGCGAAAGA
TCTCAACTGGGGAGCTTGATATCTGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTCA
(SEQ ID NO: 334)

Proteína H21

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVROAPGKGLEWVSAISGSGGTHYA
DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKDLNWGAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ
ID NO: 335)

ADN L21

CAGTCTGTGCTGACGCCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCAGGGCAGAGGGTCACCAT
CTCCTGCACTGGGAGCAGCTCAACATTGGGGGGTTATGTTGTACATTGGTACCAAGCA
GCTTCCAGGAACAGCCCCAAACTCCTCATCTATGGTAACAGCAATCGGCCCTCAGGGGT
CCCTGACCAATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCACTGGACT

CCAGTCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGCAAAGCATGGATAACAGCCTGAATGCTC
AAGGGGTATTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA (SEQ ID NO: 336)

Proteína L21

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSNIGAGYVVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDQ
FSGSKSGTSASLAITGLQSEDEADYYCAWDNSLNAQGVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 337)

ADN H22

GAGGTGCAGCTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGCACAGCCGGGGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGGCTCTGGATTCTCCTTAGAGGCTATGTATGACTTGGTCCGCCAGGCT
CCAGGGAGGGCTGGAGTGGTCTCAGGAATTAGTGGTACTGGTAGCACATACTA
CGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCAACCACCTCCAGAGACAATTCAAGAACACGCTGT
GTCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGGA
GACAGCTGAACACTACTCCGGTATGGACGTCGGGGCCAAGGGACCACGGTCATCGT
CTCCTCA (SEQ ID NO: 338)

Proteína H22

EVQLLESGGLAQPGGLRLSCAGSGFSFRGYVMTWVRQAPGKGLEWVSGISGSGSTYYA
DSVKGRFTISRDNSKNTLCLQMNSLRAEDTAVYYCAKGDSSNYYSGMDVWGQGTTVIVSS
(SEQ ID NO: 339)

ADN L22

GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTCTCTGGCGAGAGGGCCACC
ATCAACTGCAAGTCCAGCCAGACTGTTTATAACAACCTCCAACAATAAGAAACTACTTAGCT
TGGTACCAAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAACAGCTGCTCATTTACTGGCTCTACCCGG
GAATCCGGGTCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGCTGGGACAGATTCACTCTCACC
ATCAGCAGCCTGAGGCTGAGGATGTGGCAATTATTACTGTCAAGCAATTATGGTCCT
CCTCTCACTTTGGCGGAGGGACCAAGGTGGAAATCAA (SEQ ID NO: 340)

Proteína L22

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYNSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLIYWASTRES
GVPDRFSGSGTDFLTISLQAEDVAIYYCQQFYGPPLTFGGTKVEIK (SEQ ID NO: 341)

ADN H23

CAGGTGCAGCTGGTGAGCTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTCAGTGAAGGT
CTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTCACCGGCTACTATATGCACTGGTGCACAGGC
CCCTGGACAAGGCTTGAGTGGATGGATGGATCAACCCCTAACATGGTGGCACAAACT
ATGGACAGAAGTTCAAGGCAGGGTCAACCATGACCAGGGACACGTCCATCAGCACAGCC
TACATGGAGCTGAGCAGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGATTACTGTGCGAGAGG
GAACCTGGAACGACGATGCTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTCA
A (SEQ ID NO: 342)

Proteína H23

QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNNGTN
YGQKFQGRVTMTRTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGNWNDDAFDIWGQGTMVTVSS
(SEQ ID NO: 343)

ADN L23

TCCTATGAGCTGACTCAGTCACCCCTCAGTGTCCGTGCCCCAGGACAGACAGCCAGCATC
ACCTGTTCTGGTGATAAAATGGGGATAAAATTGCTTCTGGTATCAGCAGAACGCCAGGC
CAGTCCCCCTGTGCTGGTCACTATCAAGATAGCAAGCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGA
TTCTCTGGCTCCAACCTGGAACACAGCCACTCTGACCACATCAGCGGGACCCAGGCTATG
GATGAGGCTGACTATTACTGTCAAGCGTGGGACAGCAGCGCCGGGGGTATTTCGGCG
GAGGGACCAAGTTGACCGTCTA (SEQ ID NO: 344)

Proteína L23

SYELTQSPSVVSPGQTASITCSGDKLGDKFAFWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGS
NSGNTATLTISGTOAMDEADYYCQAWDSSAGGVFGGGTKLTVL
 (SEQ ID NO: 345)

ADN H24

CAGGTGCAACTGGAGGACTCTGGGGAGGCCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCA~~GCGCTGGATT~~ACCTTCAGTAGCTATGCCATGCAC~~TGGTCCGCCAGGC~~
TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGTGGCAGTTATGGTATGATGGAAGTAATAAAACT
ATGTAGACTCCGTGAAGGGCGATTACCACCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTATTACTGTGCGAGAAT
GGGGTTACTATGGTCGGGGAGCCCTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGA
CCACGGTCACCGTCTCCTCA
 (SEQ ID NO: 346)

Proteína H24

QVQLEESGGGVVOPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYY
VDSVKGRFTISRDNSKNTLYLOMNSLRAEDTAVYYCARMGFTMVRGALYYGMDVWGQGT
TVTVSS (SEQ ID NO: 347)

ADN L24

TCTCTGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTCTGGCCTTGGGACAGACAGTCAGGATC
ACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAACGCTATCATGCAAGCTGGTACCAGCAGAACCCAGG
ACAGGCCCTGTACTTGT~~CATCTATGGTAAAACAACCGGCCCTCAGGGATCCCAGACCG~~
ATTCTCTGACTCCAGTTAGGAAACACAGCTTCC~~TTGACCATCACTGGGCTCAGGC~~GA
AGATGAGGCTGACTATTATGTAATTATCGGGACAACAGTGGTAACCATCTGGTTTTCG
GCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCC
 (SEQ ID NO: 348)

Proteína L24

SSELTDPAVSVALQTVRITCQGDSLRSYHASWYQQKPGQAPVLVIYGENNRPSGIPDRFSD
SSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNYRDNSGNHLVFGGGTKLTVL
 (SEQ ID NO: 349)

ADN H25

GAGGTGCAGCTTTGGAATCTGGGGAGGCCGTGGTACAGCCTGGGGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCA~~GCGCTCTGGATT~~ACCTT~~AGCAGCTATGCCATGAGCTGGTCCGCCAGGC~~
TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGTCTCAGCTATTAGTCGAGTGGTAGTACCAACATACT
ACGCAGACTCCGTGAAGGCCGGT~~ACCACCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG~~
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGGAACC
GAGATTTGACTGGTTATTAGGCCACTGGGCCAGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
 (SEQ ID NO: 350)

Proteína H25

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMS~~WVRQAPGKGLEWVSAISRGSTYYAD~~
SVKGRTFISRDNSKNTLYLOMNSLRAEDTAVYYC~~VEPRYFDWLGDWQGTL~~TVSS (SEQ
 ID NO: 351)

ADN L25
<u>GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTCTCTGGCGAGAGGGCCACC</u> <u>ATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTAACTACAACAAATAAGAACTACTTAGCT</u> <u>TGGTACAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCTCTACCCGG</u> <u>GAATCCGGGGTCCCTGACCGATTCACTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTCACTTCACC</u> <u>ATCAGCAGCCTGCAGGCTGAGGATGTGGCAATTATTACTGTCAAGCAATTATGGTCCT</u> <u>CCTCTCACTTTGGCGGAGGGACCAAGGTGAAATCAA (SEQ ID NO: 340)</u>
Proteína L25
<u>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYNSNNKNYLAWYQQKPGQOPPKLLIYWASTRES</u> <u>GVPDRFSGSGSGTDFLTISLQAEDVAIYYCQQFYGPPLTFGGTKVEIK (SEQ ID NO: 341)</u>
ADN H26
<u>CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCGGGGGGAGGCCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT</u> <u>CTCCTGTGCAGCGCTCTGGATTCACTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGC</u> <u>TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTAAATGGTATGAAGGAAGTAATAAAACT</u> <u>ATGGAGACTCCGTGAAGGGCCATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG</u> <u>TATTGCAAATGAACAGTCTGAGAGGCGAGGATACGGCTGTATTACTGTGCGAGAGG</u> <u>CGCCCCACGACTACGGTGAECTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGG</u> <u>TCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 352)</u>
Proteína H26
<u>QVOLVESGGVVOPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVKWYEGSNKY</u> <u>YGDSVKRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRGEDTAVYYCARAHDYGFYYGMDVWGQGTT</u> <u>VTVSS (SEQ ID NO: 353)</u>
ADN L26
<u>TCCTATGAACTGACTCAGCCAGCCTCAGTGTCCGTGTCCCCAGGAAGACAGATAGCCAGC</u> <u>ACCTGCTCTGGAGATAATTGGGGATAAAATATTTGCTGGTATCAGCAGAACGCCAGGC</u> <u>CAGTCCCCCTGTGGGGTCATCTATCAAGATAACAAGCGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGT</u> <u>TTCTCTGGCTCCAATTCTGGAACACAGCCACTCTGACCATCAGCGGGACCCAGGCTATG</u> <u>GATGAGGCTGACTATTACTGTCAAGCGTGGGACAGCAGCACTGTGGTATTTCGGCGGAG</u> <u>GGACCAAGCTGACCGTCCTA (SEQ ID NO: 354)</u>
Proteína L26
<u>SYELTOPASVSVSPGQIASITCSGDNLGDKYICWYQQKPGQSPVRVIYQDNKRPSGIPERFSGS</u> <u>NSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQA WDSSTVVFGGGTKLTVL</u> <u>(SEQ ID NO: 355)</u>
ADN H27

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTGGTACAGCCTGGGGGTCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCGCCAGGC
TCCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGGCTCAGCTATTAGTTAGTGGCGGTAGCACATACT
ACGCAGGCTCCGTGAAGGCCGGTCAACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGGCCAGGACACGGCGTATATTACTGTGCGAAAGA
TCGGGAGGGAGGCACTGGTACTACGGTATGGACGTGGGC_AAGGGACCACGGTCA
CCGTCTCTCA (SEQ ID NO: 356)

Proteína H27

EVLQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISYSGGSTYYA
GSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDREGATWYYGMDVWGQGTTVTV
SS (SEQ ID NO: 357)

ADN L27

TCCTATGAACTGACTCAGCCACCC~~T~~CAGTGTCCGTGTCCCCCAGGACAGACAGCCAGCATC
ACCTGCTCTGGAGATAAATTGGGGAAAGCTATGCTGCTGGTATCAGCAGAAGGCCAGG
CCAGTCCCCTGTACTGGTCATCTATCAAGATTACAAGCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCG
CTTCTCTGGCTCCAAC~~T~~TGGAACACAGCCACTCTGACC~~A~~TCAAGCGGGACCCAGGCTAT
GGATGAGGCTGACTATTACTGTCAGGC~~G~~TGGGACAGAAGTACTGTACTATTTCGGCGGA
GGGACCAAGCTGACCGTCCTA
(SEQ ID NO: 358)

Proteína L27

SYELTQPPSVSVPQQTASITCSGDKLGEZYACWYQQKPGQSPVLVIYQDYKRPSGIPERFSGS
NSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDRSTVLFGGGTKLTVL
(SEQ ID NO: 359)

Se describen una o más secuencias de aminoácidos que son idénticas a las secuencias de aminoácidos de una o más de las CDR y pueden comprender adicionalmente una o más FR ilustradas anteriormente. La proteína de unión a anticuerpos comprende una secuencia de CDR1 de cadena ligera ilustrada más arriba. La proteína de unión a

5 a antígeno comprende una secuencia de CDR1 de cadena ligera ilustrada más arriba. La proteína de unión a antígeno comprende una secuencia de CDR2 de cadena ligera ilustrada más arriba. La proteína de unión a antígeno comprende una secuencia de CDR3 de cadena ligera ilustrada más arriba. La proteína de unión a antígeno comprende una secuencia de CDR1 de cadena pesada ilustrada más arriba. La proteína de unión a antígeno comprende una secuencia de CDR2 de cadena pesada ilustrada más arriba. La proteína de unión a antígeno

comprende una secuencia de CDR3 de cadena pesada ilustrada más arriba. La proteína de unión a antígeno comprende adicionalmente una secuencia de FR1 de cadena ligera ilustrada más arriba. La proteína de unión a antígeno comprende adicionalmente una secuencia de FR2 de cadena ligera ilustrada más arriba. La proteína de unión a antígeno comprende adicionalmente una secuencia de FR3 de cadena ligera ilustrada más arriba. La proteína de unión a antígeno comprende adicionalmente una secuencia de FR4 de cadena ligera ilustrada más arriba. La proteína de unión a antígeno comprende adicionalmente una secuencia de FR1 de cadena pesada ilustrada más arriba. La proteína de unión a antígeno comprende adicionalmente una secuencia de FR2 de cadena pesada ilustrada más arriba. La proteína de unión a antígeno comprende adicionalmente una secuencia de FR3 de cadena pesada ilustrada más arriba. La proteína de unión a antígeno comprende adicionalmente una secuencia de FR4 de cadena pesada ilustrada anteriormente.

La presente descripción proporciona una proteína de unión a antígeno que comprende un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la secuencia del dominio variable de cadena ligera seleccionado del grupo que consiste en L1 a L27 sólo en 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 ó 0 residuos, en donde cada una de tales diferencias en la secuencia es independientemente una delección, inserción o sustitución de un residuo de aminoácido. En otra realización, el dominio variable de cadena ligera comprende una

secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, o 99% a la secuencia de un dominio variable de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en L5. En otra realización, el dominio variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es idéntica en al menos 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, o 99% a una secuencia de nucleótidos que codifica un dominio variable de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en L5. En otra realización, el dominio variable

de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por un polinucleótido que hibrida en condiciones moderadamente rigurosas con el complemento de un polinucleótido que codifica un dominio variable de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en L1-L27. En otra realización, el dominio variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por un polinucleótido que hibrida en condiciones altamente rigurosas con un complemento de un polinucleótido de cadena ligera de L5.

Se describe una proteína de unión a antígeno que comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la secuencia de un dominio variable de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en H1-H27 sólo en 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 ó 0 residuos, en donde cada una de tales diferencias en la secuencia es independientemente una delección, inserción o sustitución de un residuo de aminoácido. En otra realización, el dominio variable de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, o 99% a la secuencia del dominio variable de la cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en H5. En otra realización, el dominio variable de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es idéntica en al menos 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, o 99% a una secuencia de nucleótidos que codifica un dominio variable de cadena pesada seleccionado del grupo que consiste en H5. En otra realización, el dominio variable de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por un polinucleótido que hibrida en condiciones moderadamente rigurosas con el complemento de un polinucleótido que codifica un dominio variable de cadena pesada seleccionado del grupo que consiste en H5. En otra realización, el dominio variable de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por un polinucleótido que hibrida en condiciones altamente rigurosas con el complemento de un polinucleótido que codifica un dominio variable de cadena pesada seleccionado del grupo que consiste en H5.

En la Tabla 2 anterior, dos cadenas ligeras se asocian con una única cadena pesada, identificada, por ejemplo, como L-12.1, L-12.2, etc. Estas cadenas ligeras alternativas se emparejan cada una con una sola cadena pesada. La combinación de cadena ligera y cadena pesada se puede analizar como se describe a continuación y se puede seleccionar la combinación de cadena ligera y cadena pesada que proporciona la mayor actividad neutralizadora de LPET.

Las realizaciones adicionales incluyen proteínas de unión a antígeno que comprenden las combinaciones L5H5.

Los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos y derivados de anticuerpos de la invención pueden comprender, además, cualquier región constante conocida en la técnica. La región constante de la cadena ligera puede ser, por ejemplo, una región constante de cadena ligera de tipo kappa o lambda, por ejemplo, una región constante de cadena ligera de tipo kappa o lambda humana. La región constante de la cadena pesada puede ser, por ejemplo, una región constante de cadena pesada de tipo alfa-, delta-, epsilon, gamma- o mu, p. ej., una región constante de cadena pesada de tipo alfa, delta, épsilon, gamma, o mu humana. En una realización, la región constante de cadena ligera o pesada es un fragmento, derivado, variante o muteína de una región constante de origen natural.

En una realización, los anticuerpos comprenden una IgG, tales como IgG1, IgG2, IgG3, o IgG4.

Se conocen técnicas para衍生 un anticuerpo de una subclase o isotipo diferente de un anticuerpo de interés, es decir, cambio de subclase. Por lo tanto, los anticuerpos IgG pueden derivar de un anticuerpo IgM, por ejemplo, y viceversa. Tales técnicas permiten la preparación de nuevos anticuerpos que poseen las propiedades de unión a antígeno de un anticuerpo dado (el anticuerpo parental), pero también exhiben propiedades biológicas asociadas con un isotipo o subclase de anticuerpo diferente de los del anticuerpo parental. Se pueden emplear técnicas de ADN recombinante. El ADN clonado que codifica polipéptidos de anticuerpos concretos se puede emplear en tales procedimientos, p. ej., ADN que codifica el dominio constante de un anticuerpo del isotipo deseado. Véase también Lantto et al., 2002, Methods Mol. Biol. 178: 303-16.

En una realización, un anticuerpo humano anti-LPET de la invención comprende el dominio constante de la cadena pesada de IgG1 o un fragmento del dominio constante de la cadena pesada de IgG1. En una realización, un anticuerpo humano anti-LPET de la invención comprende adicionalmente los dominios kappa o lambda de la cadena ligera constante o un fragmento de estos. Las regiones constantes de la cadena ligera y los polinucleótidos que las codifican se proporcionan en la Tabla 3 a continuación. En otra realización, un anticuerpo humano anti-LPET de la invención comprende adicionalmente un dominio constante de la cadena pesada, o un fragmento del mismo, tal como la región constante de la cadena pesada de IgG2 mostrada a continuación en la Tabla 3.

El ácido nucleico (ADN) que codifica los dominios de la cadena ligera constante y pesada constante, y las secuencias de aminoácidos de los dominios de la cadena pesada y ligera se proporcionan a continuación. Los dominios variables lambda se pueden fusionar con dominios constantes de lambda y los dominios variables kappa con los dominios constantes de kappa.

TABLA 3

ADN del dominio constante pesados de IgG2 (SEQ ID NO: 364)
gctagcaccaagggeccatcggttccccctggccgcctgctccaggagcacctccgagagcacagcggccctgggctgcctggtaaggact acttcccccgaaccggtgacgggtcgctggaaactcaggcgtctgaccagcggcgtcacacccatcgtagatcacaagcccaaggatgg ccctcagcagcgtggtgaccgtgcctccaggcaacttcggcaccaggacactacatcgtagatcacaagcccaaggatggtaaggact caagacagtggagcgcaaatgttgcgactgcccaccgtggcaggacccatcgtagatcacaagcccaaggatggtaaggact ggacaccctcatgatctccggaccctcgaggtaacgtcgtagtgcgtgggtggacgtggacgccaagaccccgaggatggtaactgg gacggcgtggaggtaatgccaagacaaaggccacgggaggaggcgttcaacageacgtttccgtgtggcagcgttccacccgtgtgcacc aggactggcgtgaacggcaaggagtaatgccaaggatcgcccaaaaggctccaggcccatcgagaaaaccatctccaaaaccaagg agcccccggagaaccacagggtacaccctgcggggaggagatgccaagaaccaggatcgccctgacccatcggtcaaaggctcta ccccagcgcacatcgccgtggaggatggagagcaatggcggcggagaacaactacaagaccacaccatccatcgactccgacggc cttcctctacagcaagctaccgtggacaagagcaggcggcggggaaactcgccatcgatcgatcgatcgaggctcgaccaaccacta caccgagaagaccctccctgtccggtaatga
Proteína del dominio constante pesado de IgG2 (SEQ ID NO: 365)
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPALVLQSSGLY SLSSVVTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTV VHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTSKKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMULDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK*
ADN del dominio constante ligero Kappa (SEQ ID NO: 366)
cgtacggcgtgcaccatcgatctcatctccgcacatcgatgaggcgttgaaactcgaaactgcctctgtgtgcctgctgaataacttctatcc cagagaggccaaagtacagtggaaagggtggataacgcctccaatcggttaactccaggagatgtgcacagacgcaggcaggacagca cctacagcctcagcagcaccctgacgtcgaccaagcagactacgagaaacacaaggatcgccctgcgaagtccatcgaggcctgagctc gcccgccatcaaagagcttcaacagggggagatgttag
Proteína del dominio constante ligero Kappa (SEQ ID NO: 367)
RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTTLSKADYEHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
ADN del dominio constante ligero Lambda (SEQ ID NO: 368)
ggccaaccgaaaggcggccctcggtactctgttccgcctctgaggagatcgaaactcgaaacaaggccacactgggtgtctcataagtgac ttctacccggggaggccgtgacatggcgtggaaaggcagatcgagccctgtcaaggcgggaggggagaccacaccctccaaacaaaggcaa caacaagtacgcggccagcagctatctgagcgtacgcgtggaaactcgccatcgatcgccatcgatcgatcgatcgatcgatcgatcg accgtggagaagacagtggccctacagaatgttag
Proteína del dominio constante ligero Lambda (SEQ ID NO: 369)
CQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS*

Las proteínas de unión a antígeno de la presente invención incluyen aquellas que comprenden, por ejemplo, las combinaciones de dominio variable L5H5, que tienen un isotipo deseado (por ejemplo, IgA, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgE, e IgD), así como los fragmentos Fab o F (ab)₂ de los mismos. Por otra parte, si se desea una IgG4, también puede ser deseable introducir una mutación puntual en la región de bisagra como describen Bloom et al., 1997, Protein Science 6: 407 para aliviar una tendencia a formar enlaces disulfuro intra cadena-H que pueden conducir a la heterogeneidad en los anticuerpos IgG4.

Anticuerpos y fragmentos de anticuerpos

Según se utiliza en la presente memoria, el término "anticuerpo" se refiere a un anticuerpo intacto, o a un fragmento de unión a antígeno del mismo, como se describe en la sección de definiciones de la presente memoria. Un anticuerpo puede comprender una molécula de anticuerpo completa (incluyendo versiones policlonales, 5 monoclonales, químéricas, humanizadas, o humanas que tienen cadenas pesadas y/o ligeras completas), o comprender un fragmento de unión a antígeno de la misma. Los fragmentos de anticuerpo incluyen fragmentos F(ab')₂, Fab, Fab', Fv, Fc, y Fd, y se pueden incorporar a anticuerpos de dominio único, anticuerpos monovalentes, anticuerpos de una sola cadena, maxicuerpos, minicuerpos, intracuerpos, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, v-NAR y bis-scFv (Véase, p. ej., "Hollinger y Hudson, 2005, Nature Biotechnology, 23, 9, 1126-1136). Los polipéptidos 10 de anticuerpos se describen también en la Patente de los Estados Unidos Núm. 6.703.199, Incluyendo monocuerpos polipeptídicos de fibronectina. Otros polipéptidos de anticuerpos se describen en la Publicación de Patente de los Estados Unidos 2005/0238646, que son polipéptidos de una sola cadena. Los fragmentos de anticuerpos monovalentes 15 se describen en la Publicación de Patente de los Estados Unidos 20050227324.

Los fragmentos de unión a antígeno derivados de un anticuerpo se pueden obtener, por ejemplo, por hidrólisis 20 proteolítica del anticuerpo, por ejemplo, digestión con pepsina o papaína de anticuerpos completos de acuerdo con los métodos convencionales. A modo de ejemplo, los fragmentos de anticuerpos pueden ser producidos por escisión enzimática de anticuerpos con pepsina para proporcionar un fragmento 5S denominado F(ab')₂. Este fragmento 25 puede escindirse adicionalmente usando un agente reductor de tiol para producir fragmentos monovalentes 3,5S Fab'. Opcionalmente, la reacción de escisión se puede realizar utilizando un grupo de bloqueo para los grupos sulfhidrilo que son el resultado de la escisión de enlaces disulfuro. Como alternativa, una escisión enzimática utilizando papaína produce dos fragmentos Fab monovalentes y un fragmento Fc directamente. Estos métodos son 30 descritos, por ejemplo, por Goldenberg, Patente de Estados Unidos Núm. 4.331.647, Nisonoff et al., Arch. Biochem. Biophys. 89: 230, 1960; Porter, Biochem. J. 73: 119, 1959; Edelman et al., en Methods in Enzymology 1: 422 (Academic Press 1967); y por Andrews, S.M. y Titus, J. A. en Current Protocols in Immunology (Coligan J. E., et al., 35 eds.), John Wiley & Sons, Nueva York (2003), páginas 2.8.1-2.8.10 y 2.10A.1-2.10A.5. Otros métodos para la escisión de anticuerpos, tales como separación de cadenas pesadas para formar fragmentos monovalentes de cadena ligera-pesada (Fd), la escisión adicional de fragmentos, u otras técnicas enzimáticas, químicas, o genéticas 40 también se pueden utilizar, siempre que los fragmentos se unan al antígeno que es reconocido por el anticuerpo intacto.

Un fragmento de anticuerpo también puede ser cualquier proteína sintética o manipulada genéticamente. Por 45 ejemplo, los fragmentos de anticuerpos incluyen fragmentos aislados que consisten en la región variable de la cadena ligera, fragmentos "Fv" que consisten en las regiones variables de las cadenas pesada y ligera, moléculas de polipéptidos de cadena sencilla recombinantes en las que las regiones ligeras y pesadas variables están conectadas por un conector peptídico (proteínas scFv).

Otra forma de un fragmento de anticuerpo es un péptido que comprende una o más regiones determinantes de la 50 complementariedad (CDR) de un anticuerpo. Las CDR (también denominados "unidades mínimas de reconocimiento", o "región hipervariable") se pueden obtener mediante la construcción de polinucleótidos que codifican la CDR de interés. Tales polinucleótidos se preparan, por ejemplo, mediante el uso de la reacción en cadena de la polimerasa para sintetizar la región variable utilizando ARNm de las células productoras de anticuerpos 55 como molde (véase, por ejemplo, Larrick et al., Methods: A companion to Methods in Enzymology 2: 106, 1991; Courtenay-Luck, "Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies" en Monoclonal Antibodies Production, Engineering and Clinical Application, Ritter et al. (eds.), página 166 (Cambridge University Press 1995); y Ward et al., "Genetic Manipulation and Expression of Antibodies", in Monoclonal Antibodies: Principles and Applications, Birch et al., 60 (eds.), página 137 (Wiley-Liss, Inc. 1995)).

Por lo tanto, el agente de unión comprende al menos una CDR como se describe en la presente memoria. El agente de unión puede comprender adicionalmente al menos dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR como se describe en la 65 presente memoria. El agente de unión puede comprender adicionalmente al menos un dominio de la región variable de un anticuerpo descrito en la presente memoria. El dominio de la región variable puede ser de cualquier tamaño o composición de aminoácidos y generalmente comprenderá al menos una secuencia CDR responsable de la unión a LPET, por ejemplo la CDR1, CDR2, CDR3 de la cadena pesada y/o las CDR de la cadena ligera descritas 70 específicamente en la presente memoria y que es adyacente a o está en marco con una o más secuencias del marco. En términos generales, el dominio de la región variable (V) puede estar en cualquier disposición adecuada de los dominios variables de la cadena pesada (V_H) y/o ligera (V_L) de inmunoglobulina. Así, por ejemplo, el dominio de la región V puede ser monomérico y puede ser un dominio V_H o V_L, que es capaz de unirse de forma 75 independiente a LPET humana con una afinidad al menos igual a 1 x 10⁻⁷ M o menos como se describe a continuación. Alternativamente, el dominio de la región V puede ser dimérico y contener dímeros V_H-V_H, V_H-V_L o V_L-V_L. El dímero de la región V comprende al menos una cadena V_H y al menos una V_L que puede estar asociado no 80 covalentemente (en lo sucesivo denominado F_v). Si se desea, las cadenas pueden estar covalentemente acopladas ya sea directamente, por ejemplo mediante un enlace disulfuro entre los dos dominios variables, o a través de un conector, por ejemplo, un conector peptídico, para formar un Fv de cadena sencilla (scFv).

El dominio de la región variable puede ser cualquier dominio variable de origen natural o una versión manipulada del

5 mismo. Por versión manipulada se entiende un dominio de región variable que ha sido creado usando técnicas de manipulación de ADN recombinante. Tales versiones manipuladas incluyen las creadas, por ejemplo, a partir de una región variable de un anticuerpo específico mediante inserciones, delecciones o cambios en o a las secuencias de aminoácidos del anticuerpo específico. Los ejemplos concretos incluyen dominios de regiones variables manipulados que contienen al menos una CDR y opcionalmente uno o más aminoácidos del marco de un primer anticuerpo y el resto del dominio de la región variable de un segundo anticuerpo.

10 El dominio de la región variable puede estar anclado covalentemente en un aminoácido C-terminal a al menos otro dominio de anticuerpo o un fragmento del mismo. Así, por ejemplo, un dominio VH que está presente en el dominio de la región variable puede estar unido a un dominio CH1 de la inmunoglobulina, o un fragmento del mismo. Del mismo modo un dominio VL puede estar unido a un dominio CK o un fragmento del mismo. De esta manera, por ejemplo, el anticuerpo puede ser un fragmento Fab en donde el dominio de unión a antígeno contiene dominios VH y VL asociados unidos covalentemente en sus extremos C-terminales a un dominio CH1 y CK, respectivamente. El dominio CH1 se puede extender con otros aminoácidos, por ejemplo para proporcionar una región bisagra o una porción de un dominio de la región bisagra como se encuentra en un fragmento Fab', o para proporcionar más dominios, tales como los dominios CH2 y CH3 del anticuerpo.

Derivados de proteínas de unión a antígeno

20 Las secuencias de nucleótidos mostradas en la FIG. 1A-1F, la FIG. 2A-2F, y en la Tabla 2 anterior se pueden modificar, por ejemplo, mediante mutagénesis aleatoria o mediante mutagénesis dirigida al sitio (p. ej., mutagénesis específica de sitio dirigida por oligonucleótidos) para crear un polinucleótido alterado que comprende uno o más sustituciones, delecciones, o inserciones concretas de nucleótidos en comparación con el polinucleótido no mutado. Los ejemplos de las técnicas para realizar tales alteraciones son descritos por Walder et al., 1986, Gene 42: 133; Bauer et al., 1985, Gene 37:73; Craik, BioTechniques, enero de 1985, 12-19; Smith et al., 1981, Genetic Engineering: Principles and Methods, Plenum Press; y Patentes de Estados Unidos Núms. 4.518.584 y 4.737.462. Estos y otros métodos se pueden utilizar para elaborar, por ejemplo, derivados de proteínas de unión a antígeno LPET que tienen una propiedad deseada, por ejemplo, aumento de la afinidad, avidez, o especificidad para LPET, aumento de la actividad o la estabilidad in vivo o in vitro, o reducción de los efectos secundarios in vivo, en comparación con las proteínas de unión a antígeno no derivatizadas.

30 Otros derivados de las proteínas de unión a antígeno anti-LPET incluyendo anticuerpos dentro del alcance de esta invención incluyen productos conjugados covalentes o agregados de anticuerpos anti-LPET, o sus fragmentos, con otras proteínas o polipéptidos, por ejemplo mediante la expresión de proteínas de fusión recombinantes que comprenden polipéptidos heterólogos fusionados al extremo N o al extremo C de un polipéptido de anticuerpo anti-LPET. Por ejemplo, el péptido conjugado puede ser un polipéptido señal heterólogo (o líder), p. ej., el líder del factor alfa de levadura, o un péptido tal como una etiqueta epítópica. Las proteínas de fusión que contienen proteínas de unión a antígeno pueden comprender péptidos añadidos para facilitar la purificación o identificación de la proteína de unión antígeno (p. ej., poli-His). Una proteína de unión a antígeno también se puede conectar al péptido FLAG como describen. Hopp et al., Bio/Technology 6: 1204, 1988 y la Patente de los Estados Unidos 5.011.912. El péptido FLAG es altamente antigenético y proporciona un epítopo unido reversiblemente por un anticuerpo monoclonal específico (mAb), permitiendo un análisis rápido y una purificación fácil de la proteína recombinante expresada. Los reactivos útiles para la preparación de proteínas de fusión en donde el péptido FLAG se fusiona a un polipéptido dado están disponibles comercialmente (Sigma, St. Louis, MO).

40 Los oligómeros que contienen uno o más proteínas de unión de antígeno se pueden emplear como antagonistas de LPET. Los oligómeros pueden estar en forma de dímeros, trímeros, u oligómeros superiores unidos covalentemente o unidos no covalentemente,. Los oligómeros que comprenden dos o más proteínas de unión a antígeno se contemplan para su uso, siendo un ejemplo un homodímero. Otros oligómeros incluyen heterodímeros, 45 homotriméricos, heterotriméricos, homotetrámeros, heterotetrámeros, etc.

50 Una realización está dirigida a oligómeros que comprenden múltiples anticuerpos unidos a través de interacciones covalentes o no covalentes entre radicales peptídicos fusionados a las proteínas de unión de antígeno. Tales péptidos pueden ser conectores peptídicos (espaciadores), o péptidos que tienen la propiedad de promover la oligomerización. Las cremalleras de leucina y ciertos polipéptidos derivados de anticuerpos están entre los péptidos que pueden promover la oligomerización de las proteínas de unión a antígeno ancladas a los mismos, como se describe en más detalle a continuación.

55 En realizaciones concretas, los oligómeros comprenden de dos a cuatro anticuerpos capaces de unirse a LPET. Los anticuerpos del oligómero pueden estar en cualquier forma, tal como cualquiera de las formas descritas anteriormente, p. ej., variantes o fragmentos.

En una realización, un oligómero se prepara utilizando polipéptidos derivados de inmunoglobulinas. La preparación de proteínas de fusión que comprenden ciertos polipéptidos heterólogos fusionados a diversas porciones de polipéptidos derivados de anticuerpos (incluyendo el dominio Fc) ha sido descrita, por ejemplo, por Ashkenazi et al., 1991, PNAS USA 88: 10535; Byrn et al., 1990, Nature 344: 677; y Hollenbaugh et al., 1992 "Construction of Immunoglobulin Fusion Proteins", en Current Protocols in Immunology, Supl. 4, páginas 10.19.1 - 10.19.11.

Una realización de la presente invención está dirigida a un dímero que comprende dos proteínas de fusión creadas fusionando un fragmento de un anticuerpo anti-LPET a la región Fc de un anticuerpo. El dímero se puede elaborar, por ejemplo, insertando un gen de fusión que codifica la proteína de fusión en un vector de expresión apropiado, expresando la fusión de genes en células anfitrionas transformadas con el vector de expresión recombinante, y permitiendo que la proteína de fusión expresada se ensamble igual que las moléculas de anticuerpo, después de lo cual se forman enlaces disulfuro intercatenarios entre los radicales Fc para producir el dímero.

El término "polipéptido Fc" según se utiliza en la presente memoria incluye formas nativas y de muteína de los polipéptidos derivados de la región Fc de un anticuerpo. También se incluyen las formas truncadas de tales polipéptidos que contienen la región bisagra que promueve la dimerización. Las proteínas de fusión que comprenden radicales Fc (y los oligómeros formados a partir de ellas) ofrecen la ventaja de una fácil purificación mediante cromatografía de afinidad sobre columnas de Proteína A o Proteína G.

Un polipéptido Fc adecuado, descrito en la solicitud PCT WO 93/10151 (incorporada a la presente como referencia), es un polipéptido de cadena sencilla que se extiende desde la región bisagra N-terminal al extremo C nativo de la región Fc de un anticuerpo IgG1 humano. Otro polipéptido Fc útil es la muteína Fc descrita en la Patente de los Estados Unidos 5.457.035 y en Baum et al., 1994, EMBO J. 13: 3.992-4001. La secuencia de aminoácidos de esta muteína es idéntica a la de la secuencia Fc nativa presentada en el documento WO 93/10151, excepto que el aminoácido 19 se ha cambiado de Leu a Ala, el aminoácido 20 se ha cambiado de Leu a Glu, y el aminoácido 22 se ha cambiado de Gly a Ala. La muteína muestra una afinidad reducida por los receptores de Fc.

En otras realizaciones, la porción variable de las cadenas pesada y/o ligera de un anticuerpo anti-LPET se puede sustituir por la porción variable de una cadena pesada y/o ligera de anticuerpo.

Alternativamente, el oligómero es una proteína de fusión que comprende múltiples proteínas de unión a antígeno, con o sin conectores peptídicos (péptidos espaciadores). Entre los conectores peptídicos adecuados están los descritos en las Patentes de los Estados Unidos 4.751.180 y 4.935.233.

Otro método para preparar proteínas de unión a antígeno oligoméricas implica el uso de una cremallera de leucina. Los dominios de cremallera de leucina son péptidos que promueven la oligomerización de las proteínas en las que se encuentran. Las cremalleras de leucina se identificaron originalmente en varias proteínas de unión al ADN (Landschulz et al., 1988, Science 240: 1759), y desde entonces han sido encontrados en una variedad de proteínas diferentes. Entre las cremalleras de leucina conocidas se encuentran los péptidos de origen natural y sus derivados que dimerizan o trimerizan. Los ejemplos de los dominios de cremallera de leucina adecuados para producir proteínas oligoméricas solubles se describen en la Solicitud PCT WO 94/10308, y la cremallera de leucina derivada de la proteína tensioactiva pulmonar D (SPD) descrita por Hoppe et al., 1994, FEBS Letters 344: 191. El uso de una cremallera de leucina modificada que permite la trimerización estable de una proteína heteróloga fusionada a esta es descrita por Fanslow et al., 1994, Semin. Immunol. 6: 267-78. En un enfoque, las proteínas de fusión recombinantes que comprenden un fragmento de anticuerpo anti-LPET o un derivado fusionado a un péptido de cremallera de leucina se expresan en células anfitrionas adecuadas, y los fragmentos de anticuerpos anti-LPET oligoméricos solubles o los derivados que forman se recuperan del sobrenadante de cultivo.

Como se describe en la presente memoria, los anticuerpos comprenden al menos una CDR. Por ejemplo, se pueden incorporar una o más CDR a regiones marco de anticuerpos conocidos (IgG1, IgG2, etc.), o conjugar con un vehículo adecuado para mejorar la vida media del mismo. Los vehículos adecuados incluyen, pero no se limitan a Fc, polietilenglicol (PEG), albúmina, transferrina, y similares. Estos y otros vehículos adecuados son conocidos en la técnica. Tales péptidos de CDR conjugados pueden estar en forma monomérica, dimérica, tetramérica, u otra forma. En una realización, se unen uno o más polímeros solubles en agua a una posición más específica, por ejemplo en el extremo amino, de un agente de unión.

En ciertas realizaciones preferidas, un anticuerpo comprende uno o más anclajes para polímeros solubles en agua, incluyendo, pero no limitados a, polietilenglicol, polioxietilenglicol, o polipropilenglicol. Véanse, p. ej., Las Patentes de los Estados Unidos Núms. 4.640.835. 4.496.689. 4.301.144. 4.670.417. 4.791.192 y 4.179.337. En ciertas realizaciones, un agente de unión derivado comprende uno o más de monometoxi-polietilenglicol, dextrano, celulosa, u otros polímeros basados en hidratos de carbono, poli-(N-vinil pirrolidona)-polietilenglicol, homopolímeros de propilenglicol, un copolímero de óxido de polipropileno/óxido de etileno, polioles polioxietilados (p. ej., glicerol) y poli(alcohol vinílico), así como mezclas de tales polímeros. En ciertas realizaciones, se anclan al azar uno o más polímeros soluble en agua a una o más cadenas laterales. En ciertas realizaciones, el PEG puede actuar mejorando la capacidad terapéutica para un agente de unión, tal como un anticuerpo. Se discuten algunos de dichos métodos, por ejemplo, en la Patente de los Estados Unidos Núm. 6.133.426.,

Se apreciará que un anticuerpo de la presente invención puede tener una sustitución, delección, o adición de al menos un aminoácido siempre que el anticuerpo conserve la especificidad de unión. Por lo tanto, las modificaciones de las estructuras de anticuerpos están incluidas dentro del alcance de la invención. Estos pueden incluir sustituciones de aminoácidos, que pueden ser conservativas o no conservativas, que no destruyen la capacidad de unión a LPET humana de un anticuerpo. Las sustituciones conservativas de aminoácidos pueden abarcar residuos de aminoácidos no naturales, que se incorporan típicamente mediante síntesis peptídica química en lugar de

mediante síntesis en sistemas biológicos. Estos incluyen peptidomiméticos y otras formas revertidas o invertidas de radicales de aminoácidos. Una sustitución conservativa de aminoácidos también puede implicar una sustitución de un residuo de aminoácido nativo por un residuo no nativo de tal manera que haya poco o ningún efecto sobre la polaridad o la carga del residuo de aminoácido en esa posición.

- 5 Las sustituciones no conservativas pueden implicar el intercambio de un miembro de una clase de aminoácidos o miméticos de aminoácidos por un miembro de otra clase con diferentes propiedades físicas (p. ej., tamaño, polaridad, carácter hidrófobo, carga). Tales residuos sustituidos pueden introducirse en regiones del anticuerpo humano que son homólogas a anticuerpos no humanos, o en las regiones no homólogas de la molécula.

Por otra parte, un experto en la técnica puede generar variantes de ensayo que contienen una única sustitución de aminoácido en cada residuo de aminoácido deseado. Las variantes se pueden escrutar a continuación utilizando análisis de actividad conocidos por los expertos en la técnica. Tales variantes podrían ser utilizadas para reunir información acerca de las variantes adecuadas. Por ejemplo, si se descubre que un cambio en un residuo de aminoácido concreto da como resultado una destrucción de la actividad, una actividad reducida no deseada, o una actividad inadecuada, las variantes con un cambio de este tipo pueden ser evitadas. En otras palabras, basándose 10 en la información recopilada a partir de tales experimentos de rutina, un experto en la técnica puede determinar fácilmente los aminoácidos en los que se deben evitar sustituciones adicionales ya sean solas o combinadas con otras mutaciones.

Un experto en la técnica será capaz de determinar las variantes adecuadas del polipéptido que se definen en la presente memoria utilizando mecanismos bien conocidos. En ciertas realizaciones, un experto en la técnica puede 20 identificar zonas adecuadas de la molécula que se pueden cambiar sin destruir su actividad eligiendo como diana regiones que no se cree que sean importantes para la actividad. En ciertas realizaciones, se pueden identificar residuos y porciones de las moléculas que se conservan entre polipéptidos similares. En ciertas realizaciones, incluso las zonas que pueden ser importantes para la actividad biológica o para la estructura pueden ser objeto de 25 sustituciones conservativas de aminoácidos sin destruir la actividad biológica o sin afectar adversamente la estructura de polipéptido.

Adicionalmente, un experto en la técnica puede revisar los estudios de estructura-función que identifican residuos en polipéptidos similares que son importantes para la actividad o la estructura. A la vista de semejante comparación, se 30 puede predecir la importancia de los residuos de aminoácido de una proteína que corresponden a residuos de aminoácido que son importantes para la actividad o estructura en las proteínas similares. Un experto en la técnica puede optar por sustituciones de aminoácidos químicamente similares para tales residuos de aminoácido importantes pronosticados.

Un experto en la técnica también puede analizar la estructura tridimensional y la secuencia de aminoácidos en relación con esa estructura en polipéptidos similares. A la vista de tal información, un experto en la técnica puede 35 predecir el alineamiento de residuos de aminoácido de un anticuerpo con respecto a su estructura tridimensional. En ciertas realizaciones, un experto en la técnica puede elegir no hacer cambios radicales en los residuos de aminoácido que se prevé que están sobre la superficie de la proteína, ya que tales residuos pueden estar involucrados en importantes interacciones con otras moléculas.

Numerosas publicaciones científicas se han dedicado a la predicción de la estructura secundaria. Véase Moult J., Curr. Op. en 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 et al., Ann. Rdo. Biochem., 47: 251-276 y Chou et al., Biophys. J., 26: 367-384 (1979). Por otra parte, actualmente se 40 encuentran disponibles programas informáticos para ayudar en la predicción de la estructura secundaria. Un método de predicción de la estructura secundaria se basa en el modelado por homología. Por ejemplo, dos polipéptidos o proteínas que tienen una identidad de secuencia de más de 30%, o una similitud mayor de 40% a menudo tienen 45 topologías estructurales similares. El reciente crecimiento de las bases de datos estructurales de proteínas (PDB) ha proporcionado una mayor previsibilidad de la estructura secundaria, incluyendo el número potencial de plegamientos dentro de la estructura de un polipéptido o de una proteína. Véase Holm et al., Nucl. Acid. Res., 27(1): 244-247 (1999). Se ha sugerido (Brenner et al., Curr. Op. Struct. Biol., 7(3): 369-376 (1997)) que hay un número limitado de 50 plegamientos en un polipéptido o proteína dados y que una vez que se ha resuelto el número crítico de estructuras, la predicción estructural se hará muchísimo más precisa.

Otros métodos de predicción de la estructura secundaria incluyen "Diseño por homología remota" (Jones, D., Curr. Opin. Struct. Biol., 7(3): 377-87 (1997); Sippl et al., Structure, 4(1): 15-19 (1996)), "análisis del 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)), y "vinculación evolutiva" (Véanse Holm, más arriba (1999), y Brenner, más arriba 55 (1997)).

Un experto en la técnica entenderá que algunas proteínas, tales como los anticuerpos, pueden someterse a una variedad de modificaciones postraduccionales. El tipo y el alcance de estas modificaciones dependen a menudo de la línea de célula anfitriona utilizada para expresar las proteínas, así como las condiciones de cultivo. Tales modificaciones pueden incluir variaciones en la glicosilación, la oxidación de metionina, la de dicetopiperizina, la

isomerización de aspartato y la desamidación de aspárragina. Una modificación frecuente es la pérdida de un residuo alcalino carboxi-terminal (tal como lisina o arginina), debido a la acción de carboxipeptidasas (como describen Harris, R. J. *Journal of Chromatography* 705: 129-134, 1995).

- 5 En ciertas realizaciones, las variantes de anticuerpos incluyen variantes de glicosilación en donde el número y/o tipo de sitio de glicosilación ha sido alterado en comparación con las secuencias de aminoácidos de un polipéptido parental. En ciertas realizaciones, las variantes comprenden un mayor o un menor número de sitios de glicosilación ligados a N que la proteína nativa. Alternativamente, las sustituciones que eliminan esta secuencia eliminarán una cadena de carbohidrato ligada a N existente. También se proporciona un reordenamiento de cadenas de carbohidratos ligadas a N en donde se eliminan uno o más sitios de glicosilación ligados a N (normalmente aquellos que son de origen natural) y se crean uno o más nuevos sitios ligados a N. Otras variantes de anticuerpos preferidos incluyen variantes de cisteína, en donde uno o más residuos de cisteína se eliminan de o se sustituyen por otro aminoácido (p. ej., serina) en comparación con la secuencia de aminoácidos parental. Las variantes de cisteína pueden ser útiles cuando los anticuerpos se deben replegar en una conformación biológicamente activa tal como después del aislamiento de cuerpos de inclusión insolubles. Las variantes de cisteína tienen generalmente menos residuos de cisteína que la proteína nativa, y típicamente tienen un número par para minimizar las interacciones que resultan de las cisteínas no apareadas.

10 Las sustituciones de aminoácidos deseadas (ya sean conservativas o no conservativas) se pueden determinar por los expertos en la técnica en el momento en el que se desean dichas sustituciones. En ciertas realizaciones, las sustituciones de aminoácidos se pueden utilizar para identificar residuos importantes de anticuerpos para LPET humana, o para aumentar o disminuir la afinidad de los anticuerpos para LPET humana descrita en la presente memoria.

15 De acuerdo con ciertas realizaciones, las sustituciones de aminoácidos preferidas son aquellas que: (1) reducen la susceptibilidad a la proteólisis, (2) reducen la susceptibilidad a la oxidación, (3) alteran la afinidad de unión para formar complejos de proteínas, (4) alteran las afinidades de unión, y/o (4) confieren o modifican otras propiedades fisicoquímicas o funcionales a tales polipéptidos. De acuerdo con ciertas realizaciones, se pueden realizar sustituciones de aminoácidos sencillas o múltiples (en determinadas realizaciones, sustituciones de aminoácidos conservativas) en la secuencia de origen natural (en ciertas realizaciones, en la porción del polipéptido fuera del dominio o los dominios que forman los contactos intermoleculares). En ciertas realizaciones, una sustitución de aminoácidos conservativa típicamente puede no cambiar sustancialmente las características estructurales de la secuencia parental (p. ej., un reemplazo de un aminoácido no debe tender a romper una hélice que existe en la secuencia parental, ni alterar otros tipos de la estructura secundaria que caracteriza la secuencia parental). Los ejemplos de las estructuras secundarias y terciarias de polipéptidos reconocidas en la técnica se describen en Proteins, Structures and Molecular Principles (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, Nueva York (1984)); Introduction to Protein Structure (C. Branden y J. Tooze, eds., Garland Publishing, Nueva York, N.Y. (1991)); y Thornton et al. *Nature* 354: 105 (1991).

20 En ciertas realizaciones, los anticuerpos de la invención pueden estar unidos químicamente con polímeros, lípidos, u otros radicales.

25 Además, las proteínas de unión a antígeno pueden comprender al menos una de las CDR descritas en la presente memoria incorporadas a una estructura de marco biocompatible. En un ejemplo, la estructura de marco biocompatible comprende un polipéptido o porción del mismo que es suficiente para formar un soporte estructural o marco, o armazón conformacionalmente estable, que es capaz de mostrar una o más secuencias de aminoácidos que se unen a un antígeno (p. ej., CDR, una región variable, etc.) en una región de la superficie localizada. Tales estructuras pueden ser un polipéptido o "plegamiento" de polipéptido de origen natural (un motivo estructural), o pueden tener una o más modificaciones, tales como las adiciones, delecciones o sustituciones de aminoácidos, en relación con un polipéptido de origen natural o plegamiento. Estos armazones pueden derivar de un polipéptido de cualquier especie (o de más de una especie), tal como un ser humano, otro mamífero, otro vertebrado, invertebrado, planta, bacteria o virus.

30 Típicamente, las estructuras de marco biocompatibles se basan en armazones o esqueletos proteicos diferentes de los dominios de inmunoglobulina. Por ejemplo, se pueden utilizar aquellos basados en fibronectina, anquirina, lipocalina, neocarzinostatina, citocromo b, dedo de zinc CP1, ST1, bobina enrollada, LACI-D1, dominio Z y dominios Tendamistat (Véase, p. ej., Nygren y Uhlen, 1997, *Current Opinion in Structural Biology*, 7, 463-469).

35 Adicionalmente, un experto en la técnica reconocerá que las proteínas de unión a antígeno pueden incluir una o más de las CDR1, CDR2, CDR3 de la cadena pesada, y/o CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena ligera que tienen una sustitución de un aminoácido, siempre que el anticuerpo conserve la especificidad de unión de la CDR no sustituida. 40 La porción distinta de CDR del anticuerpo puede ser una molécula no proteica, en donde el agente de unión bloquea de manera cruzada la unión de un anticuerpo descrito en la presente memoria a LPET humana y/o inhibe la actividad de LPET. La porción distinta de CDR del anticuerpo puede ser una molécula no proteica en la que el anticuerpo presenta un patrón de unión similar a las proteínas LPET humanas en un análisis de unión competitiva como el mostrado por al menos uno de los anticuerpos A1-A27, y/o neutraliza la actividad de LPET. La porción distinta de CDR del anticuerpo puede estar compuesta por aminoácidos, en donde el anticuerpo es una proteína de

unión recombinante o un péptido sintético, y la proteína de unión recombinante bloquea de manera cruzada la unión de un anticuerpo descrito en la presente memoria a LPET humana y/o neutraliza la LPET in vitro o in vivo. La porción distinta de CDR del anticuerpo puede estar compuesta por aminoácidos, en donde el anticuerpo es un anticuerpo recombinante, y el anticuerpo recombinante muestra un patrón de unión similar a los polipéptidos LPET humanos en un análisis de unión competitiva como muestra al menos uno de los anticuerpos A1-A27, y/o neutraliza la actividad de LPET.

Métodos de elaboración de proteínas de unión a antígeno, específicamente anticuerpos.

Una proteína de unión a antígeno tal como un anticuerpo que comprende una o más de CDR1, CDR2, CDR3 de la cadena pesada, y/o CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena ligera como se describe anteriormente, se puede obtener por expresión a partir de una célula anfitriona que contiene ADN que codifica estas secuencias. Un ADN que codifica cada secuencia de CDR se puede determinar basándose en la secuencia de aminoácidos de la CDR y se puede sintetizar junto con cualquier marco región variable de un anticuerpo deseado y las secuencias de ADN de la región constante utilizando técnicas de síntesis de oligonucleótidos, mutagénesis dirigida al sitio y reacción en cadena de la polimerasa (PCR), según proceda. El ADN que codifica los marcos de la región variable y las regiones constantes está ampliamente disponible para los expertos en la técnica a partir de bases de datos de secuencias genéticas, tales como GenBank®.

Otras realizaciones incluyen anticuerpos químéricos, p. ej., versiones humanizadas de anticuerpos monoclonales no humanos (p. ej., murinos). Tales anticuerpos humanizados se pueden preparar mediante técnicas conocidas, y ofrecen la ventaja de una inmunogenicidad reducida cuando los anticuerpos se administran a seres humanos. En una realización, un anticuerpo monoclonal humanizado comprende el dominio variable de un anticuerpo murino (o todo o parte del sitio de unión a antígeno del mismo) y un dominio constante derivado de un anticuerpo humano. Alternativamente, un fragmento de anticuerpo humanizado puede comprender el sitio de unión a antígeno de un anticuerpo monoclonal murino y un fragmento del dominio variable (que carece del sitio de unión a antígeno) derivado de un anticuerpo humano. Los procedimientos para la producción de anticuerpos monoclonales químéricos y adicionalmente manipulados incluyen los descritos por 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 y Winter et al., 1993, *TIPS* 14: 139. En una realización, el anticuerpo químérico es un anticuerpo injertado con CDR. Las técnicas para la humanización de anticuerpos se discuten en, por ejemplo, en las Patentes de los Estados Unidos Núms. 5.869.619, 5.225.539, 5.821.337, 5.859.205, 6.881.557, Padlan et al., 1995, *FASEB J.* 9: 133-39 y Tamura et al., 2000, *J. Immunol.* 164: 1432-41. Otras técnicas para producir anticuerpos humanizados son las descritas por 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; y Clark, M., *Immunology Today*. 21(8): 397-402, 2000).

Se han desarrollado procedimientos para la generación de anticuerpos humanos o parcialmente humanos en animales no humanos. Por ejemplo, se han preparado ratones en los que uno o más genes de inmunoglobulina endógenos han sido inactivados por diversos medios. Los genes de inmunoglobulina humana se han introducido en los ratones para sustituir a los genes inactivados de ratón. Los anticuerpos producidos en el animal incorporan cadenas de polipéptido de inmunoglobulina humana codificados por el material genético humano introducido en el animal. En una realización, un animal no humano, tal como un ratón transgénico, se inmuniza con la proteína LPET, por ejemplo, de tal manera que se generan en el animal los anticuerpos dirigidos contra diversos polipéptidos LPET. Los ejemplos de los inmunógenos adecuados se proporcionan en los Ejemplos a continuación.

Los ejemplos de las técnicas para la producción y utilización de animales transgénicos para la producción de anticuerpos humanos o parcialmente humanos se describen en las Patentes de los Estados Unidos 5.814.318, 5.569.825 y 5.545.806, Davis et al., 2003, *Production of human antibodies from transgenic mice* en Lo, ed. *Antibody Engineering: Methods and Protocols*, Humana Press, NJ: 191-200, 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 de 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 U S A.* 90: 2551-55. Chen, J., M. Trounstein, 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 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., 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. Tuailion et al., 1993, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 90: 3720-24, y Tuailion et al., 1994, *Journal of Immunology* 152: 2912-20.

En otro aspecto, la presente invención proporciona anticuerpos monoclonales que se unen a LPET humana. Los

anticuerpos monoclonales se pueden producir usando cualquier mecanismo conocido en la técnica, p. ej., inmortalizando las células de bazo recogidas del animal transgénico después de la finalización del programa de inmunización. Las células del bazo se pueden inmortalizar utilizando cualquier mecanismo conocido en la técnica, p. ej., fusionándolas con células de mieloma para producir hibridomas. Las células de mieloma para su uso en procedimientos de fusión que producen hibridoma preferiblemente son no productoras de anticuerpos, tienen una alta eficacia de fusión, y deficiencias enzimáticas que las hacen incapaces de crecer en ciertos medios selectivos que soportan el crecimiento solamente de las células fusionadas deseadas (hibridomas). Los ejemplos de las líneas celulares adecuadas para su uso en fusiones de ratón incluyen Sp-20, P3-X63/Ag8, P3-X63-Ag8.653, NS1/1.Ag 4 1, SP210-Ag14, FO, NSO/U, MPC-11, MPC11-X45-GTG 1.7 y S194/5XX0 Bul; los ejemplos de líneas celulares utilizadas en fusiones de rata incluyen R210.RCY3, Y3-Ag 1.2.3, IR983F y 4B210. Otras líneas celulares útiles para las fusiones celulares son U-266, GM1500-GRG2, LICR-LON-HMy2 y UC729-6.

En una realización, se produce una línea de células de hibridoma mediante la inmunización de un animal (p. ej., un animal transgénico que tiene secuencias de inmunoglobulina humana) con un inmunógeno LPET; la recogida de células de bazo del animal inmunizado; la fusión de las células de bazo recogidas con una línea celular de mieloma, generando de ese modo células de hibridoma; el establecimiento de líneas celulares de hibridoma de las células de hibridoma, y la identificación de una línea celular de hibridoma que produce un anticuerpo que se une a un polipéptido LPET. Tales líneas celulares de hibridoma, y los anticuerpos monoclonales de LPET producidos por ellas, están incluidos en la presente invención.

Los anticuerpos monoclonales secretados por una línea celular de hibridoma se pueden purificar utilizando cualquier mecanismo conocido en la técnica. Los hibridomas o mAbs pueden ser escrutados además para identificar mAbs con propiedades concretas, tales como el bloqueo de una actividad de LPET tal como la producción de osteoprotegerina (OPG) a partir de células dendríticas humanas primarias. Ejemplos de tales análisis se proporcionan en los ejemplos a continuación.

La evolución molecular de las regiones determinantes de la complementariedad (CDR) en el centro del sitio de unión del anticuerpo también se ha utilizado para aislar anticuerpos con una mayor afinidad, por ejemplo, como describe Schier et al., 1996, J. Mol. Biol. 263: 551. Por consiguiente, tales técnicas son útiles en la preparación de anticuerpos para LPET humana.

Las proteínas de unión a antígenos dirigidas contra LPET humana se pueden utilizar, por ejemplo, en análisis para detectar la presencia de LPET ya sea in vitro o in vivo.

Aunque los anticuerpos humanos, parcialmente humanos o humanizados serán adecuados para muchas aplicaciones, concretamente las que implican la administración del anticuerpo a un sujeto humano, otros tipos de proteínas de unión a antígeno serán adecuadas para ciertas aplicaciones. Los anticuerpos no humanos pueden ser, por ejemplo, derivados de cualquier animal productor de anticuerpos, tal como ratón, rata, conejo, cabra, burro, o primate no humano (tal como un mono (p. ej., cinomologo o mono rhesus) o simio (p. ej., chimpancé)). Los anticuerpos no humanos se pueden utilizar, por ejemplo, en aplicaciones basadas en el cultivo celular e in vitro, o cualquier otra aplicación en la que no se produce una respuesta inmunitaria al anticuerpo de la invención, es insignificante, se puede prevenir, o no es una preocupación, o no se desea. Un anticuerpo no humano se administra a un sujeto no humano. El anticuerpo no humano no provoca una respuesta inmunitaria en el sujeto no humano. El anticuerpo no humano es de la misma especie que el sujeto no humano, p. ej., un anticuerpo de ratón de la invención se administra a un ratón. Un anticuerpo de una especie concreta se puede elaborar, por ejemplo, inmunizando un animal de esa especie con el inmunógeno deseado o utilizando un sistema artificial para la generación de anticuerpos de la especie (p. ej., un sistema basado en la presentación en bacterias o fagos para la generación de anticuerpos de una especie en particular), o mediante la conversión de un anticuerpo de una especie en un anticuerpo de otra especie mediante el reemplazo, por ejemplo, de la región constante del anticuerpo por una región constante de la otra especie, o mediante el reemplazo de uno o más residuos de aminoácido del anticuerpo de modo que se asemeje más a la secuencia de un anticuerpo de la otra especie. En una realización, el anticuerpo es un anticuerpo químico que comprende las secuencias de aminoácidos derivadas de anticuerpos de dos o más especies diferentes.

Las proteínas de unión a antígeno se pueden preparar mediante cualquiera de una serie de técnicas convencionales. Por ejemplo, se pueden purificar a partir de células que las expresan de forma natural (p. ej., un anticuerpo se puede purificar a partir de un hibridoma que la produce), o se pueden producir en sistemas de expresión recombinantes, utilizando cualquier mecanismo conocido en la técnica. Véase, por ejemplo, Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses, Kennet et al., (eds.), Plenum Press, Nueva York (1980); y Antibodies: A Laboratory Manual, Harlow y Land (eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, (1988).

Se puede utilizar cualquier sistema de expresión conocido en la técnica para elaborar los polipéptidos recombinantes de la invención. En general, las células anfítrionas se transforman con un vector de expresión recombinante que comprende ADN que codifica un polipéptido deseado. Entre las células anfítrionas que se pueden emplear se encuentran células de procariotas, de levaduras o de eucariotas superiores. Los procariotas incluyen organismos gram negativos o gram positivos, por ejemplo E. coli o bacilos. Las células eucarióticas superiores incluyen células

- de insecto y líneas celulares establecidas de origen mamífero. Los ejemplos de las líneas de células anfitrionas de mamífero adecuadas incluyen la línea COS-7 de células de riñón de mono (ATCC CRL 1651) (Gluzman et al., 1981, Cell 23: 175), células L, células 293, células C127, células 3T3 (ATCC CCL 163), células de ovario de hámster chino (células CHO), células HeLa, líneas celulares BHK (ATCC CRL 10), y la línea celular CVI/EBNA derivada de la línea celular de riñón de mono verde africano CVI (ATCC CCL 70) como describen McMahan et al., 1991, EMBO J. 10: 2821. Los vectores de clonación y expresión apropiados para su uso con anfitriones celulares bacterianos, de hongos, levaduras y de mamífero son descritos por Pouwels et al. (*Cloning Vectors: A Laboratory Manual*, Elsevier, Nueva York, 1985).
- Las células transformadas pueden ser cultivadas en condiciones que promueven la expresión del polipéptido, y el polipéptido puede ser recuperado mediante procedimientos de purificación de proteínas convencionales. Uno de tales procedimientos de purificación se describe en los Ejemplos siguientes. Los polipéptidos contemplados para su uso en la presente memoria incluyen polipéptidos de anticuerpos anti-LPET de mamífero recombinantes sustancialmente homogéneos sustancialmente libres de materiales endógenos contaminantes.
- Las proteínas de unión a antígeno se pueden preparar, y escrutar para determinar las propiedades deseadas, por cualquiera de una serie de técnicas conocidas. Algunas de las técnicas implican el aislamiento de un ácido nucleico que codifica una cadena de polipéptido (o parte de la misma) de una proteína de unión a antígeno de interés (p. ej., un anticuerpo de LPET), y la manipulación del ácido nucleico a través de la tecnología del ADN recombinante. El ácido nucleico puede fusionarse con otro ácido nucleico de interés, o alterarse (p. ej., por medio de mutagénesis u otras técnicas convencionales) para añadir, eliminar o sustituir uno o más residuos de aminoácido, por ejemplo.
- Los anticuerpos de cadena sencilla se pueden formar conectando fragmentos del dominio variable de la cadena pesada y ligera (región Fv) a través de un puente de aminoácidos (conector peptídico corto), dando como resultado una cadena polipeptídica sencilla. Tales Fv de cadena sencilla (scFv) se han preparado mediante la fusión de ADN que codifica un conector peptídico entre los ADN que codifican los dos polipéptidos del dominio variable (V_L y V_H). Los polipéptidos resultantes se pueden plegar sobre sí mismos para formar monómeros de unión a antígeno, o pueden formar multímeros (p. ej., dímeros, trímeros, o tetrámeros), dependiendo de la longitud de un conector flexible entre los dos dominios variables (Kortt et al., 1997, Prot. Eng. 10: 423; Kortt et al., 2001, Biomol. Eng. 18: 95-108). Mediante la combinación de diferentes polipéptidos que comprenden V_L y V_H diferentes, se puede formar scFv multiméricos que se unen a diferentes epítopos (Kriangkum et al., 2001, Biomol. Eng. 18: 31-40). Las técnicas desarrolladas para la producción de anticuerpos de cadena sencilla incluyen los descritos en la Patente de Estados Unidos Núm. 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. Los anticuerpos de cadena sencilla derivados de anticuerpos proporcionados en la presente memoria incluyen, pero no se limitan a, los scFv que comprenden las combinaciones de dominios variables L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22, L23H23, L24H24, L25H25, L26H26, y L27H27 están incluidos en la presente invención.
- Una vez sintetizado, el ADN que codifica un anticuerpo de la invención o fragmento del mismo puede ser propagado y expresado de acuerdo con cualquiera de una variedad de procedimientos bien conocidos para la escisión, ligación, transformación y transfección de ácido nucleico utilizando cualquiera de los numerosos vectores de expresión conocidos. Por lo tanto, en ciertas realizaciones puede ser preferible la expresión de un fragmento de anticuerpo en un anfitrión procariota, tal como Escherichia coli (véase, p. ej., Pluckthun et al., 1989 Methods Enzymol. 178: 497-515). En ciertas otras realizaciones, puede ser preferible la expresión del anticuerpo o un fragmento del mismo en una célula anfitriona eucariota, incluyendo levaduras (p. ej., *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, y *Pichia pastoris*), células animales (incluyendo células de mamífero) o células vegetales. Los ejemplos de células animales adecuadas incluyen, pero no se limitan a, células de mieloma (tal como una línea NSO de ratón), COS, CHO o de hibridoma. Los ejemplos de células vegetales incluyen células de tabaco, maíz, soja, y arroz. Se pueden preparar uno o más vectores de expresión replicables que contienen ADN que codifica una variable de anticuerpo y/o una región constante y se pueden utilizar para transformar una línea celular apropiada, por ejemplo, una línea celular de mieloma no productora, tal como una línea NSO de ratón o una bacteria, tal como *E. coli*, en donde tendrá lugar la producción del anticuerpo. Con el fin de obtener una transcripción y una traducción eficaces, la secuencia de ADN en cada vector debe incluir secuencias reguladoras apropiadas, concretamente una secuencia promotora y líder operativamente unida a la secuencia de dominio variable. Los métodos concretos para producir anticuerpos de esta manera son generalmente bien conocidos y se utilizan rutinariamente. Por ejemplo, los procedimientos básicos de la biología molecular son descritos por Maniatis et al. (*Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 2^a ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Nueva York, 1989; véase también Maniatis et al., 3^a ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Nueva York, (2001)). La secuenciación del ADN se puede realizar como describen Sanger et al. (PNAS 74: 5463, (1977)) y el Amersham International plc sequencing handbook, y la mutagénesis dirigida al sitio puede llevarse a cabo de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica (Kramer et al., Nucleic Acids Res. 12: 9441, (1984); Kunkel Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 82: 488-92 (1985); Kunkel et al., Methods in Enzymol. 154: 367-82 (1987); el Anglian Biotechnology Ltd handbook). Además, numerosas publicaciones describen técnicas adecuadas para la preparación de anticuerpos por manipulación de ADN, creación de vectores de expresión, y transformación y cultivo de células apropiadas (Mountain A y Adair, J R en *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews* (ed. Tombs, M P, 10, Capítulo 1, 1992, Intercept, Andover, Reino Unido); "Current Protocols in Molecular Biology", 1999, F. M. Ausubel (ed.), Wiley Interscience, Nueva York).

- Cuando se desea mejorar la afinidad de los anticuerpos de acuerdo con la invención que contienen una o más de las CDR anteriormente mencionadas, se pueden obtener por una serie de protocolos de maduración de afinidad incluyendo el mantenimiento de las CDR (Yang et al., J. Mol. Biol., 254, 392-403, 1995), el barajado de cadenas (Marks et al., Bio/Technology, 10, 779-783, 1992), la utilización de cepas con mutación de *E. coli*. (Low et al., J. Mol. Biol., 250, 350-368, 1996), el barajado de ADN (Patten et al., Curr. Opin. Biotechnol., 8, 724-733, 1997), la presentación en fagos (Thompson et al., J. Mol. Biol., 256, 7-88, 1996) y la PCR (Crameri, et al., Nature, 391, 288-291, 1998). Todos estos métodos de maduración de afinidad son analizados por Vaughan et al. (Nature Biotechnology, 16, 535-539, 1998).
- Otros anticuerpos de acuerdo con la invención se pueden obtener mediante procedimientos de inmunización y fusión celular convencionales como se describe en la presente memoria y conocidos en la técnica. Los anticuerpos monoclonales de la invención pueden ser generados utilizando una variedad de técnicas conocidas. En general, los anticuerpos monoclonales que se unen a antígenos específicos pueden ser obtenidos por métodos conocidos por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Kohler et al., Nature 256: 495, 1975; Coligan et al. (eds.), Current Protocols in Immunology, 1:2.5.12.6.7 (John Wiley & Sons 1991); Patentes de Estados Unidos Núms.. RE 32.011, 15 4.902614, 4, 543.439 y 4.411.993; Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses, Plenum Press, Kennett, McKearn, y Bechtol (eds.) (1980); y Antibodies: A Laboratory Manual, Harlow y Lane (eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press (1988); Picksley et al., "Production of monoclonal antibodies against proteins expressed in *E. coli*," en DNA Cloning 2: Expression Systems, 2^a edición, Glover et al. (eds.), página 93 (Oxford University Press 1995)). Los fragmentos de anticuerpos pueden derivar de los mismos usando cualquier técnica estándar adecuada, tal como la digestión proteolítica u, opcionalmente, mediante digestión proteolítica (por ejemplo, utilizando papaína o pepsina), seguido de reducción suave de los enlaces disulfuro y alquilación. Alternativamente, dichos fragmentos también pueden generarse mediante técnicas de ingeniería genética recombinantes como se describe en la presente memoria.
- Los anticuerpos monoclonales se pueden obtener mediante inyección en un animal, por ejemplo, una rata, un hámster, un conejo, o preferiblemente un ratón, incluyendo por ejemplo uno transgénico o uno con un gen desactivado, como se conoce en la técnica, con un inmunógeno que comprende LPET humana de SEQ ID NO: 2, otras secuencias de polipéptidos de LPET, como se describe en la presente memoria, o un fragmento de las mismas, de acuerdo con métodos conocidos en la técnica y descritos en la presente memoria. La presencia de producción de anticuerpos específicos se puede controlar después de la inyección inicial y/o después de una inyección de refuerzo mediante la obtención de una muestra de suero y la detección de la presencia de un anticuerpo que se une a LPET humana o un fragmento de la misma utilizando cualquiera de varios métodos de inmunodetección conocidos en la técnica y descritos en la presente memoria. De los animales que producen los anticuerpos deseados, se retiran las células linfoides, más comúnmente las células de los ganglios linfáticos o del bazo, para obtener linfocitos B. Los linfocitos B se fusionan con un compañero de fusión de células de mieloma sensibilizado a fármacos, preferiblemente uno que sea singénico con el animal inmunizado y que, opcionalmente, tenga otras propiedades deseables (p. ej., incapacidad para expresar productos de genes de Ig endógenos, p. ej., P3X63 - Ag 8.653 (ATCC No. CRL 1580); NSO, SP20) para producir hibridomas, que son líneas celulares eucariotas inmortales.
- Las células linfoides (p. ej., bazo) y las células de mieloma se pueden combinar durante unos pocos minutos con un agente promotor de la fusión de membranas, tal como polietilenglicol o un detergente no iónico, y después se cultivan en placa a baja densidad en un medio selectivo que apoya el crecimiento de células de hibridoma, pero no de las células de mieloma no fusionadas. Un medio de selección preferido es HAT (hipoxantina, aminopterina, timidina). Después de un tiempo suficiente, por lo general alrededor de una a dos semanas se observan las colonias de células. Las colonias individuales se aislan, y los anticuerpos producidos por las células se pueden someter a ensayo para determinar la actividad de unión a LPET humana utilizando uno cualquiera de una variedad de inmunoanálisis conocidos en la técnica y descritos en la presente memoria. Los hibridomas se clonian (p. ej., mediante clonación por dilución limitada o por aislamiento en placa de agar blando) y los clones positivos que producen un anticuerpo específico para LPET humana se seleccionan y se cultivan. Los anticuerpos monoclonales de los cultivos de hibridoma se pueden aislar de los sobrenadantes de cultivos de hibridomas.
- Un método alternativo para la producción de un anticuerpo monoclonal murino consiste en inyectar las células de hibridoma en la cavidad peritoneal de un ratón singénico, por ejemplo, un ratón que se ha tratado (p. ej., cebado con pristano) para promover la formación de fluido de ascitis que contiene el anticuerpo monoclonal. Los anticuerpos monoclonales pueden ser aislados y purificados mediante una variedad de técnicas bien establecidas. Tales técnicas de aislamiento incluyen cromatografía de afinidad con Proteína-A Sepharose, cromatografía de exclusión por tamaño, y cromatografía de intercambio iónico (véase, por ejemplo, Coligan en las páginas 2.7.1-2.7.12 y las páginas 2.9.1-2.9.3; Baines et al., "Purification of Immunoglobulin G (IgG)", en Methods in Molecular Biology, Vol. 10, páginas 79-104 (The Humana Press, Inc. 1992)). Los anticuerpos monoclonales pueden ser purificados por medio de cromatografía de afinidad utilizando un ligando apropiado seleccionado basándose en las propiedades particulares del anticuerpo (p. ej., isotipo de cadena pesada o ligera, especificidad de unión, etc.). Los ejemplos de un ligando adecuado, inmovilizado sobre un soporte sólido, incluyen proteína A, proteína G, un anticuerpo anti-región constante (cadena ligera o cadena pesada), un anticuerpo anti-idiotípico, y LPET, o un fragmento o variante de la misma.

Un anticuerpo de la presente invención también puede ser un anticuerpo monoclonal completamente humano. Los anticuerpos monoclonales completamente humanos pueden ser generados por cualquiera de las numerosas técnicas descritas anteriormente. Tales métodos incluyen adicionalmente, pero no se limitan a transformación con Virus Epstein Barr (EBV) de células de sangre periférica humana (p. ej., que contiene linfocitos B), inmunización in vitro de células B humanas, fusión de células de bazo de ratones transgénicos inmunizados que portan genes de inmunoglobulina humana insertados, aislamiento a partir de bibliotecas en fagos de la región V de inmunoglobulina humana, u otros procedimientos como se conocen en la técnica y basados en la descripción de la presente memoria. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales completamente humanos se pueden obtener a partir de ratones transgénicos que han sido manipulados para producir anticuerpos humanos específicos en respuesta a una sensibilización antigénica. Se describen métodos para obtener anticuerpos completamente humanos a partir de ratones transgénicos, por ejemplo, en Green et al., *Nature Genet.* 7: 13, 1994; Lonberg et al., *Nature* 368: 856, 1994; Taylor et al., *Int. Immun.* 6: 579, 1994; Patente de Estados Unidos Núm. 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. En esta técnica, los elementos del locus de la cadena pesada y ligera humana se introducen en cepas de ratones derivadas de líneas de células madre embrionarias que contienen interrupciones específicas de los loci de la cadena pesada y la cadena ligera endógenas (véase también Bruggemann et al., *Curr. Opin. Biotechnol.* 8: 455-58 (1997)). Por ejemplo, los transgenes de inmunoglobulina humana pueden ser constructos de mini-genes, o transloci en cromosomas artificiales de levadura, que se someten a reordenamiento de ADN específico de las células B e hipermutación en el tejido linfoide de ratón. Los anticuerpos monoclonales completamente humanos se pueden obtener mediante la inmunización de los ratones transgénicos, que pueden producir a continuación anticuerpos humanos específicos para LPET humana. Las células linfoideas de los ratones transgénicos inmunizados se pueden utilizar para producir hibridomas que secretan anticuerpos humanos de acuerdo con los métodos descritos en la presente memoria. Los sueros policlonales que contienen los anticuerpos completamente humanos también se puede obtener a partir de la sangre de los animales inmunizados.

Un método ilustrativo para la generación de anticuerpos humanos de la invención incluye la inmortalización de células de sangre periférica humana mediante transformación con EBV, como se describe, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos Núm. 4.464.456. Dicha línea de células B inmortalizada (o línea de células linfoblastoides) que produce un anticuerpo monoclonal que se une específicamente a LPET humana se puede identificar por métodos de inmunodetección como los proporcionados en la presente memoria, por ejemplo, un ELISA, y después se puede aislar mediante técnicas de clonación convencionales. La estabilidad de la línea celular linfoblastoide que produce un anticuerpo anti-LPET puede ser mejorada mediante la fusión de la línea celular transformada con un mieloma murino para producir una línea celular híbrida de ratón-humano de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica (véase, p. ej., Glasky et al, *Hybridoma* 8: 377-89 (1989)). Otro método más para generar anticuerpos monoclonales humanos es la inmunización in vitro, que incluye el cebado de células B esplénicas humanas con LPET humana seguido de la fusión de las células B cebadas con un compañero de fusión heterohíbrido. Véase, p. ej., Boerner et al., 1991 *J. Immunol.* 147: 86-95.

En ciertas realizaciones, se selecciona una célula B que está produciendo un anticuerpo anti-LPET humana y se clonian las regiones variables de la cadena ligera y la cadena pesada a partir de la célula B de acuerdo con los mecanismos de la biología molecular conocidos en la técnica (documento WO 92/02551; Patente de los Estados Unidos Núm. 5.627.052; Babcock et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93: 7843-48 (1996)) y descritos en la presente memoria. Las células B de un animal inmunizado se pueden aislar del bazo, de ganglio linfático, o de muestras de sangre periférica mediante la selección de una célula que está produciendo un anticuerpo que se une específicamente a LPET. Las células B también se pueden aislar de seres humanos, por ejemplo, de una muestra de sangre periférica. Los métodos para detectar células B individuales que están produciendo un anticuerpo con la especificidad deseada son bien conocidos en la técnica, por ejemplo, por la formación de placa, clasificación de células activadas por fluorescencia, estimulación in vitro seguido por la detección de anticuerpos específicos, y similares. Los métodos para la selección de células B productoras de anticuerpos específicos incluyen, por ejemplo, la preparación de una suspensión de células individuales de células B en agar blando que contiene LPET humana. La unión del anticuerpo específico producido por la célula B al antígeno da como resultado la formación de un complejo, que puede ser visible como un inmunoprecipitado. Después se seleccionan las células B que producen el anticuerpo deseado, los genes de anticuerpos específicos se pueden clonar mediante el aislamiento y amplificación de ADN o ARNm de acuerdo con métodos conocidos en la técnica y descritos en la presente memoria.

Un método adicional para la obtención de anticuerpos de la invención es mediante presentación en fagos. Véase, p. ej., Winter et al., 1994 *Annu. Rev. Immunol.* 12: 433-55; Burton et al., 1994 *Adv. Immunol.* 57: 191-280. Se pueden crear bibliotecas combinatorias de genes de la región variable de inmunoglobulina humana o murina en vectores de fago que pueden ser escrutados para seleccionar fragmentos de Ig (Fab, Fv, sFv o multímeros de los mismos) que se unen específicamente a LPET o una variante o fragmento de la misma. Véase, p. ej., la Patente de Estados Unidos Núm. 5.223.409; Huse et al., 1989 *Science* 246: 1275-1281; 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 y las referencias citadas en el mismo. Por ejemplo, una biblioteca que contiene una pluralidad de secuencias de polinucleótidos que codifican fragmentos de la región variable de Ig se puede insertar en el genoma de un bacteriófago filamentoso, tal como M13 o una variante del mismo, en marco con la secuencia que codifica una

proteína de la cubierta del fago. Una proteína de fusión puede ser una fusión de la proteína de la cubierta con el dominio de la región variable de cadena ligera y/o con el dominio de la región variable de cadena pesada. De acuerdo con ciertas realizaciones, los fragmentos Fab de inmunoglobulina también se pueden presentar en una partícula de fago (véase, p. ej., la Patente de Estados Unidos Núm. 5.698.426).

- 5 También se pueden preparar bibliotecas de expresión de ADNc de inmunoglobulina de cadena pesada y ligera en el fago lambda, por ejemplo, utilizando los vectores λ ImmunoZap™ (H) y λ ImmunoZap™ (L) (Stratagene, La Jolla, California). Brevemente, el ARNm se aisla de una población de células B, y se utiliza para crear bibliotecas de expresión de ADNc de inmunoglobulina de cadena pesada y ligera en los vectores λ ImmunoZap (H) y λ ImmunoZap (L). Estos vectores se pueden escrutar individualmente o expresar simultáneamente para formar fragmentos Fab o anticuerpos (véase Huse et al., más arriba; véase también Sastry et al., más arriba). Las placas positivas se pueden convertir posteriormente en un plásmido no lítico que permita un elevado nivel de expresión de fragmentos de anticuerpos monoclonales a partir de E. coli.

En una realización, en un hibridoma las regiones variables de un gen que expresa un anticuerpo monoclonal de interés se amplifican utilizando cebadores de nucleótidos. Estos cebadores pueden ser sintetizados por un experto normal en la técnica, o se pueden comprar de fuentes disponibles comercialmente. (Véase, p. ej., Stratagene (La Jolla, California), que vende cebadores para regiones variables de ratón y humanas incluyendo, entre otros, los cebadores para las regiones $V_{H\alpha}$, $V_{H\beta}$, $V_{H\gamma}$, $V_{H\delta}$, C_{H1} , V_L y C_L). Estos cebadores se pueden utilizar para amplificar regiones variables de cadena pesada o ligera, que pueden ser insertadas a continuación en vectores tales como ImmunoZAP™ H o ImmunoZAP™ L (Stratagene), respectivamente. Estos vectores se pueden introducir a continuación en E. coli, levadura, o sistemas basados en mamíferos para su expresión. Se pueden producir grandes cantidades de una proteína de cadena sencilla que contienen una fusión de los dominios V_H y V_L utilizando estos métodos (véase Bird et al., Science 242: 423-426, 1988).

Una vez que se han obtenido las células productoras de anticuerpos de acuerdo con la invención utilizando cualquiera de las técnicas de inmunización descritas anteriormente y otras técnicas, los genes de anticuerpos específicos se pueden clonar mediante el aislamiento y amplificación de ADN o ARNm de los mismos de acuerdo con procedimientos convencionales descritos en la presente memoria. Los anticuerpos producidos a partir de los mismos pueden ser secuenciados y las CDR identificadas y el ADN que codifica las CDR puede ser manipulado como se ha descrito anteriormente para generar otros anticuerpos de acuerdo con la invención.

30 Los anticuerpos humanos anti-LPET de la presente invención preferiblemente modulan la actividad de LPET en uno de los análisis basados en células descritos en la presente memoria y/o el análisis in vivo descrito en la presente memoria y/o el bloqueo cruzado de la unión de uno de los anticuerpos descritos en esta solicitud y/o bloquean de manera cruzada la unión de LPET por uno de los anticuerpos descritos en esta solicitud. Son particularmente útiles las proteínas de unión a antígeno que compiten de manera cruzada con un anticuerpo ilustrativo descrito en la presente memoria, es decir, bloquean de manera cruzada la unión de uno de los anticuerpos ilustrativos descritos en esta solicitud y la unión de LPET resulta bloqueada de manera cruzada por uno de los anticuerpos ilustrativos. Por consiguiente se pueden identificar tales agentes de unión utilizando los análisis descritos en la presente memoria.

40 En ciertas realizaciones, los anticuerpos se generan identificando primero los anticuerpos que se unen a LPET y/o la neutralizan en los análisis basados en células descritos en la presente memoria y/o bloquean de manera cruzada los anticuerpos descritos en esta solicitud y/o se bloquean de manera cruzada la unión de LPET por uno de los anticuerpos descritos en esta solicitud. Las regiones CDR de estos anticuerpos se utilizan a continuación para la inserción en marcos biocompatibles apropiados para generar proteínas de unión a antígeno. La porción distinta de CDR del agente de unión puede estar compuesta por aminoácidos, o puede ser una molécula no proteica. Los análisis descritos en la presente memoria permiten la caracterización de agentes de unión. Preferiblemente, los agentes de unión de la presente invención son anticuerpos como los definidos en la presente memoria.

45 Los anticuerpos humanos anti-LPET de la presente invención incluyen aquellas que se unen al mismo epítopo que un anticuerpo ilustrativo descrito en la presente memoria. Como se comenta en el Ejemplo 9, los epítopos pueden ser estructurales o funcionales. Los epítopos estructurales pueden ser considerados como el parche de la diana que está cubierto por el anticuerpo. Los epítopos funcionales son un subconjunto de los epítopos estructurales y comprenden aquellos residuos que contribuyen directamente a la afinidad de la interacción (p. ej., enlaces de hidrógeno, interacciones iónicas). Un método para determinar el epítopo de un anticuerpo consiste en la utilización de mutaciones de barrido en la molécula diana y la medición del efecto de la mutación sobre la unión. Dada la estructura tridimensional de la región de unión del anticuerpo, las mutaciones en el epítopo pueden disminuir o aumentar la afinidad de unión del anticuerpo por la diana mutada.

55 Las proteínas de unión a antígeno se pueden definir por sus epítopos. Como se observa en la Tabla 6, aunque los anticuerpos pueden unirse todos a LPET, se ven afectados de manera diferente por la mutación de determinados residuos en LPET, una indicación de que sus respectivos epítopos no se solapan completamente. Las proteínas de unión a antígeno preferidas incluyen aquellas que comparten al menos una porción del epítopo estructural de un anticuerpo de referencia descrito en la presente memoria.

Por ejemplo, una proteína de unión a antígeno preferida es una que comparte al menos una porción del mismo

- epítopo estructural que A2. Esto se evidencia por un aumento de la afinidad de unión en comparación con LPET de tipo salvaje cuando LPET tiene una mutación K67E, K97E, K98E, R100E, K101E, o K103E. Esto también puede ser evidenciado por una disminución de la afinidad de unión en comparación con LPET de tipo salvaje cuando LPET tiene una mutación K21E, T25R, S28R, S64R, o K73E. Aunque la proteína de unión a antígeno y A2 pueden resultar afectados de manera similar por algunas mutaciones y no por otras, cuanto mayor identidad hay entre la proteína de unión a antígeno y A2 sobre el efecto de las mutaciones en ciertos residuos de LPET, más comparten la proteína de unión a antígeno y el anticuerpo de referencia un epítopo estructural.
- Otra proteína de unión a antígeno preferida es una que comparte al menos una porción del mismo epítopo estructural que A4. Esto se evidencia por un aumento de la afinidad de unión en comparación con LPET de tipo salvaje cuando LPET tiene la mutación K97E, K98E, R100E, K101E, o K103E. Esto también puede ser evidenciado por una disminución de la afinidad de unión en comparación con LPET de tipo salvaje cuando LPET tiene la mutación K10E, A14R, K21 E, D22R, K73E, K75E, o A76R.
- Otra proteína de unión a antígeno preferido es una que comparte al menos una porción del mismo epítopo estructural que A5. Esto se evidencia por una disminución en la afinidad de unión en comparación con LPET de tipo salvaje cuando LPET tiene la mutación K12E, D22R, S40R, R122E, N124E, R125E, o K129E.
- Otra proteína de unión a antígeno preferida es una que comparte al menos una porción del mismo epítopo estructural que A6. Esto se evidencia por una disminución en la afinidad de unión en comparación con LPET de tipo salvaje cuando LPET tiene la mutación S40R, S42R, H46R, R122E, o K129E.
- Otra proteína de unión a antígeno preferida es una que comparte al menos una porción del mismo epítopo estructural que A7. Esto se evidencia por un aumento de la afinidad de unión en comparación con LPET de tipo salvaje cuando LPET tiene una mutación K101E. Esto también puede ser evidenciado por una disminución de la afinidad de unión en comparación con LPET de tipo salvaje cuando LPET tiene una mutación D2R, T4R, D7R, S42R, H46R, T49R, E50R, Q112R, R122E, R125E o K129E.
- Otra proteína de unión a antígeno preferida es una que comparte al menos una porción del mismo epítopo estructural que A10. Esto se evidencia por un aumento de la afinidad de unión en comparación con LPET de tipo salvaje cuando LPET tiene una mutación K97E, K98E, R100E, K101E, o K103E. Esto también puede ser evidenciado por una disminución de la afinidad de unión en comparación con LPET de tipo salvaje LPET cuando LPET tiene la mutación N5R, S17R, T18R, K21E, D22R, T25R, T33R, H46R, A63R, S64R, A66R, E68R, K73E, K75E , A76R, A92R, T93R, Q94R, o A95R.
- Otra proteína de unión a antígeno preferida es una que comparte al menos una porción del mismo epítopo estructural que A21. Esto se evidencia por un aumento de la afinidad de unión en comparación con LPET de tipo salvaje cuando LPET tiene una mutación K97E, K98E, R100E, K101E, o K103E. Esto también puede ser evidenciado por una disminución de la afinidad de unión en comparación con LPET de tipo salvaje cuando LPET tiene una mutación K21E, K21R, D22R, T25R, T33R, S64R, K73E, K75E, E111R, o S114R.
- Otra proteína de unión a antígeno preferida es una que comparte al menos una porción del mismo epítopo estructural que A23. Esto se evidencia por un aumento de la afinidad de unión en comparación con LPET de tipo salvaje cuando LPET tiene una mutación K67E, K97E, K98E, R100E, K101E, o K103E. Esto también puede ser evidenciado por una disminución de la afinidad de unión en comparación con LPET de tipo salvaje cuando LPET tiene la mutación E9R, K10E, K12E, A13R, S17R, S20R, K21E, K21R, K73E, K75E, N124E, o R125E.
- Otra proteína de unión a antígeno preferida es una que comparte al menos una porción del mismo epítopo estructural que A26. Esto se evidencia por un aumento de la afinidad de unión en comparación con LPET de tipo salvaje cuando LPET tiene una mutación K97E, K98E, R100E, K101E, o K103E. Esto también puede ser evidenciado por una disminución de la afinidad de unión en comparación con LPET de tipo salvaje cuando LPET tiene una mutación A14R, K21E, D22R, A63R, S64R, K67E, K73E, A76R, A92R, o A95R.
- La comparación de las mutaciones que afectan a la unión entre el anticuerpo, sugiere que ciertos residuos de LPET tienden a ser parte de la capacidad de los anticuerpos para unirse a LPET y bloquear la actividad de LPET. Tales residuos incluyen K21, D22, K73 y K129. Por lo tanto, la proteína de unión a antígeno preferida incluye aquellas que tienen una mayor afinidad por LPET de tipo salvaje que por una LPET que comprende la mutación K21E, aquellas que tienen una mayor afinidad por LPET de tipo salvaje LPET que por una LPET que comprende la mutación D21 R, aquellas que tienen una mayor afinidad por LPET de tipo salvaje que por una LPET que comprende la mutación K73E, y aquellas que tienen una mayor afinidad por LPET de tipo salvaje que por una LPET que comprende la mutación K129E.
- Además, muchas de las proteínas de unión a antígeno ilustrativas descritas en la presente memoria comparten el atributo de que la afinidad para LPET aumenta cuando el parche alcalino de aminoácidos en las posiciones 97-103 se cambia a aminoácidos ácidos.

Ácidos nucleicos

En un aspecto, la presente invención proporciona moléculas de ácido nucleico aisladas. Los ácidos nucleicos comprenden, por ejemplo, los polinucleótidos que codifican toda o parte de una proteína de unión al antígeno, por ejemplo, una o ambas cadenas de un anticuerpo de la invención, o un fragmento, derivado, muteína, o variante de las mismas, polinucleótidos suficientes para su uso como sondas de hibridación, cebadores de PCR o cebadores de secuenciación para identificar, analizar, mutar o amplificar un polinucleótido que codifica un polipéptido, ácidos nucleicos antisentido para inhibir la expresión de un polinucleótido, y secuencias complementarias de los anteriores. Los ácidos nucleicos pueden tener cualquier longitud. Pueden tener, por ejemplo, 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 o más nucleótidos de longitud, y/o pueden comprender una o más secuencias adicionales, por ejemplo, secuencias reguladoras, y/o pueden ser parte de un ácido nucleico más grande, por ejemplo, un vector. Los ácidos nucleicos pueden ser de hebra sencilla o de doble hebra y pueden comprender nucleótidos de ARN y/o los nucleótidos del ADN, y variantes artificiales de los mismos (p. ej., ácidos peptidonucleicos).

Los ácidos nucleicos que codifican polipéptidos de anticuerpo (p. ej., cadena pesada o ligera, dominio variable solamente, o de longitud completa) se pueden aislar de las células B de ratones que han sido inmunizados con un antígeno LPET. El ácido nucleico puede ser aislado por procedimientos convencionales tales como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Las secuencias de ácido nucleico que codifican las regiones variables de las regiones variables de cadena pesada y ligera se han mostrado anteriormente. El experto en la técnica apreciará que, debido a la degeneración del código genético, cada una de las secuencias de polipéptidos descritas en la presente memoria está codificada por un gran número de otras secuencias de ácidos nucleicos. La presente invención proporciona cada secuencia de nucleótidos degenerada que codifica cada proteína de unión a antígeno de la invención.

La invención proporciona adicionalmente ácidos nucleicos que hibridan con otros ácidos nucleicos (p. ej., ácidos nucleicos que comprenden una secuencia de nucleótidos de cualquiera de A1-A27) en condiciones de hibridación concretas. Los métodos para la hibridación de ácidos nucleicos son bien conocidos en la técnica. Véanse, p. ej., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. Como se define en la presente memoria, una condición de hibridación moderadamente rigurosa utiliza una solución de prelavado que contiene 5X cloruro de sodio/citrato de sodio (SSC), SDS al 0,5%, EDTA 1,0 mM (pH 8,0), tampón de hibridación de formamida a aproximadamente 50%, 6X SSC, y una temperatura de hibridación de 55°C (u otras soluciones de hibridación similares, tales como una que contiene formamida a aproximadamente 50%, con una temperatura de hibridación de 42°C), y unas condiciones de lavado de 60°C, en 0,5X SSC, SDS al 0,1%. Unas condiciones de hibridación rigurosas son 6X SSC a 45°C, seguido de uno o más lavados en 0,1X SSC, SDS al 0,2% a 68°C. Además, un experto en la técnica puede manipular las condiciones de hibridación y/o lavado para aumentar o disminuir el rigor de hibridación de manera que los ácidos nucleicos que comprenden secuencias de nucleótidos que son idénticas entre sí en al menos 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98 o 99% permanecen típicamente hibridadas entre sí. Los parámetros básicos que afectan a la elección de las condiciones de hibridación y la orientación para idear condiciones adecuadas se exponen, por ejemplo, en Sambrook, Fritsch, y Maniatis (1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., capítulos 9 y 11; y en Current Protocols in Molecular Biology, 1995, Ausubel et al., Eds., John Wiley & Sons, Inc., secciones 2.10 y 6.3 a 6.4), y pueden ser fácilmente determinados por los expertos en la técnica basándose, por ejemplo, en la longitud y/o composición de bases del ADN.

Se pueden introducir cambios por medio de mutación en un ácido nucleico, lo que conduce a cambios en la secuencia de aminoácidos del polipéptido (p. ej., una proteína de unión a antígeno) que codifica. Las mutaciones pueden introducirse usando cualquier mecanismo conocido en la técnica. En una realización, se cambian uno o más residuos de aminoácidos concretos utilizando, por ejemplo, un protocolo de mutagénesis dirigida al sitio. En otra realización, uno o más residuos seleccionados aleatoriamente se cambian utilizando, por ejemplo, un protocolo de mutagénesis al azar. Se realice como se realice, un polipéptido mutante puede ser expresado y escrutado para determinar una propiedad deseada.

Se pueden introducir mutaciones en un ácido nucleico sin alterar significativamente la actividad biológica del polipéptido que codifica. Por ejemplo, se pueden realizar sustituciones de nucleótidos que conducen a sustituciones de aminoácidos en residuos de aminoácidos no esenciales. Una secuencia de nucleótidos proporcionada en la presente memoria para A1-A27, o un fragmento, variante, o derivado deseado de la misma, se muta de tal manera que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende una o más delecciones o sustituciones de residuos de aminoácidos que se muestran en la presente memoria para que A1-A27 sean los residuos en los que dos o más secuencias difieren. La mutagénesis inserta un aminoácido adyacente a uno o más residuos de aminoácido que se muestran en la presente memoria para que A1-A27 sean los residuos en los que se diferencian dos o más secuencias. Alternativamente, se pueden introducir una o más mutaciones en un ácido nucleico que cambian selectivamente la actividad biológica (p. ej., la unión a LPET) del polipéptido que codifica. Por ejemplo, la mutación puede cambiar cuantitativamente o cualitativamente la actividad biológica. Los ejemplos de los cambios cuantitativos incluyen el aumento, reducción o eliminación de la actividad. Los ejemplos de cambios cualitativos incluyen el cambio de la especificidad por el antígeno de una proteína de unión a antígeno.

En otro aspecto, la presente invención proporciona moléculas de ácido nucleico que son adecuadas para su uso

como cebadores o sondas de hibridación para la detección de secuencias de ácido nucleico de la invención. Una molécula de ácido nucleico de la invención puede comprender sólo una porción de una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido completo de la invención, por ejemplo, un fragmento que puede utilizarse como sonda o cebador o un fragmento que codifica una porción activa (p. ej., una porción de unión a LPET) de un polipéptido de la invención.

Las sondas basadas en la secuencia de un ácido nucleico de la invención se pueden utilizar para detectar el ácido nucleico o ácidos nucleicos similares, por ejemplo, transcritos que codifican un polipéptido de la invención. La sonda puede comprender un grupo marcador, p. ej., un radioisótopo, un compuesto fluorescente, una enzima, o un cofactor enzimático. Tales sondas se pueden utilizar para identificar una célula que expresa el polipéptido.

10 En otro aspecto, la presente invención proporciona vectores que comprenden un ácido nucleico que codifica un polipéptido de la invención o una porción del mismo. Los ejemplos de vectores incluyen, pero no se limitan a, plásmidos, vectores virales, vectores no episomales de mamífero y vectores de expresión, por ejemplo, vectores de expresión recombinantes.

15 Los vectores de expresión recombinantes de la invención pueden comprender un ácido nucleico de la invención en una forma adecuada para la expresión del ácido nucleico en una célula anfitriona. Los vectores de expresión recombinantes incluyen una o más secuencias reguladoras, seleccionadas basándose en las células anfitrionas que se van a utilizar para la expresión, que están unidas operativamente a la secuencia de ácido nucleico que se va a expresar. Las secuencias reguladoras incluyen aquellas que dirigen la expresión constitutiva de una secuencia de nucleótidos en muchos tipos de células anfitrionas (p. ej. potenciador del gen temprano de SV40, promotor del virus 20 del sarcoma de Rous y promotor de citomegalovirus), aquellas que dirigen la expresión de la secuencia de nucleótidos sólo en ciertas células anfitrionas (p. ej., secuencias reguladoras específicas de tejidos, véase Voss et al., 1986, Trends Biochem. Sci. 11: 287, Maniatis et al., 1987, Science 236: 1237, y aquellas que dirigen la expresión inducible de una secuencia de nucleótidos en respuesta a un tratamiento o estado concretos (p. ej., el promotor de metalotioneina en células de mamífero y el promotor sensible a tet y/o estreptomicina en sistemas tanto procarióticos 25 como eucarióticos (véase, id.). Los expertos en la técnica apreciarán que el diseño del vector de expresión puede depender de factores tales como la elección de la célula anfitriona a transformar, el nivel de expresión de proteína deseado, etc. Los vectores de expresión de la invención se pueden introducir en células anfitrionas para producir de ese modo proteínas o péptidos, incluyendo proteínas o péptidos de fusión, codificados por ácidos nucleicos como los descritos en la presente memoria.

30 En otro aspecto, la presente invención proporciona células anfitrionas en las cuales se ha introducido un vector de expresión recombinante de la invención. Una célula anfitriona puede ser cualquier célula procariótica (por ejemplo, *E. coli*) o célula eucariótica (por ejemplo, células de levaduras, insectos, o mamíferos (p. ej., células CHO)). El ADN del vector puede introducirse en células procarióticas o eucarióticas mediante técnicas de transformación o transfección convencionales. Para la transfección estable de células de mamífero, se sabe que, dependiendo del 35 vector de expresión y de la técnica de transfección utilizada, sólo una pequeña fracción de las células puede integrar el ADN foráneo en su genoma. Con el fin de identificar y seleccionar estos integrantes, se introduce generalmente en las células anfitrionas un gen que codifica un marcador seleccionable (p. ej., para la resistencia a antibióticos) junto con el gen de interés. Los marcadores seleccionables preferidos incluyen aquellos que confieren resistencia a fármacos, tales como G418, higromicina y metotrexato. Las células transfectadas de forma estable con el ácido 40 nucleico introducido pueden identificarse por medio de selección de fármacos (p. ej., las células que hayan incorporado el gen marcador seleccionable sobrevivirán, mientras que las otras células morirán), entre otros métodos.

Indicaciones

45 La LPET está involucrada en la promoción de diversos trastornos inflamatorios, en particular trastornos inflamatorios alérgicos. Según se utiliza en la presente memoria, el término "inflamación alérgica" se refiere a las manifestaciones de respuestas inmunológicas relacionadas con la inmunoglobulina E (IgE). (Manual of Aergy and Immunology, Capítulo 2, Alvin M. Sanico, Bruce S. Bochner, y Sarbjit S. Saini, Adelman et al., ed., Lippincott, Williams, Wilkins, Filadelfia, PA, (2002)). La inflamación alérgica según se utiliza en la presente memoria se caracteriza generalmente por la infiltración en el tejido afectado de las células T coadyuvantes de tipo 2 (células T_H2) (Kay, más arriba). La inflamación alérgica incluye las enfermedades inflamatorias pulmonares tales como rinosinusitis alérgica, asma, conjuntivitis alérgica, además de las condiciones inflamatorias de la piel tales como la dermatitis atópica (Manual of Aergy and Immunology, más arriba). Según se utiliza en la presente memoria, el término "inflamación alérgica relacionada con LPET" se refiere a las condiciones de inflamación alérgica en las que la LPET está regulada al alza, o se demuestra que ésta está implicada de otra manera.

55 El asma alérgica es un trastorno inflamatorio crónico de las vías respiratorias caracterizado por eosinofilia de las vías respiratorias, altos niveles de IgE en suero y activación de los mastocitos, que contribuyen a la hiperreactividad de las vías respiratorias, el daño epitelial y la hipersecreción de moco (Wills-Karp, M, Ann. Rev. Immunol. 17: 255-281 (1999), Manual of Aergy and Immunology, más arriba). Los estudios han demostrado que se encuentran presentes diversos grados de inflamación crónica en las vías respiratorias de todos los asmáticos, incluso durante los períodos libres de síntomas. En individuos susceptibles, esta inflamación causa episodios recurrentes de sibilancias, disnea,

- opresión en el pecho y tos. (Manual of Allergy and Immunology, más arriba).
- La dermatitis atópica es una enfermedad inflamatoria crónica de la piel pruriginosa caracterizada por lesiones de la piel, con una IgE total en suero elevada, eosinofilia, y aumento de la liberación de histamina de los basófilos y mastocitos. Las personas que padecen dermatitis atópica muestran respuestas TH2 exageradas y se piensa que el inicio de las lesiones de la dermatitis atópica está mediado por una infiltración temprana de la piel de linfocitos TH2 que liberan altos niveles de IL-4, IL-5 e IL-13 (Leung, J. Allergy Clin Immunol 105: 860-76 (2000)). La relación entre la LPET y otras citoquinas inflamatorias se describe en la solicitud de los Estados Unidos 11/205.904, publicación 2006/0039910.
- Se informó de que la expresión de LPET humana detectada mediante hibridación in situ aumentaba en las vías respiratorias asmáticas correlacionándose con la gravedad de la enfermedad (Ying et al., J. Immunology 174: 8.183-8190 (2005)). Los análisis de los niveles de ARNm de LPET en muestras de pulmón de pacientes asmáticos mostraron una mayor expresión de LPET en comparación con los controles. Adicionalmente, los niveles de proteína LPET son detectables en el fluido de lavado broncoalveolar (LBA) de los pacientes con asma, de los pacientes con trasplante de pulmón, y los pacientes con fibrosis quística. Se ha encontrado recientemente que la LPET es liberada en respuesta a microbios y a traumas así como a inflamación, y activa los mastocitos (Allakhverdi et al., J Exp. 20492 Med: 253-258 (2007)).
- Se ha demostrado que la proteína LPET humana se correlaciona con la enfermedad en la mucosa bronquial y el fluido de LBA de sujetos con asma moderada/grave y EPOC. (Ying et al., J Immunol 181(4): 2790-8 (2008)).
- La expresión en exceso de LPET en los pulmones de ratones transgénicos conduce a una inflamación de las vías respiratorias similar al asma (Zhou et al., Nat. Immunol 10: 1047-1053 (2005)). Adicionalmente, se ha informado de que los ratones con deficiencia de RLPET no desarrollan asma en modelos de asma con OVA, lo que demuestra que se requiere LPET para el desarrollo del asma en modelos de inflamación de las vías respiratorias (Zhou et al., más arriba, Carpinio et al., Mol. Cell Biol. 24: 2584-2592 (2004)).
- Además de asma, se ha encontrado un aumento de los niveles de proteína LPET y ARNm en la piel lesional de pacientes con dermatitis atópica (DA) y en las células epiteliales tonsilares inflamadas (Soumelis et al., Nature Immunol: 3 (7): 673-680 (2002)). La expresión en exceso de LPET en la piel de ratones transgénicos conduce a un fenotipo de tipo AD (Yoo et al., J Exp Med 202: 541-549 (2005)).
- Por lo tanto, los antagonistas de LPET, específicamente proteínas de unión a antígeno LPET y los anticuerpos de la presente solicitud, son útiles como tratamiento terapéutico para la inflamación alérgica, en particular, el asma y la dermatitis atópica.
- Adicionalmente, los antagonistas de LPET, concretamente las proteínas de unión al antígeno LPET y los anticuerpos de la presente descripción también son útiles para el tratamiento de los trastornos fibróticos. Se ha demostrado que LPET participa en la promoción de trastornos fibróticos, como se describe en la solicitud núm. de serie 11/344.379. Se ha encontrado que LPET induce la acumulación de fibroblastos y el depósito de colágeno en los animales. La inyección de LPET murina, por ejemplo, por vía intradérmica a ratones dio como resultado fibrosis en el tejido subcutáneo de los ratones, que se caracteriza por la proliferación de fibroblastos y el depósito de colágeno. Ejercer un efecto antagonista sobre la actividad de LPET se traduciría en la prevención o la disminución de la proliferación de fibroblastos y el depósito de colágeno en un tejido.
- Según se utiliza en la presente memoria, el término "enfermedad fibroproliferativa" o "enfermedad o trastorno fibróticos" se refiere a afecciones que implican fibrosis en uno o más tejidos. Según se utiliza en la presente memoria el término "fibrosis" se refiere a la formación de tejido fibroso como un proceso de reparación o reactivo, en lugar de como un constituyente normal de un órgano o tejido. La fibrosis se caracteriza por la acumulación de fibroblastos y el depósito de colágeno por encima del depósito normal en cualquier tejido concreto. Según se utiliza en la presente memoria el término "fibrosis" se utiliza como sinónimo de "acumulación de fibroblastos y depósito de colágeno". Los fibroblastos son células del tejido conectivo, que se dispersan en el tejido conectivo de todo el cuerpo. Los fibroblastos secretan una matriz extracelular no rígida que contiene colágeno de tipo I y/o de tipo III. En respuesta a una lesión en un tejido, los fibroblastos cercanos migran a la herida, proliferan, y producen grandes cantidades de matriz extracelular colagenosa. El colágeno es una proteína fibrosa rica en glicina y prolina que es un componente principal de la matriz extracelular y el tejido conectivo, el cartílago, y el hueso. Las moléculas de colágeno son estructuras helicoidales de cadena triple denominadas cadenas alfa, que se enrollan alrededor de la otra en una hélice que se asemeja a una soga. El colágeno existe en varias formas o tipos; de estos, el tipo I, el más común, se encuentra en la piel, los tendones y los huesos; y el tipo III se encuentra en la piel, los vasos sanguíneos y los órganos internos.
- Los trastornos fibróticos incluyen, pero no se limitan a, la esclerodermia sistémica y local, queloides y cicatrices hipertróficas, aterosclerosis, reestenosis, inflamación pulmonar y fibrosis, fibrosis pulmonar idiopática, cirrosis hepática, fibrosis como resultado de infección por hepatitis B o C crónica, enfermedad renal, enfermedades del corazón como consecuencia de tejido cicatrizal, y enfermedades oculares tales como la degeneración macular y la retinopatía de la retina y el vítreo. Otras enfermedades fibróticas incluyen fibrosis resultante de los fármacos

quimioterápicos, fibrosis inducida por radiación y lesiones y quemaduras.

La esclerodermia es un trastorno fibrótico que se caracteriza por un engrosamiento y endurecimiento de la piel causados por la producción en exceso de nuevo colágeno por los fibroblastos en la piel y otros órganos. La esclerodermia puede ocurrir como una enfermedad local o sistémica. La esclerodermia sistémica puede afectar a numerosos órganos. La esclerosis sistémica se caracteriza por la formación de tejido fibroso de colágeno hialinizado y espesado, con engrosamiento de la piel y la adherencia a los tejidos subyacentes, especialmente de las manos y la cara. La enfermedad también se puede caracterizar por disfagia debido a la pérdida de peristaltismo y fibrosis de la submucosa del esófago, disnea debida a fibrosis pulmonar, fibrosis miocárdica, y cambios vasculares renales. (Stedman's Medical Dictionary, 26^a edición, Williams & Wilkins, 1995)). La fibrosis pulmonar afecta a un 30-70% de los pacientes con esclerodermia, produciendo a menudo una enfermedad pulmonar restrictiva (Atamas et al. Cytokine and Growth Factor Rev 14: 537-550 (2003)). La fibrosis pulmonar idiopática es un trastorno pulmonar crónico, progresivo y normalmente letal, que se cree es una consecuencia de un proceso inflamatorio crónico (Kelly et al., Curr Pharma Design 9: 39-49 (2003)).

Por lo tanto, los antagonistas de LPET, específicamente las proteínas de unión al antígeno LPET y anticuerpos de la presente solicitud, son útiles como tratamiento terapéutico para enfermedades fibróticas, incluyendo pero no limitadas a esclerodermia, enfermedad pulmonar intersticial, fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis resultante de hepatitis B o C crónica, fibrosis inducida por radiación y fibrosis resultante de la cicatrización de heridas.

Aunque se prefieren las indicaciones anteriores, otras enfermedades, trastornos o afecciones pueden ser susceptibles de tratamiento con, o se pueden prevenir mediante la administración de un antígeno que se une a un sujeto. Tales enfermedades, trastornos y afecciones incluyen, pero no se limitan a, inflamación, enfermedades autoinmunitarias, inflamación del cartílago, enfermedad fibrótica y/o degradación de los huesos, artritis, artritis reumatoide, artritis juvenil, artritis reumatoide juvenil, artritis reumatoide juvenil pauciarticular, artritis reumatoide juvenil poliarticular, artritis reumatoide juvenil de inicio sistémico, espondilitis anquilosante juvenil, artritis enteropática juvenil, artritis reactiva juvenil síndrome de Reiter juvenil, síndrome de EAS (Síndrome de Entesopatía y Artropatía Seronegativa), dermatomiositis juvenil, artritis psoriásica juvenil, esclerodermia juvenil, lupus eritematoso sistémico juvenil, vasculitis juvenil, artritis reumatoide pauciarticular, artritis reumatoide poliarticular, artritis reumatoide de inicio sistémico, espondilitis anquilosante, artritis enteropática, artritis reactiva, síndrome de Reiter, síndrome de EAS (Síndrome de Entesopatía y Artropatía Seronegativa), dermatomiositis, artritis psoriásica, esclerodermia, lupus eritematoso sistémico, vasculitis, miolitis, polimielitis, dermatomielitis, osteoartritis, poliarteritis nodosa, granulomatosis de Wegener, arteritis, polimalgia reumática, sarcoidosis, esclerodermia, esclerosis, esclerosis biliar primaria, colangitis esclerosante, síndrome de Sjogren, psoriasis, psoriasis en placas, psoriasis guttata, psoriasis inversa, psoriasis pustulosa, psoriasis eritrodérmica, dermatitis, dermatitis atópica, aterosclerosis, lupus, enfermedad de Still, Lupus Eritematoso Sistémico (LES), miastenia grave, enfermedad inflamatoria intestinal (EI), enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, enfermedad celíaca, esclerosis múltiple (EM), asma, EPOC, enfermedad de Guillain-Barre, diabetes mellitus tipo I, enfermedad de Graves, enfermedad de Addison, fenómeno de Raynaud, hepatitis autoinmunitaria, GVHD, y similares. En realizaciones específicas, se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de proteínas de unión a antígeno LPET.

El término "tratamiento" incluye el alivio o la prevención de al menos un síntoma o de otro aspecto de un trastorno, o una reducción de la gravedad de la enfermedad, y similares. Una proteína de unión a antígeno no tiene que efectuar una cura completa, o erradicar cada síntoma o manifestación de una enfermedad, para constituir un agente terapéutico viable. Como se reconoce en el campo pertinente, los fármacos empleados como agentes terapéuticos pueden reducir la gravedad de un estado de enfermedad dado, pero no es necesario que supriman todas las manifestaciones de la enfermedad para ser considerados como agentes terapéuticos útiles. Del mismo modo, un tratamiento administrado profilácticamente no tiene que ser completamente eficaz en la prevención de la aparición de una afección con el fin de constituir un agente profiláctico viable. Simplemente es suficiente que reduzca el impacto de una enfermedad (por ejemplo, al reducir el número o la gravedad de sus síntomas, o al aumentar la eficacia de otro tratamiento, o al producir otro efecto beneficioso), o reduzca la probabilidad de que la enfermedad se produzca o empeore en un sujeto. Una realización de la invención se dirige a un método que comprende la administración a un paciente de una proteína de unión a antígeno en una cantidad y durante un tiempo suficientes para inducir una mejora sostenida sobre el momento inicial de un indicador que refleja la gravedad del trastorno en particular.

Composiciones farmacéuticas

En algunas realizaciones, la invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de una o una pluralidad de las proteínas de unión a antígeno de la invención junto con un diluyente, portador, solubilizante, emulsionante, conservante y/o coadyuvante farmacéuticamente aceptables. Además, la invención proporciona métodos de tratamiento de un paciente mediante la administración de semejante composición farmacéutica. El término "paciente" incluye sujetos humanos y animales.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden una o más proteínas de unión a antígeno se pueden utilizar para reducir la actividad de LPET. Las composiciones farmacéuticas que comprenden una o más proteínas de unión a antígeno se pueden utilizar en el tratamiento de las consecuencias, los síntomas, y/o la patología asociada con la

actividad de LPET. Las composiciones farmacéuticas que comprenden una o más proteínas de unión de antígeno se pueden utilizar en métodos de inhibición de la unión y/o la señalización de LPET a RLPET que comprenden proporcionar la proteína de unión a antígeno de la invención a LPET.

5 En ciertas realizaciones, los materiales de formulación aceptables son preferiblemente no tóxicos para los receptores a las dosis y concentraciones empleadas. En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica puede contener materiales de formulación para modificar, mantener o conservar, por ejemplo, el pH, la osmolalidad, la viscosidad, la claridad, el color, la isotonicidad, el olor, la esterilidad, la estabilidad, la velocidad de disolución o la liberación, la adsorción o la penetración de la composición. En tales realizaciones, los materiales de formulación adecuados incluyen, pero no se limitan a, aminoácidos (tales como glicina, glutamina, aspárragina, arginina o lisina); antimicrobianos; antioxidantes (tales como ácido ascórbico, sulfito de sodio o hidrógeno-sulfito de sodio); tampones (tales como borato, bicarbonato, Tris-HCl, citratos, fosfatos u otros ácidos orgánicos); agentes voluminizantes (tales como manitol o glicina); agentes quelantes (tales como ácido etilendiamino tetraacético (EDTA)); agentes complejantes (tales como cafeína, polivinilpirrolidona, beta-ciclodextrina o hidroxipropil-beta-ciclodextrina); cargas; monosacáridos; disacáridos; y otros carbohidratos (tales como glucosa, sacarosa, manosa o dextrinas); proteínas (tales como albúmina de suero, gelatina o inmunoglobulinas); colorantes, aromatizantes y agentes de dilución; agentes emulsionantes; polímeros hidrófilos (tales como polivinilpirrolidona); polipéptidos de bajo peso molecular; contraiones formadores de sales (tales como sodio); conservantes (tales como cloruro de benzalconio, ácido benzoico, ácido salicílico, timerosal, alcohol fenético, metilparabeno, propilparabeno, clorhexidina, ácido sóblico o peróxido de hidrógeno); disolventes (tales como glicerina, propileneglicol o polietileneglicol); alcoholes de azúcares (tales como manitol o sorbitol); agentes de suspensión; tensioactivos o agentes humectantes (tales como Pluronics, PEG, ésteres de sorbitán, polisorbatos tales como polisorbato 20, polisorbato, Triton, trometamina, lecitina, colesterol, tiloxapal); agentes potenciadores de la estabilidad (tales como sacarosa o sorbitol); agentes potenciadores de la tonicidad (tales como haluros de metales alcalinos, preferiblemente cloruro de sodio o potasio, manitol sorbitol); vehículos de suministro; diluyentes; excipientes y/o coadyuvantes farmacéuticos. Véase, 10 REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18^a Edición, (A. R. Genaro, ed.), 1990, Mack Publishing Company.

15

20

25

En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica óptima será determinada por un experto en la técnica dependiendo, por ejemplo, de la ruta de administración pretendida, el formato de suministro y la dosificación deseada. Véase, por ejemplo, REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, más arriba. En ciertas realizaciones, tales composiciones pueden influir en el estado físico, la estabilidad, la velocidad de liberación in vivo y la velocidad de aclaramiento in vivo de las proteínas de unión a antígeno de la invención. En ciertas realizaciones, el vehículo primario o el portador en una composición farmacéutica pueden ser de naturaleza acuosa o no acuosa. Por ejemplo, un vehículo o portador adecuado puede ser agua para inyectables, solución salina fisiológica o líquido cefalorraquídeo artificial, posiblemente complementado con otros materiales comunes en composiciones para la administración parenteral. La solución salina tamponada neutra o solución salina mezclada con albúmina de suero son otros vehículos ilustrativos. En realizaciones específicas, las composiciones farmacéuticas comprenden tampón de Tris de aproximadamente pH 7,0-8,5, o tampón acetato de aproximadamente pH 4,0-5,5, y pueden incluir adicionalmente sorbitol o un sustituto adecuado del mismo. En ciertas realizaciones de la invención, las composiciones de proteína de unión a antígeno LPET se pueden preparar para el almacenamiento mezclando la composición seleccionada que tiene el grado deseado de pureza con agentes de formulación opcionales (REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, más arriba) en forma de una torta liofilizada o una solución acuosa. Adicionalmente, en ciertas realizaciones, el producto de proteína de unión a antígeno LPET se puede formular como un producto liofilizado utilizando excipientes apropiados tales como sacarosa.

Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden seleccionar para el suministro parenteral. Alternativamente, las composiciones se pueden seleccionar para la inhalación o para el suministro a través del tracto digestivo, tal como oralmente. Los componentes de la formulación están presentes preferiblemente a concentraciones que son aceptables para el sitio de administración. En ciertas realizaciones, se utilizan tampones para mantener la composición a pH fisiológico o a un pH ligeramente inferior, típicamente dentro de un intervalo de pH de aproximadamente 5 a aproximadamente 8. Incluyendo aproximadamente 5,1, aproximadamente 5,2, aproximadamente 5,3, aproximadamente 5,4, aproximadamente 5,5, aproximadamente 5,6, aproximadamente 5,7, aproximadamente 5,8, aproximadamente 5,9, aproximadamente 6,0, aproximadamente 6,1, aproximadamente 6,2, aproximadamente 6,3, aproximadamente 6,4, aproximadamente 6,5, aproximadamente 6,6, aproximadamente 6,7, aproximadamente 6,8, aproximadamente 6,9, aproximadamente 7,0, aproximadamente 7,1, aproximadamente 7,2, aproximadamente 7,3, aproximadamente 7,4, aproximadamente 7,5, aproximadamente 7,6, aproximadamente 7,7, aproximadamente 7,8, aproximadamente 7,9 y aproximadamente 8,0.

55 Cuando se contempla la administración parenteral, las composiciones terapéuticas para su uso en esta invención se pueden proporcionar en forma de una solución acuosa libre de pirógenos, parenteralmente aceptable que comprende la proteína de unión a antígeno LPET deseada en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Un vehículo particularmente adecuado para la inyección parenteral es agua destilada estéril en la que se formula la proteína de unión a antígeno LPET como una solución estéril, isotónica, apropiadamente conservada. En ciertas realizaciones, la preparación puede implicar la formulación de la molécula deseada con un agente, tal como microesferas inyectables, partículas bioerpcionables, compuestos poliméricos (tales como polí(ácido láctico) o polí(ácido glicólico), cuentas o liposomas, que pueden proporcionar una liberación controlada o sostenida del producto que puede ser suministrado a través de una inyección de depósito. En ciertas realizaciones, también se

60

puede utilizar el ácido hialurónico, que tiene el efecto de promover una duración sostenida en la circulación. En ciertas realizaciones, se pueden utilizar dispositivos de suministro de fármacos implantables para introducir la proteína de unión a antígeno deseada.

5 Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden formular para su inhalación. En estas realizaciones, las proteínas de unión a antígeno LPET se formulan ventajosamente en forma de un polvo seco, inhalable. En realizaciones específicas, las soluciones de proteína de unión de antígeno LPET para inhalación también se pueden formular con un propelente para la administración en aerosol. En ciertas realizaciones, las soluciones se pueden nebulizar. Los métodos de administración y formulación pulmonares, por lo tanto, se describen adicionalmente en la
10 Solicitud de Patente Internacional Núm. PCTUS94/001875, que describe el suministro pulmonar de proteínas modificadas químicamente.

También se contempla que las formulaciones se puedan administrar por vía oral. Las proteínas de unión a antígeno LPET que se administran de esta manera se pueden formular con o sin portadores utilizados habitualmente en la
15 composición de formas de dosificación sólidas tales como comprimidos y cápsulas. En ciertas realizaciones, se puede diseñar una cápsula para liberar la porción activa de la formulación en un punto del tracto gastrointestinal cuando se maximiza la biodisponibilidad y se reduce al mínimo la degradación pre-sistémica. Se pueden incluir otros agentes para facilitar la absorción de la proteína de unión a antígeno LPET. También se puede emplear diluyentes, aromatizantes, ceras de bajo punto de fusión, aceites vegetales, lubricantes, agentes de suspensión, agentes
20 disgregantes de comprimidos, y aglutinantes.

Una composición farmacéutica de la invención se proporciona preferiblemente para que comprenda una cantidad
25 eficaz de una o una pluralidad de proteínas de unión a antígeno LPET en una mezcla con excipientes no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Disolviendo los comprimidos en agua estéril, u otro vehículo apropiado, se pueden preparar soluciones en formas de dosificación unitaria.

Los excipientes adecuados incluyen, pero no se limitan a, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio,
25 carbonato o bicarbonato de sodio, lactosa o fosfato de calcio; o agentes aglutinantes, tales como almidón, gelatina o acacia; o agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, ácido esteárico, o talco.

Otras composiciones farmacéuticas serán evidentes para los expertos en la técnica, incluyendo formulaciones que implican proteínas de unión a antígeno LPET en formulaciones de suministro sostenido o controlado. Los mecanismos para formular una variedad de medios de suministro sostenido o controlado distintos, tales como portadores de liposomas, micropartículas bioerosionables o cuentas porosas e inyecciones de depósito, también son
30 conocidos por los expertos en la técnica. Véase, por ejemplo, la Solicitud de Patente Internacional Núm. PCT/US93/00829, describe la liberación controlada de micropartículas poliméricas porosas para el suministro de composiciones farmacéuticas.

Las preparaciones de liberación sostenida pueden incluir matrices de polímeros semipermeables en forma de artículos conformados, p. ej., películas o microcápsulas. Las matrices de liberación sostenida pueden incluir
35 poliésteres, hidrogeles, polilactidas (como se describe en la Patente de Estados Unidos Núm. 3.773.919 y en la Solicitud de Patente Europea Núm. EP 058481), copolímeros de ácido L-glutámico y gamma etil-L-glutamato (Sidman et al., 1983, Biopolymers 2: 547-556), poli(metacrilato de 2-hidroxietilo) (Langer et al., 1981, J. Biomed. Mater. Res. 15: 167-277 y Langer, 1982, Chem. Tech. 12: 98-105), vinilacetato de etileno (Langer et al., 1981, más arriba) o ácido poli-D(-)-3-hidroxibutírico (Publicación de la Solicitud de Patente Europea Núm. EP 133.988).

40 Las composiciones de liberación sostenida también pueden incluir liposomas que se pueden preparar por cualquiera de los diversos métodos conocidos en la técnica. Véase, p. ej., Eppstein et al., 1985, Proc. Natl Acad. Sci U.S.A. 82:3688-3692; Publicaciones de Solicitudes de Patente Europeas Núms. EP 036.676; EP 088.046 y EP 143.949.

45 Las composiciones farmacéuticas utilizadas para la administración in vivo típicamente se proporcionan en forma de preparaciones estériles. La esterilización se puede lograr mediante filtración a través de membranas de filtración estériles. Cuando la composición se liofiliza, la esterilización utilizando este método se puede llevar a cabo ya sea antes o después de la liofilización y reconstitución. Las composiciones para la administración parenteral se pueden almacenar en forma liofilizada o en una solución. Las composiciones parenterales generalmente se colocan en un recipiente que tiene un puerto de acceso estéril, por ejemplo, una bolsa de solución intravenosa o un vial que tiene un tapón perforable por una aguja de inyección hipodérmica.

50 Los aspectos de la invención incluyen formulaciones de proteína de unión a antígeno LPET auto-tamponadas, que se pueden utilizar como composiciones farmacéuticas, como se describe en la solicitud de patente internacional WO 0613818 1 A2 (PCT/US2006/022599). Una realización proporciona formulación de proteína de unión a antígeno LPET auto-tamponadas que comprenden una proteína de unión a antígeno LPET en la que la concentración total de sal es menor de 150 mM.

55 La cantidad terapéuticamente eficaz de composición farmacéutica que contiene la proteína de unión antígeno LPET que se va a emplear dependerá, por ejemplo, del contexto y los objetivos terapéuticos. Un experto en la técnica apreciará que los niveles de dosificación apropiados para el tratamiento variarán dependiendo, en parte, de la molécula suministrada, la indicación para la cual se está utilizando la proteína de unión a antígeno LPET, la vía de

administración, y el tamaño (peso corporal, superficie corporal o tamaño del órgano) y/o el estado (edad y salud general) del paciente.

En ciertas realizaciones, el médico clínico puede titular la dosificación y modificar la vía de administración para obtener el efecto terapéutico óptimo. Una dosificación típica puede variar de aproximadamente 0,1 µg/kg hasta aproximadamente 30 mg/kg o más, dependiendo de los factores mencionados anteriormente. En realizaciones específicas, la dosis puede variar de 0,1 µg/kg a aproximadamente 30 mg/kg, opcionalmente de 1 µg/kg a aproximadamente 30 mg/kg o de 10 µg/kg a aproximadamente 5 mg/kg.

La frecuencia de dosificación dependerá de los parámetros farmacocinéticos de la proteína de unión a antígeno LPET concreta, de la formulación utilizada. Típicamente, un médico clínico administra la composición hasta que se alcance una dosis que consiga el efecto deseado. Por tanto, la composición se puede administrar en forma de una dosis única, o en forma de dos o más dosis (que pueden o no contener la misma cantidad de la molécula deseada) con el tiempo, o en forma de una infusión continua a través de un dispositivo de implantación o un catéter. El perfeccionamiento adicional de la dosificación apropiada es realizado de manera rutinaria por los expertos normales en la técnica y está dentro del ámbito de las tareas realizadas rutinariamente por ellos.

Las dosificaciones apropiadas se pueden determinar a través del uso de datos de dosis-respuesta apropiados. En ciertas realizaciones, las proteínas de unión a antígeno de la invención se pueden administrar a los pacientes a lo largo de un período de tiempo prolongado. La administración crónica de una proteína de unión a antígeno de la invención minimiza la respuesta inmunitaria o alérgica adversa comúnmente asociada con las proteínas de unión a antígenos que no son completamente humanas, por ejemplo un anticuerpo generado contra un antígeno humano en un animal no humano, por ejemplo, un anticuerpo no completamente humano o un anticuerpo no humano producido en una especie no humana.

La vía de administración de la composición farmacéutica está de acuerdo con métodos conocidos, p. ej., por vía oral, a través de inyección por vía intravenosa, intraperitoneal, intracerebral (intraparenquimal), intracerebroventricular, intramuscular, intra-ocular, intraarterial, intraportal, o intralesional; por sistemas de liberación sostenida o por dispositivos de implantación. En ciertas realizaciones, las composiciones se pueden administrar mediante inyección de bolo o continuamente mediante infusión, o mediante un dispositivo de implantación.

La composición también se puede administrar localmente a través de implantación de una membrana, esponja u otro material apropiado sobre el que la molécula deseada se ha absorbido o encapsulado. En ciertas realizaciones, cuando se utiliza un dispositivo de implantación, el dispositivo puede ser implantado en cualquier tejido u órgano adecuado, y el suministro de la molécula deseada puede ser mediante difusión, bolo de liberación controlada, o una administración continua.

Terapias combinadas

En realizaciones adicionales, la proteína de unión al antígeno se administra combinada con otros agentes útiles para el tratamiento de la afección con la que está afectado el paciente. Los ejemplos de tales agentes incluyen fármacos tanto proteicos como no proteicos. Cuando se administran simultáneamente múltiples agentes terapéuticos, las dosis pueden ajustarse en consecuencia, tal como se reconoce en la técnica pertinente. La "coadministración" y la terapia combinada no se limitan a la administración simultánea, también incluyen los regímenes de tratamiento en los que se administra una proteína de unión a antígeno al menos una vez durante el transcurso de un tratamiento que implica la administración de al menos otro agente terapéutico al paciente.

Habiendo descrito la invención, se ofrecen los siguientes ejemplos a modo de ilustración, y no de limitación.

Ejemplo 1: Preparación del antígeno

Se utilizaron como inmunógenos varias formas de LPET recombinante. La LPET humana se expresó en células tanto de E. coli como de mamífero. La LPET humana producida por E. coli era una proteína de longitud completa sin etiqueta. La proteína LPET fue producida en células COS PKB que tenían un sitio de escisión de furina suprimido producido por la supresión de los nucleótidos 382 a 396 (AGAAAAAAGGAAAGTC, SEQ ID NO: 370) correspondiente a los aminoácidos 128-132 (RKRKV, SEQ ID NO: 371). Esta proteína contiene una etiqueta poliHIS-Flag C terminal (Secuencia de nucleótidos =

```
ATGTTCCCTTGCCTACTATGTTCTGTCAGTTCTTCAGGAAAATCTTCATCTTACA
ACTTGTAGGGCTGGTGTAACTTACGACTTCACTAACATGTGACTTGAGAAGATTAAAGC
AGCCTATCTCAGTACTATTTCTAAAGACCTGATTACATATGAGTGGGACCAAAGTAC
CGAGTTCAACAAACACCGTCTTGTAGCATCGGCCACATTGCCCTACTGAAATCCAGAG
CCTAACCTTCAATCCCACCGCCGGCTGCCGCTCGCCAAAGAAATGTTGCCATGAA
AACTAAGGCTGCCTAGCTATCTGGTGCCCAGGCTATTGGAAACTCAGATAATGCTAC
TCAGGCAATGAAGAAGAGGACAACCAATAATGTCTGGAACAAAGTGTCAACATTACAAG
GATTGTGGCGTCGCTCAATCGACCTTACTGAAACAAACAGCATCACCATCACG
ACTACAAAGACGATGACGACAAA (SEQ ID NO: 372);
```

Secuencia de proteína = MFPFALLYVLSVSFRKIFILQLVGLVLTYDFTNCFEKIKAAYLSTISKDLITYMSGTKSTEFNN TVCSNRPHCLTEIQSLTFNPTAGCASLAKEMFAMKTKAALAIWCPGYSETQINATQAMKKR ITNKCLEQVSQLQGLWRRFNRPPLLKQQHHHHHDYKDDDDK (SEQ ID NO: 373).

En otra campaña, se produjo una proteína LPET completa etiquetada con poliHis-FLAG C terminal en células COS PKB (secuencia de nucleótidos =

ATGTTCCCTTGCCTTAATGTTCTGTCAGTTCTTCAGGAAAATCTTCATCTTACA
ACTTGTAGGGCTGGTAACTTACGACTTCACTAACGTGACTTGGAGAAGATTAAAGC
AGCCTATCTCACTTAAAGACCTGATTACATATGAGTGGGACCAAAGTAC
CGAGTTCAACAAACACCGCTCTGTAGCAATCGGCCACATTGCCACTGAAATCCAGAG
CCTAACCTTCATCCCACCGCCGGCTGCGCGTCGCTGCCAAAGAAATGTTGCCATGAA
AACTAAGGCTGCCCTAGCTATCTGGTGCCCAGGCTATTGGAAACTCAGATAATGCTAC
TCAGGCAATGAAGAAGAGGAGAAAAGGAAAGTCACAACCAATAATGTCGGAACAA
GTGTACAATTACAAGGATTGTGGCGTCGCTTCAATCGACCTTACTGAAACAAACAGCAT
CACCATCACCATCACGACTACAAAGACGATGACGACAAA (SEC ID NO: 374);

Secuencia de proteína = MFPFALLYVLSVSFRKIFILQLVGLVLTYDFTNCFEKIKAAYLSTISKDLITYMSGTKSTEFNN TVCSNRPHCLTEIQSLTFNPTAGCASLAKEMFAMKTKAALAIWCPGYSETQINATQAMKKR RKRKVTTNKCLEQVSQLQGLWRRFNRPPLLKQQHHHHHDYKDDDDK (SEC ID NO: 375). Obsérvese que la secuencia de aminoácidos 1-28 (MFPFALLYVLSVSFRKIFILQLVGLVLT, SEQ ID NO: 376) es un péptido señal escindido del producto maduro de estas dos proteínas.

Además, se clonó LPET de cinomolgo y se subclonó/expresó de manera similar, ya sea con el sitio de escisión de furina (nucleótidos 358 -372 (AGAAAAAGGAAAGTC, SEQ ID NO: 370) correspondiente a los aminoácidos 120-124 (RKRKV, SEQ ID NO: 371)) suprimido (ADN =

ATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGTACTGCTGCTCTGGGTTCCAGGTTCCACCGG
TTACGACTTCACTAATGACTTCAAGAAGATTGAAGCAGACTATCTCCGTACTATTCT
AAAGACCTGATTACATATATGAGTGGACTAAAAGTACCGACTTCAACAAACACCGTCTC
CTGTAGCAATCGGCCACACTGCCTTACTGAAATCCAGAGCCTAACCTTCAATCCCACCCC
CCGCTGCGCGTCGCTGCCAAGGAAATGTCGCCAGGAAAACATAAGGCTACCCCTCGCTCT
CTGGTGCCAGGCTATTGGAAACTCAGATAATGCTACTCAGGCAATGAAGAAGAGGA
CAACCAATAATGTCGGAACAAGTGTACAATTACTAGGATTGTGGCGTCGCTTCATTG

GAACTTACTGAAACACAGCACCACCAACCACCATGACTATAAAGACGATGACGAC AAAT (SEQ ID NO: 377); Proteína = METDTLLWVLLWVPGSTGYDFTNCFQKIEADYLRTISKDLITYMSGTKSTDFNNTVSCS NRPHCLTEIQSLTFNPTPRCASLAKEMFARKTKATLALWCPGYSETQINATQAMKKRTTNKC LEQVSQLLGLWRRFIRTLKQQHHHHHDYKDDDDK (SEQ ID NO: 378) o en forma de un producto completo/nativo (Secuencia de nucleótidos =

ATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGTACTGCTGCTCTGGGTTCCAGGTTCCACCGG
TACGACTTCACTAATGACTTCAAGAAGATTGAAGCAGACTATCTCCGTACTATTCT
AAAGACCTGATTACATATATGAGTGGACTAAAAGTACCGACTTCAACAAACACCGTCTC
CTGTAGCAATCGGCCACACTGCCTTACTGAAATCCAGAGCCTAACCTTCAATCCCACCCC
CCGCTGCGCGTCGCTGCCAAGGAAATGTCGCCAGGAAAACATAAGGCTACCCCTCGCTCT
CTGGTGCCAGGCTATTGGAAACTCAGATAATGCTACTCAGGCAATGAAGAAGAGGA
GAAAAGGAAAGTCACAACCAATAATGTCGGAACAAGTGTACAATTACTAGGATTG
TGGCGTCGCTTCATTGAACCTTACTGAAACAACAGCACCACCAACCATGACTAT
AAAGACGATGACGACAAA (SEQ ID NO: 379); Proteína =

METDTLLWVLLWVPGSTGYDFTNCFQKIEADYLRTISKDLITYMSGTKSTDFNNTVSCS NRPHCLTEIQSLTFNPTPRCASLAKEMFARKTKATLALWCPGYSETQINATQAMKKRRKRKV TTNKCLEQVSQLLGLWRRFIRTLKQQHHHHHDYKDDDDK (SEQ ID NO: 380) fusionada a la misma poliHIS-Flag C terminal en células COS PKB. Obsérvese que la secuencia de aminoácidos 1-20 (METDTLLWVLLWVPGSTG, SEQ ID NO: 381) es un péptido señal escindido del producto maduro de estas dos proteínas de cinomolgo.

Ejemplo 2: Anti-anticuerpos anti-LPET humana de ratón

Se utilizó hLPET-Fc para la inmunización de ratones Balb/c (Jackson Laboratories, Bar Harbor, Maine). Despues de varias rondas de inmunización, los linfocitos se liberaron a partir del bazo y se fusionaron con células de mieloma de ratón, NS1 (ATCC) por medio de fusión química con PEG/DMSO al 50% (Sigma). Las células fusionadas se sembraron en placas de 96 pocillos a una densidad de 2×10^4 células/pocillo en 200 μ l de medio DMEM HAT (hipoxantina 0,1 mM, timidina 0,16 mM, aminopterina 4 mM, Sigma) con un suplemento de FBS al 10%, Origen Cloning Factor al 5% (BioVeris™), 1x Penicilina-Estreptomicina-Glutamina, piruvato de sodio (Invitrogen). El medio se reemplazó 7 días después de la fusión por medio DMEM HT (hipoxantina 0,1 mM, timidina 0,16 mM) con un suplemento de FBS al 10%, Origen Cloning Factor al 5% (BioVeris™), 1x Penicilina-Estreptomicina-Glutamina, piruvato de sodio (Invitrogen). Se recogieron los medios acondicionados dos días después del cambio de medio y precedido por cribado primario.

Ejemplo 3: Generación de anticuerpos completamente humanos

Se generaron anticuerpos monoclonales completamente humanos específicos para LPET utilizando la tecnología XenoMouse® de acuerdo con protocolos descritos, por ejemplo, en el documento U.S. 2005/0118643, las Patentes de Estados Unidos Núms: 6114598, 6162963, 7049426, 7064244, Green et al., Nature Genetics 7: 13-21 (1994),

5 Medez et al. Nature Genetics 15: 146-156 (1997), Green y Jakobovitis J. Ex. Med. 188: 483-495 (1998), y como se describe a continuación.

Se llevaron a cabo dos campañas. En la campaña 1, se utilizaron cohortes de IgG2 e IgG4 de XenoMouse®. Cincuenta por ciento de los ratones recibieron LPET humana producida por E. coli y 50% recibieron LPET humana producida por mamífero (descrito anteriormente). Los títulos de suero fueron verificados por medio de ELISA (descrito a continuación) y los ratones con los mejores títulos fueron fusionados para generar hibridomas usando los 10 siguientes protocolos.

15 Los ratones seleccionados fueron sacrificados y los ganglios linfáticos de drenaje se cosecharon y se reunieron a partir de cada cohorte. Las células linfoides se enriquecieron para las células B y las células B se fusionaron con células de mieloma para crear hibridomas. Las líneas de hibridoma fusionadas se cultivaron en placa a continuación en medio para hibridoma y se cultivaron durante 10-14 días a 37°C. Los sobrenadantes de hibridoma se escrutaron para determinar la unión de los anticuerpos IgG a LPET por medio de ELISA como se describe a continuación.

20 Se inició una segunda campaña en la que dos cohortes de IgG2 XenoMouse® fueron inmunizadas con LPET humana producida por mamífero, y una cohorte fue reforzada con LPET de cinomolgo. Después de varias rondas de inmunización, los linfocitos de los ganglios linfáticos se fusionaron y se cultivaron como se ha descrito anteriormente.

25 Despues del cultivo, los sobrenadantes de hibridoma se escrutaron para determinar la unión a LPET por medio de ELISA, como se describe a continuación.

30 Se seleccionaron los sobrenadantes policlonales de ambas campañas para la subclonación adicional basándose en los análisis expuestos a continuación. Se identificaron los hibridomas que contenían los anticuerpos que eran potentes inhibidores de la actividad de LPET, y se determinó la reactividad cruzada con LPET de cinomolgo. Los resultados se muestran en el Ejemplo 5 a continuación. Los sobrenadantes de hibridoma prometedores se seleccionaron basándose en su rendimiento en el análisis de DC primarias descrito a continuación. Esos hibridomas fueron clonados en una sola célula y se expandieron para someterlos a ensayo posteriormente. Los anticuerpos se purificaron a continuación, como se describe más abajo.

35 Los anticuerpos se purificaron a partir de medio acondicionado de los hibridomas utilizando una resina Mab Select (GE Healthcare). Se añadieron 100 µl de una suspensión 1:2 de resina Mab Select equilibrada en PBS a entre 7 y 10 ml de medio acondicionado (CM). Los tubos se colocaron sobre rotadores a 4-8°C durante la noche. Los tubos se centrifugaron a 1.000 x g durante 5 minutos y se decantó la fracción no unida. La resina se lavó después con 5 ml de PBS, y se centrifugó y se decantó como anteriormente. Después, la resina se transfirió a un tubo SPIN-X, 0,45 µm, de 2 ml. La resina se lavó dos veces más con 0,5 ml de PBS y se centrifugó. Los Mab se hicieron eluir con 0,2 ml de ácido acético 0,1 M mediante incubación a temperatura ambiente con mezclado ocasional durante 10 minutos. Los tubos se centrifugaron, y se añadieron 30 µl de tampón Tris 1 M de pH 8,0 al producto eluido. Los Mab purificados se almacenaron a 4-8°C.

Ejemplo 4: análisis de Anticuerpos

A. ELISA para detectar la presencia de anticuerpo anti-LPET

40 Se llevó a cabo un ELISA mediante el recubrimiento de placas de 96 pocillos de unión a medio 3368 Costar con wHuLPET producida de forma recombinante o pHisFlag a 2 µg/ml 50 µl/pocillo en 1 x PBS/azida al 0,05%, y se incubaron durante la noche a 4°C. Las placas se lavaron y se bloquearon con 250 µl de 1X PBS/leche al 1% (el diluyente del análisis), y se incubaron al menos 30 minutos a la temperatura ambiente.

45 Se añadieron aproximadamente 50 µl/pocillo de sobrenadantes de hibridoma, anticuerpo de control positivo de ratón M385, o un control negativo, y se incubaron a la temperatura ambiente durante 2 horas. Las placas se lavaron, y se aplicó un anticuerpo secundario, anti-Fc IgG HPR humano de cabra (Pierce), o, alternativamente, un anti-IgG HPR de ratón de cabra (Jackson Labs), a 400 ng/ml en diluyente de análisis. Las placas se incubaron 1 hora a temperatura ambiente, se lavaron, y se leyó la DO a 450 nm.

50 B. El escrutinio de sobrenadantes de hibridoma anti-LPET se realizó utilizando uno de los siguientes análisis funcionales

1. Se recubrieron placas de 96 pocillos con la proteína huIL-7Ra-huRLPET-Fc soluble, con un conector ácido de 8 aa (SGGAPMLS, SEQ ID NO: 382) entre el receptor y un Fc humano, y se incubaron durante la noche a 4°C.

2. Las placas se lavaron y se bloquearon durante 1 hora a RT con PBS + BSA al 1% + sacarosa al 5%.

3. Las placas se incubaron con huLPETHFdel biotinilada (HF significa poliHis Flag, donde la LPET tiene el sitio de escisión de furina suprimido) (del). Las placas se incubaron a continuación (+/-) sobrenadantes de hibridoma de o anti-LPET humana de ratón (M385) como control positivo durante 2 h a RT.

5 4. Detección de SA-HRP (estreptavidina-peroxidasa de rábano picante). SA se une fuertemente a la porción de biotina de huLPETHFdel biotinilada y HRP cataliza la oxidación del cromógeno, TMB (que se vuelve azul), por el peróxido de hidrógeno.

B. Análisis basados en células

10 1) La inhibición de la proliferación inducida por LPET de la línea celular BAF estable que expresa el complejo de RLPET-IL7R humano por sobrenadantes de hibridoma o anticuerpos purificados se determinó de acuerdo con el siguiente protocolo.

15 1. BAF: Se lavaron líneas celulares estables Hu RLPET en medio de cultivo, RPMI 1640 + FBS al 10% + L-glutamina al 1% + Pen/Strep al 0,1% + 2-ME al 0,1% para eliminar la LPET utilizada en el mantenimiento de los medios, que es la misma que la de los medios de crecimiento, pero con la adición de 10 ng/mL de huLPETHFwt.

20 2. Se incubaron HuLPETwtpHF (+/-) o LPETwtpHF (+/-) de cinomolgo con sobrenadantes de hibridoma/anticuerpo purificado/o anti-LPET humana (M385) de ratón durante 30 minutos a la temperatura ambiente en pocillos.

3. Se añadieron 5×10^4 células BAF/pocillo y se incubaron durante 3 días.

25 4. Las células se pulsaron con timidina tritiada (1 μ Ci/pocillo) durante la noche. La proliferación celular de las células BAF, o la inhibición de la misma, se evaluaron mediante la cantidad de incorporación de timidina tritiada (CPM) por las células.

30 2) Análisis de células primarias. Se determinó la inhibición de la producción de osteoprotegerina (OPG) inducida por LPET (descrita en la Patente de los Estados Unidos 6.284.728) de células humanas primarias dendríticas (DC) por los hibridomas o anticuerpos purificados de acuerdo con el siguiente protocolo.

35 1. Se enriquecieron CD11c de sangre periférica + DC mieloides a partir de envases de leucoféresis de donantes en las instalaciones normales utilizando el kit de aislamiento de DC CD1c (BDCA-1) (Miltenyi Biotec).

2. Se incubaron huLPETwtpHF (+/-) o LPETwtpHF de cinomolgo con sobrenadantes o anticuerpo purificado o anti-LPET humana de ratón durante 30 minutos a la temperatura ambiente.

3. Se añadieron 1×10^5 células/pocillo y se incubaron durante 48 horas. Los sobrenadantes se recogieron y se analizaron para determinar la producción de OPG humana por medio de ELISA, y se determinó la inhibición de la producción de OPG por los sobrenadantes de hibridoma o anticuerpos purificados. El ELISA para OPG se realizó utilizando un kit de desarrollo DuoSet® de R&D Systems. Los anticuerpos anti-LPET inhibieron la producción de OPG a partir de las células de una manera dependiente de la dosis.

35 3) Análisis de Células Mononucleares de Sangre Periférica de cinomolgo. Se determinó la inhibición de la producción de CCL22/MDC inducida por CynoLPET por sobrenadantes de hibridoma o anticuerpos purificados de acuerdo con el siguiente protocolo.

1. Se obtuvieron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de sangre periférica obtenida a partir de monos cinomolgos (SNBL) mediante la superposición de una mezcla 1:1 de sangre: PBS sobre isolinfa.

2. Se incubaron sobrenadante de LPETwtpHF (+/-) de cinomolgo/anticuerpo purificado o hull-7RA-huRLPET-Fc soluble durante 30 minutos a la temperatura ambiente.

40 3. Se añadieron 4×10^5 células/pocillo y se incubaron durante 5 días. Los sobrenadantes se recogieron y se analizaron para determinar la producción de CCL22/MDC de cinomolgo por medio de ELISA.

Ejemplo 5: Determinaciones de K_D

45 Los experimentos de resonancia de plasmón superficial descritos en esta solicitud de patente se realizaron a 25°C utilizando un aparato Biacore 3000 (Biacore International AB, Uppsala, Suecia) equipado con un chip sensor CM4.

45 Los anticuerpos de captura específicos anti-Fc gamma se inmovilizaron covalentemente a dos celdas de flujo en el chip CM4 utilizando la química de acoplamiento de aminas convencional con HBS-EP como tampón de migración. En pocas palabras, cada celda de flujo se activó con una mezcla 1:1 (v/v) de NHS 0,1 M y EDC 0,4 M. Se inmovilizó anti-IgG humana de cabra AffiniPure, anticuerpo específico del fragmento Fcγ (Jackson ImmunoResearch Inc. West Grove, PA) a 30 µg/ml en acetato de sodio 10 mM, pH 5,0 con un nivel diana de 3000 UR en dos células de flujo.

50 Las superficies reactivas residuales se desactivaron con una inyección de etanolamina 1 M. El tampón de migración se cambió a continuación a HBS-EP + 0,1 mg/ml de BSA para todas las etapas restantes.

Se sometieron a ensayo los siguientes anticuerpos. A5 IgG2 era un anticuerpo monoclonal purificado, A2 IgG1 e IgG2 eran anticuerpos purificados recombinantes, y A3 IgG4 y A4 IgG4 fueron sobrenadantes clonales. Los anticuerpos se diluyeron apropiadamente en tampón de migración, de modo que una inyección de 2 minutos a 10 μ l/min sobre la celda de flujo de ensayo dio lugar a aproximadamente 110 a 175 unidades de respuesta de anticuerpo capturado sobre la superficie de la celda de flujo de ensayo. Ningún anticuerpo fue capturado sobre la superficie de la celda de flujo de control. Después se hicieron fluir LPET humana, de cinomolgo o murina a diversas concentraciones, junto con blancos de tampón en las dos celdas de flujo. Los intervalos de concentración para LPET humana y de cinomolgo fueron de 0,44 a 100 nM, mientras que el intervalo de concentración para la LPET murina fue de 8,2 a 6000 nM. Se utilizó una velocidad de flujo de 50 μ l/min y una fase de asociación 2 minutos seguida de una fase de disociación de 10 a 30 minutos. Después de cada ciclo de las superficies se regeneraron con una inyección de 30 segundos de glicina 10 mM a pH 1,5. A continuación, se capturó el anticuerpo de nueva aportación en la celda de flujo de ensayo para prepararlo para el siguiente ciclo.

Se hizo referencia a los datos dos veces restando las respuestas de la superficie de control para eliminar los cambios de índice de refracción en masa, y luego restando la respuesta del blanco de tampón promediada para eliminar artefactos sistemáticos de las celdas de flujo experimentales. Los datos de LPET se procesaron y se ajustaron globalmente a un modelo de interacción 1:1 con un Rmax local en el soporte lógico de evaluación BIA v 4.1. (Biacore International AB, Uppsala, Suecia). Las constantes de la velocidad de asociación (k_a) y de disociación (k_d) se determinaron y se utilizaron para calcular la constante de equilibrio de disociación (K_D). Las constantes de la velocidad de disociación y las constantes de equilibrio de disociación se resumen en la tabla que se encuentra en el Ejemplo 6.

Ejemplo 6: Actividad in vitro de anticuerpos

Los siguientes anticuerpos se caracterizaron utilizando el análisis Biacore descrito anteriormente para determinar k_d y K_D . El análisis de células dendríticas primarias se utilizó para determinar la CI50 (pM). Los datos para A5 se generaron con anticuerpo clonal purificado, para A2 se generaron con anticuerpo purificado recombinante, y los datos para A3 y A4 se generaron utilizando el sobrenadante clonal. Todas las versiones de LPET se generaron a partir de células de mamífero.

Anticuerpo	LPET	Tasa de disociación k_d (1/x)	K_D (pM)	CI50 (pM)
A5 IgG2	LPET Hu	$70,36 \times 10^{-5}$	29,2	100-220
	LPET Cyno	$80,64 \times 10^{-5}$	51,2	680-970
	LPET Mu	$80,81 \times 10^{-4}$	377,000	Nd
A2 IgG1	LPET Hu	$30,49 \times 10^{-4}$	203	600-1700
	LPET Cyno	$10,04 \times 10^{-4}$	46,8	250-860
	LPET Mu	--	--	--
A2 IgG2	LPET Hu	$20,85 \times 10^{-4}$	157	6-24
	LPET Cyno	$90,42 \times 10^{-5}$	37,6	Nd
	LPET mu	sin unión	sin unión	n/a
A3 IgG4	LPET Hu	$20,7 \times 10^{-4}$	170	6-24
	LPET Cyno	Nd	nd	Nd
	LPET Mu	Nd	nd	Nd
A4 IgG4	LPET Hu	$30,30 \times 10^{-4}$	340	30-59
	LPET Cyno	Nd	nd	Nd
	LPET Mu	Nd	nd	Nd

Ejemplo 7: Expresión recombinante y purificación de anticuerpos

Desarrollo de la línea celular estable que expresa anticuerpos

Se sintetizaron oligonucleótidos solapantes correspondientes a la secuencia primaria del dominio variable de la cadena ligera o la cadena pesada para la hebra tanto efectora como antisentido. Esta reserva de oligonucleótidos se empleó en una PCR convencional. El producto de esta primera reacción se utilizó como molde en una segunda amplificación por PCR. Los fragmentos de la cadena pesada variable y de la cadena ligera variable amplificados se subclonaron en un vector intermedio y se secuenciaron para identificar los productos libres de errores. El fragmento de la cadena pesada variable se clonó en un vector de expresión transitoria que contenía un péptido señal y una

región constante de IgG2 humana. El fragmento de la cadena ligera variable se clonó en un vector de expresión transitoria que contenía un péptido señal y una región constante lambda humana. El gen completo de la cadena pesada se transfirió al vector pDC324. El gen completo de la cadena ligera se transfirió al vector de expresión, pDC323.

- 5 Los células anfitrionas CS-9 utilizadas para la transfección de los plásmidos de expresión anti-LPET son una línea celular CHO derivada de células DXB-11 a través de la adaptación a un medio libre de suero (Rasmussen et al, Cytotechnology 28: 31-42, 1998). Las líneas celulares anti-LPET se crearon mediante la transfección de las células anfitrionas CS-9 con los plásmidos de expresión pDC323-anti-LPET-lambda y pDC324-anti-LPET-IgG2 utilizando procedimientos de electroporación o de lipofección convencionales. Después de la transfección de la línea de células anfitrionas con los plásmidos de expresión, las células se cultivaron en medio de selección durante 2-3 semanas para permitir la selección de los plásmidos y la recuperación de las células. En algunos casos, el medio fue complementado con suero bovino fetal dializado al 3% (ds o DFBS). Si se utilizaba el suero, éste se retiraba del medio después del período de selección. Las células se cultivaron en medio selectivo hasta que alcanzaron > 85% de viabilidad. Esta reserva de células transfectadas se cultivó a continuación en medio de cultivo.
- 10

15 Clonación de la línea celular

Se elaboró un banco de células de clones seleccionados de acuerdo con el siguiente procedimiento. La etapa de clonación asegura que las poblaciones cloniales y los bancos de células se generaron permitiendo un funcionamiento reproducible en la fabricación comercial. Se sembró una reserva amplificada de las células que expresaban los anticuerpos bajo dilución limitante en placas de 96 pocillos, y se evaluaron los clones candidato para determinar el crecimiento y la productividad en estudios a pequeña escala.

20 Ejemplo 8: Competencia cruzada de anticuerpos

Una manera común de definir epítopos es a través de experimentos de competición. Se puede considerar que los anticuerpos que compiten entre sí se unen al mismo sitio sobre la diana. Este ejemplo describe un método de determinación de la competencia por la unión a LPET y los resultados del método cuando se aplica a numerosos anticuerpos descritos en la presente memoria.

25 Los experimentos de agrupamiento de píxeles ("binning") se pueden llevar a cabo de numerosas maneras, y el método empleado puede tener un efecto sobre los resultados del análisis. Es común a estos métodos que la LPET sea unida típicamente por un anticuerpo de referencia y sondada por otro. Si el anticuerpo de referencia evita a continuación la unión del anticuerpo sonda, se dice que los anticuerpos están en el mismo grupo ("bin"). El orden en 30 el que se emplean los anticuerpos es importante. Si el anticuerpo A se emplea como anticuerpo de referencia y bloquea la unión del anticuerpo B, lo contrario no siempre es cierto: el uso del anticuerpo B como anticuerpo de referencia no necesariamente va a bloquear el anticuerpo A. Hay una serie de factores en juego aquí: la unión de un anticuerpo puede causar cambios conformacionales en la diana que impiden la unión del segundo anticuerpo, o 35 epítopos que se superponen pero no se ocluyen por completo entre sí pueden permitir que el segundo anticuerpo tenga todavía suficientes interacciones de alta afinidad con la diana como para permitir la unión. Los anticuerpos con una afinidad mucho más alta pueden tener una mayor capacidad para lanzar un anticuerpo de bloqueo fuera del camino. En general, si se observa competencia en cualquier orden se dice que los anticuerpos se agrupan juntos, y si los dos anticuerpos pueden bloquearse entre sí, entonces es probable que los epítopos se solapen de forma más completa.

40 Para este ejemplo, se utilizó una modificación del método Multiplexed Binning descrito por Jia, et al. (J. Immunological Methods, 288 (2004) 91-98). Debido a la presencia de un sitio de escisión de furina dentro de LPET, que puede conducir a la heterogeneidad de las preparaciones de proteína LPET, se utilizó una LPET que tenía la arginina del sitio de escisión de furina mutado a alanina. Véase el documento U.S. 7.288.633. Cada Código de Cuenta (Bead Code) de las cuentas de Luminex recubiertas con estreptavidina (Luminex, Núm. L100-L1XX-01, XX 45 especifica el código de cuenta) se incubó en 100 µl de 6 pg/cuenta de anticuerpo de captura anti-IgG humana de ratón monovalente biotinilado (BD Pharmingen, Núm. 555785) durante 1 hora a la temperatura ambiente en la oscuridad, después se lavaron 3 veces con PBSA, solución salina tamponada con fosfato (PBS) más albúmina de suero bovino al 1% (BSA). Cada código de cuenta se incubó por separado con 100 µl de una dilución 1:10 de anticuerpo anti-LPET (Anticuerpo de Recubrimiento) durante 1 hora, luego se lavó. Las cuentas se reunieron, a 50 continuación se dispensaron a una placa de filtro de 96 pocillos (Millipore, Núm. MSBVN1250). Se añadieron 100 µl de LPET 2 µg/ml de LPET parental a la mitad de los pocillos y tampón a la otra mitad y se incubaron durante 1 hora, después se lavaron. Se añadieron 100 µl de una dilución 1:10 de anticuerpo anti-LPET (Detección de Ab) a un pocillo con LPET y un pocillo sin LPET, se incubaron durante 1 hora, después se lavaron. Se ejecutaron una IgG humana irrelevante (Jackson, Núm. 009-000-003), así como un estado sin anticuerpo (blanco) como controles negativos. Se añadieron 20 µl de anticuerpo anti-IgG humana de ratón monovalente conjugado con PE (BD Pharmingen, Núm. 555787) a cada pocillo y se incubaron durante 1 hora, después se lavaron. Las cuentas se 55 volvieron a suspender en 75 µl de PBSA y se recogieron al menos 100 eventos/código de cuenta en el aparato BioPlex (BioRad).

Se restó la Mediana de la Intensidad de Fluorescencia (MFI) del par de anticuerpos sin LPET de la señal de la

reacción correspondiente que contenía LPET. Para considerar que el par de anticuerpos está unido simultáneamente, y por lo tanto en diferentes grupos, el valor de la reacción tenía que cumplir dos criterios: 1) los valores tenían que ser de 2 veces mayores que el anticuerpo de recubrimiento emparejado consigo mismo, el irrelevante o el blanco, lo que fuera más alto, y 2) los valores tenían que ser mayores que la señal del anticuerpo de detección presente con las cuentas recubiertas con el irrelevante o con el blanco.

El análisis de la competencia entre los anticuerpos se complica por el hecho de que había una incongruencia entre el rendimiento de los anticuerpos como sondas frente a su rendimiento como bloqueadores. Sin embargo, si se tenían en cuenta sólo los grupos de anticuerpos que eran inequívocos (es decir, cada anticuerpo bloqueará los otros cuando se utilice como una referencia) se encontraba un mínimo de ocho grupos como se muestra en la Tabla 4 a continuación.

Tabla 4

<u>Grupo 1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>
A5	A6	A27	A24	A10	A4	A2	A23
A17	A7	A11	A12	A26	A23	A21	A6
A6	A11	A24	A10	A4			
			A26				

Es notable que algunos anticuerpos, tales como A23 y A6, se encuentran en múltiples grupos. Es posible determinar otras relaciones de agrupación, y la inclusión o exclusión de anticuerpos a partir de estos grupos era sesgada hacia la exclusión.

Los resultados del análisis determinaron cuál de los otros anticuerpos competía de manera cruzada por la unión con el anticuerpo de referencia. Por "compete de manera cruzada por la unión" se entiende que el anticuerpo de referencia, cuando se utiliza como anticuerpo de bloqueo, es capaz de bloquear la unión del otro anticuerpo cuando se utiliza como una sonda y viceversa. En otras palabras, si el anticuerpo de referencia era capaz de bloquear el otro anticuerpo, pero el otro anticuerpo no era capaz de bloquear el anticuerpo de referencia, no se diría que los anticuerpos presentan competencia cruzada. Una lista de los anticuerpos que presentan competencia cruzada se proporciona en la Tabla 5.

Tabla 5

Anticuerpo de referencia	Anticuerpos que presentan competencia cruzada ilustrativos
A2	A21, A23
A4	A10, A23, A26
A5	A6, A8, A11, A17
A6	A5, A7, A8, A11, A17, A23
A7	A6, A8, A11, A17
A8	A5, A6, A7, A17, A23
A10	A4, A12, A24, A26
A11	A5, A6, A7, A17, A24, A27
A12	A10, A24, A26

Anticuerpo de referencia	Anticuerpos que presentan competencia cruzada ilustrativos
A17	A5, A6, A7, A8, A11
A21	A2, A23, A27
A23	A2, A4, A6, A8, A21
A24	A10, A11, A12, A26, A27
A26	A4, A 10, A 12, A24
A27	A11, A21, A24

Ejemplo 9: Mapeo epitópico

Mientras que a menudo se consideran que los epítopos son secuencias lineales, es más frecuente el caso en el que un anticuerpo reconoce una cara de la diana que se compone de aminoácidos discontinuos. Estos aminoácidos pueden estar muy separados sobre la secuencia lineal pero aproximarse por medio del plegamiento de la diana, y los anticuerpos que reconocen semejante epítopo se conocen como anticuerpos sensibles a la conformación o simplemente conformatacionales. Este tipo de unión se puede definir mediante el uso de transferencias Western desnaturalizadas, en donde antes de circular sobre un gel la diana se calienta en presencia de detergente y un agente reductor para desplegarla. La transferencia de este gel puede ser sondeada a continuación por anticuerpos, y un anticuerpo que sea capaz de reconocer la diana después de este tratamiento probablemente reconozca un epítopo lineal. Aunque los epítopos de anticuerpos que unen secuencias lineales pueden ser definidos mediante la unión a péptidos (p. ej., PepSpot), no se esperaría que los anticuerpos conformatacionales se unieran a péptidos convencionales con alta afinidad.

Se cargó proteína LPET parental purificada, desnaturizada por calor, reducida sobre gel Bis-Tris NuPAGE al 10% en Tampón de Migración MES SDS. La proteína se transfirió a una membrana PVDF, se bloqueó con leche en polvo desnatada al 5% (NFDM) en PBS + Tween al 0,05% (PBST), y se incubó con anticuerpos para LPET durante 1 hora a RT. Las transferencias se lavaron 3 veces en PBST, después se incubaron con un anticuerpo secundario anti-hulgG de cabra durante 1 hora a la RT. Las transferencias se lavaron de nuevo y se incubaron con anti-IgG de cabra:Alexa 680. Después de lavar 3 veces en PBST, las transferencias se escanearon en el LiCor para visualizar las bandas.

Los anticuerpos A2, A4, A5, A6, A7, A10, A21, A23, y A26 se caracterizaron utilizando este método. Los anticuerpos A2, A4, y A5 se unieron al epítopo lineal como se evidencia por una banda fuerte en la Transferencia Western. Todos los otros anticuerpos fueron conformatacionales debido a las bandas nulas o muy débiles en la Transferencia Western.

Los epítopos se pueden definir adicionalmente como estructurales o funcionales. Los epítopos funcionales son generalmente un subconjunto de los epítopos estructurales y consisten en aquellos residuos que contribuyen directamente a la afinidad de la interacción (p. ej., enlaces de hidrógeno, interacciones iónicas). Los epítopos estructurales pueden ser considerados como el parche de la diana que está cubierta por el anticuerpo.

Se empleó la mutagénesis de barrido para definir aún más los epítopos unidos por los anticuerpos. Se utiliza una mutagénesis de barrido con alanina con frecuencia para definir los epítopos funcionales; la sustitución de alanina (cadena lateral de metilo) es esencialmente una amputación de la cadena lateral de tipo salvaje de los aminoácidos y es bastante útil. Las interacciones con el esqueleto de la proteína, tales como la unión de hidrógeno a los enlaces amida, probablemente no se revelarían con el barrido de alanina. En su lugar, se utilizó mutagénesis de barrido con arginina y ácido glutámico. Estas dos cadenas laterales se eligieron debido a su gran volumen estérico y su carga, que permiten que las mutaciones que se producen en el epítopo estructural tengan un mayor efecto sobre la unión del anticuerpo. La arginina se empleaba generalmente excepto cuando el residuo WT era arginina o lisina, y en estos casos el residuo se mutaba a ácido glutámico para cambiar la carga. En algunos casos, el residuo WT se mutaba tanto a arginina como a ácido glutámico.

Se seleccionaron noventa y cinco aminoácidos, distribuidos a lo largo de LPET, para la mutación a arginina o ácido glutámico. Puesto que los residuos hidrófobos se encuentran generalmente en el interior del núcleo plegado de una proteína, la selección se sesgada hacia aminoácidos cargados o polares para reducir la probabilidad de que la mutación diera como resultado una proteína mal plegada. Como no había estructura cristalina, estos residuos se eligieron esencialmente al azar y se distribuyeron en toda la LPET. Como se describe en el Ejemplo 8, se utilizó una

LPET que contenía un sitio de escisión de furina mutado.

Se utilizó un análisis de unión BioPlex™ para medir la unión de los anticuerpos anti-LPET a LPET mutante. Se unió un Ab Penta-His biotinilado (Qiagen, Lote Núm: 130163339) sobre 100 códigos de cuentas de cuentas recubiertas de estreptavidina (Luminex, Núm L100-L1XX-01, XX especifica el código de cuenta). Estos se utilizaron para capturar la proteína etiquetada con His. Los 100 códigos de cuenta permitieron la multiplexación de los 85 mutantes, 3 controles parentales, una proteína irrelevante y 12 blancos. La unión del anticuerpo a la proteína mutante se comparó con la unión del anticuerpo al parental.

Se unieron 100 μ L de una dilución 1:5 de los mutantes de LPET y los parentales en sobrenadante y 1 μ g/ml de LPET WT purificada, 1 μ g/ml de proteína irrelevante o ninguna proteína a las cuentas recubiertas durante 1 hora a la RT con agitación vigorosa. Las cuentas se lavaron y se dividieron en alícuotas en una placa de filtro de 96 pocillos (Millipore). Se añadieron 100 μ L de anticuerpos anti-LPET en diluciones a la cuarta a pocillos por triplicado, se incubaron durante 0,5 horas a la temperatura ambiente y se lavaron. Se añadieron 100 μ L de una dilución 1:250 de anti-Fc de IgG humana conjugada con PE (Jackson, Núm. 109-116-170) a cada pocillo, se incubaron durante 0,5 horas y se lavaron. Las cuentas se volvieron a suspender en 75 μ L, se agitaron durante al menos 3 min, y se leyeron en el BioPlex™.

Un residuo se consideraba parte del epítopo estructural (un "éxito") cuando al mutarlo a arginina o ácido glutámico interrumpía la unión del anticuerpo. Esto se observó como un desplazamiento en la CE50 o una reducción de la señal máxima en comparación con la unión del anticuerpo a LPET parental.

Se utilizaron análisis estadísticos de curvas de unión de anticuerpos a parentales y mutantes para identificar los desplazamientos de EC50 estadísticamente significativos. El análisis tuvo en cuenta la variación en el análisis y el ajuste de curvas.

Se compararon las CE50 de las curvas de unión a los mutantes y de las curvas de unión a los parentales. Se identificaron las diferencias estadísticamente significativas como éxitos para una consideración adicional. Las curvas con etiquetas "sin ajuste" o "mal ajuste" fueron excluidas de este análisis.

Se consideraron dos fuentes de variaciones en la comparación de las estimaciones de la CE50, la variación del ajuste de la curva y la variación de cuenta a cuenta. Los parentales y los mutantes estaban ligados a diferentes cuentas, por lo tanto, su diferencia se confundía con la diferencia de cuenta a cuenta. La variación del ajuste de la curva se estimó por medio del error típico de las estimaciones de la CE50 de registro. La variación de cuenta a cuenta se determinó experimentalmente usando un experimento donde los controles parentales estaban ligados a cada una de las cuentas. La variación de las cuentas en las estimaciones de la CE50 de la curva de unión parental se utilizó para estimar la variación de cuenta a cuenta.

Las comparaciones de dos CE50 (en escala logarítmica) se llevaron a cabo utilizando la prueba t de Student. Un estadístico t se calcula como la razón entre delta (las diferencias absolutas entre las estimaciones de CE50) y la desviación típica de delta. La varianza de delta se calcula por la suma de los tres componentes, la estimación de la varianza de CE50 para las curvas mutantes y parentales en la regresión no lineal y dos veces la varianza de cuenta a cuenta estimada a partir de un experimento separado. El múltiplo de dos para la varianza de cuenta a cuenta se debe a la suposición de que tanto las cuentas mutantes como parentales tienen la misma varianza.

El grado de libertad de la desviación típica de delta se calculó utilizando la aproximación de Satterthwaite (1946). Los valores de p individuales y los intervalos de confianza (95% y 99%) se obtuvieron basándose en la distribución de la t de Student para cada comparación. En el caso de múltiples controles parentales, se implementó un enfoque conservativo escogiendo el control parental que era más similar al mutante, es decir, escogiendo aquellos con los valores de p mayores.

Los ajustes de multiplicidad fueron importantes para controlar los falsos positivos a la vez que se llevó a cabo un gran número de ensayos de forma simultánea. Se llevaron a cabo dos formas de ajuste de la multiplicidad para este análisis: el control del error global (FWE por sus siglas en inglés) y el control de la tasa de falso descubrimiento (FDR por sus siglas en inglés). El enfoque FWE controla la probabilidad de que uno o más éxitos no sean reales; el enfoque FDR controla la proporción esperada de falsos positivos entre los éxitos seleccionados. El primer enfoque es más conservativo y menos potente que el último. Hay muchos métodos disponibles para ambos enfoques, para este análisis, se eligió el método de Hochberg (1988) para el análisis de FWE y el método de FDR de Benjamini-Hochberg (1995) para el análisis de FDR. Los valores de p ajustados para ambos enfoques se calcularon para cada anticuerpo o para todo el análisis.

Las mutaciones cuya CE50 fue significativamente diferente de la parental, es decir, que tenían un valor de p ajustado a FWE para cada anticuerpo de menos de 0,01, o una señal máxima por debajo de 50% de la parental fueron consideradas parte del epítopo estructural (Tabla 6). Las mutaciones que fueron significativas por un desplazamiento de la CE50 o una reducción de la señal máxima para todos los anticuerpos se consideraron mal plegadas. Estas mutaciones fueron; Y15R, T55R, T74R y A77R.

Tabla 6. Resumen de mutaciones que afectan a la unión del anticuerpo en BioPlex y son parte del epítopo

estructural.

Anticuerpo	Lineal	Aumento de la afinidad de unión	Disminución de la afinidad de unión
A2	Sí	K67E, K97E, K98E, R100E, K101E, K103E	K21E, T25R, S28R, S64R, K73E
A4	Sí	K97E, K98E, R100E, K101E, K103E	K10E, A14R, K21E, D22R, K73E, K75E, A76R
A5	Sí		K12E, D22R, S40R, R122E, N124E, R125E, K129E
A6	No		S40R, S42R, H46R, R122E, K129E
A7	No	K101E	D2R, T4R, D7R, S42R, H46R, T49R, E50R, Q112R, R122E, R125E, K129E
A10	No	K97E, K98E, R100E, K101E, K103E	N5R, S17R, T18R, K21E, D22R, T25R, T33R, H46R, A63R, S64R, A66R, E68R, K73E, K75E, A76R, A92R, T93R, Q94R, A95R
A21	No	K97E, K98E, R100E, K101E, K103E	K21E, K21R, D22R, T25R, T33R, S64R, K73E, K75E, E111R, S114R
A23	No	K67E, K97E, K98E, R100E, K101E, K103E	E9R, K10E, K12E, A13R, S17R, S20R, K21E, K21R, K73E, K75E, N124E, R125E
A26	No	K97E, K98E, R100E, K101E, K103E	A14R, K21E, D22R, A63R, S64R, K67E, K73E, A76R, A92R, A95R

Había varias mutaciones que interrumpían la unión de múltiples anticuerpos, en particular K73E, K21E, y D22R. La mutagénesis sirve para verificar los datos generados por el agrupamiento y para estrechar aún más en el espacio del epítopo. Las mutaciones en LPET parecen afectar a agrupaciones de anticuerpos que se agrupan juntos.

- 5 Ejemplo 10: Toxicología
- Los anticuerpos que se unen a LPET humana pero también presentan reacción cruzada con LPET de otras especies permiten ensayos de toxicología en esas especies. En este ejemplo, se administró un anticuerpo que reaccionaba de forma cruzada con LPET de mono cinomolgo a monos cinomolgos. Los monos se observaron a continuación para determinar los efectos tóxicos.
- 10 Un estudio de farmacología de seguridad de dosis única en monos cinomolgos indica que una sola dosis intravenosa de 300 mg/kg del anticuerpo no tenía efectos cardiovasculares, respiratorios, sobre la temperatura corporal, o neuroconductuales.
- 15 A los monos cinomolgos (5/sexo/grupo) se les administraron dosis de 30, 100 o 300 mg/kg una vez por semana durante 4 semanas, por vía subcutánea. No se observó toxicología adversa a ninguna dosis. El anticuerpo no afectó a las observaciones clínicas, al peso corporal, a la oftalmología, a los ECG, a la patología clínica o a la patología anatómica.
- 20 En un estudio separado, a cuatro monos cinomolgos sometidos a telemetría se les administró una sola dosis intravenosa de vehículo (día 1) y 300 mg/kg de anticuerpo (día 3). Durante un periodo de observación de cuatro días no se observaron efectos sobre las enfermedades cardiovasculares, respiratorias, o sobre la función neurológica.
- El anticuerpo se sometió a ensayo adicionalmente para determinar la reactividad cruzada con tejido humano normal y de mono cinomolgo como se recomienda en la guía de la FDA "Points to Consider in the Manufacture and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use" (FDA Center for Biologics Evaluation and Research, 28 de Febrero de 1997). No se observó tinción del tejido normal a 1 o 50 µg/ml.
- 25 Los resultados anteriores sugieren que no se espera que el anticuerpo produzca efectos tóxicos en los seres humanos.

ES 2 581 229 T3

LISTA DE SECUENCIAS

<110> AMGEN INC.
5 COMEAU, MICHAEL R.
SMOTHERS, JAMES F.
YOON, BO-RIN P.
MEHLIN, CHRISTOPHER

<120> PROTEÍNAS DE UNIÓN A ANTÍGENO CAPACES DE UNIRSE A LINFOPOYETINA
10 ESTROMAL TÍMICA

<130> A-1276-WO-PCT

<140> --pendiente de cesión--
15 <141> 2008-09-09

<140> 61/091,676
<141> 2008-08-25

20 <150> 60/971,178
<151> 2007-09-10

<160> 382

25 <170> PatentIn versión 3.3

<210> 1
<211> 743
<212> ADN
30 <213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (200)..(676)

35 <400> 1
gcagccagaa agctctggag catcagggag actccaactt aaggcaacag catgggtgaa 60
taaggccttc ctgtggactg gcaatgagag gcaaaacctg gtgcttgagc actggccct
40 aaggcaggcc ttacagatct cttacactcg tggtggaaag agtttagtgt gaaactgggg 120
tggaattggg tgtccacgt atg ttc cct ttt gcc tta cta tat gtt ctg tca 232
Met Phe Pro Phe Ala Leu Leu Tyr Val Leu Ser
45 1 5 10

50 gtt tct ttc agg aaa atc ttc atc tta caa ctt gta ggg ctg gtg tta 280
Val Ser Phe Arg Lys Ile Phe Ile Leu Gln Leu Val Gly Leu Val Leu
15 20 25

act tac gac ttc act aac tgt gac ttt gag aag att aaa gca gcc tat 328
Thr Tyr Asp Phe Thr Asn Cys Asp Phe Glu Lys Ile Lys Ala Ala Tyr
30 35 40

55 ctc agt act att tct aaa gac ctg att aca tat atg agt ggg acc aaa 376
Leu Ser Thr Ile Ser Lys Asp Leu Ile Thr Tyr Met Ser Gly Thr Lys
45 50 55

ES 2 581 229 T3

	agt acc gag ttc aac aac acc gtc tct tgt agc aat cgg cca cat tgc	424		
	Ser Thr Glu Phe Asn Asn Thr Val Ser Cys Ser Asn Arg Pro His Cys			
60	65	70	75	
5	ctt act gaa atc cag agc cta acc ttc aat ccc acc gcc ggc tgc gcg	472		
	Leu Thr Glu Ile Gln Ser Leu Thr Phe Asn Pro Thr Ala Gly Cys Ala			
	80	85	90	
10	tcg ctc gcc aaa gaa atg ttc gcc atg aaa act aag gct gcc tta gct	520		
	Ser Leu Ala Lys Glu Met Phe Ala Met Lys Thr Lys Ala Ala Leu Ala			
	95	100	105	
15	atc tgg tgc cca ggc tat tcg gaa act cag ata aat gct act cag gca	568		
	Ile Trp Cys Pro Gly Tyr Ser Glu Thr Gln Ile Asn Ala Thr Gln Ala			
	110	115	120	
	atg aag aag agg aga aaa agg aaa gtc aca acc aat aaa tgt ctg gaa	616		
	Met Lys Lys Arg Arg Lys Arg Lys Val Thr Thr Asn Lys Cys Leu Glu			
	125	130	135	
20	caa gtg tca caa tta caa gga ttg tgg cgt cgc ttc aat cga cct tta	664		
	Gln Val Ser Gln Leu Gln Gly Leu Trp Arg Arg Phe Asn Arg Pro Leu			
	140	145	150	155
25	ctg aaa caa cag taaaccatct ttattatggc catatttcac agcccaaaat	716		
	Leu Lys Gln Gln			
	aaatcatctt tattaagtaa aaaaaaa	743		
30				
	<210> 2			
	<211> 159			
	<212> PRT			
35	<213> Homo sapiens			
	<400> 2			
	Met Phe Pro Phe Ala Leu Leu Tyr Val Leu Ser Val Ser Phe Arg Lys			
	1	5	10	15
40				
	Ile Phe Ile Leu Gln Leu Val Gly Leu Val Leu Thr Tyr Asp Phe Thr			
	20	25	30	
45				
	Asn Cys Asp Phe Glu Lys Ile Lys Ala Ala Tyr Leu Ser Thr Ile Ser			
	35	40	45	
50	Lys Asp Leu Ile Thr Tyr Met Ser Gly Thr Lys Ser Thr Glu Phe Asn			
	50	55	60	
55	Asn Thr Val Ser Cys Ser Asn Arg Pro His Cys Leu Thr Glu Ile Gln			
	65	70	75	80
	Ser Leu Thr Phe Asn Pro Thr Ala Gly Cys Ala Ser Leu Ala Lys Glu			

ES 2 581 229 T3

	85	90	95	
5	Met Phe Ala Met Lys Thr Lys Ala Ala Leu Ala Ile Trp Cys Pro Gly 100	105	110	
10	Tyr Ser Glu Thr Gln Ile Asn Ala Thr Gln Ala Met Lys Lys Arg Arg 115	120	125	
	Lys Arg Lys Val Thr Thr Asn Lys Cys Leu Glu Gln Val Ser Gln Leu 130	135	140	
15	Gln Gly Leu Trp Arg Arg Phe Asn Arg Pro Leu Leu Lys Gln Gln 145	150	155	
20	<210> 3 <211> 1116 <212> ADN <213> Homo sapiens			
25	<220> <221> CDS <222> (1)..(1116)			
30	<400> 3 atg ggg cgg ctg gtt ctg ctg tgg gga gct gcc gtc ttt ctg ctg gga Met Gly Arg Leu Val Leu Leu Trp Gly Ala Ala Val Phe Leu Leu Gly 1 5 10 15			48
35	ggc tgg atg gct ttg ggg caa gga gca gca gaa gga gta cag att Gly Trp Met Ala Leu Gly Gln Gly Ala Ala Glu Gly Val Gln Ile 20 25 30			96
40	cag atc atc tac ttc aat tta gaa acc gtg cag gtg aca tgg aat gcc Gln Ile Ile Tyr Phe Asn Leu Glu Thr Val Gln Val Thr Trp Asn Ala 35 40 45			144
45	agc aaa tac tcc agg acc aac ctg act ttc cac tac aga ttc aac ggt Ser Lys Tyr Ser Arg Thr Asn Leu Thr Phe His Tyr Arg Phe Asn Gly 50 55 60			192
	gat gag gcc tat gac cag tgc acc aac tac ctt ctc cag gaa ggt cac Asp Glu Ala Tyr Asp Gln Cys Thr Asn Tyr Leu Leu Gln Glu Gly His 65 70 75 80			240
50	act tca ggg tgc ctc cta gac gca gag cag cga gac gac att ctc tat Thr Ser Gly Cys Leu Leu Asp Ala Glu Gln Arg Asp Asp Ile Leu Tyr 85 90 95			288
55	ttc tcc atc agg aat ggg acg cac ccc gtt ttc acc gca agt cgc tgg Phe Ser Ile Arg Asn Gly Thr His Pro Val Phe Thr Ala Ser Arg Trp 100 105 110			336
	atg gtt tat tac ctg aaa ccc agt tcc ccg aag cac gtg aga ttt tcg			384

ES 2 581 229 T3

	Met Val Tyr Tyr Leu Lys Pro Ser Ser Pro Lys His Val Arg Phe Ser			
	115	120	125	
	tgg cat cag gat gca gtg acg gtg acg tgt tct gac ctg tcc tac ggg		432	
5	Trp His Gln Asp Ala Val Thr Val Thr Cys Ser Asp Leu Ser Tyr Gly			
	130	135	140	
	gat ctc ctc tat gag gtt cag tac cggtt acc ccc gac acc gag tgg		480	
	Asp Leu Leu Tyr Glu Val Gln Tyr Arg Ser Pro Phe Asp Thr Glu Trp			
10	145	150	155	160
	cag tcc aaa cag gaa aat acc tgc aac gtc acc ata gaa ggc ttg gat		528	
	Gln Ser Lys Gln Glu Asn Thr Cys Asn Val Thr Ile Glu Gly Leu Asp			
	165	170	175	
15	gcc gag aag tgt tac tct ttc tgg gtc agg gtg aag gct atg gag gat		576	
	Ala Glu Lys Cys Tyr Ser Phe Trp Val Arg Val Lys Ala Met Glu Asp			
	180	185	190	
20	gta tat ggg cca gac aca tac cca agc gac tgg tca gag gtg aca tgc		624	
	Val Tyr Gly Pro Asp Thr Tyr Pro Ser Asp Trp Ser Glu Val Thr Cys			
	195	200	205	
25	tgg cag aga ggc gag att cggtt gat gcc tgt gca gag aca cca acg cct		672	
	Trp Gln Arg Gly Glu Ile Arg Asp Ala Cys Ala Glu Thr Pro Thr Pro			
	210	215	220	
	ccc aaa cca aag ctg tcc aaa ttt att tta att tcc agc ctg gcc atc		720	
	Pro Lys Pro Lys Leu Ser Lys Phe Ile Leu Ile Ser Ser Leu Ala Ile			
30	225	230	235	240
	ctt ctg atg gtg tct ctc ctc ctt ctg tct tta tgg aaa tta tgg aga		768	
	Leu Leu Met Val Ser Leu Leu Leu Ser Leu Trp Lys Leu Trp Arg			
	245	250	255	
35	gtg aag aag ttt ctc att ccc agc gtg cca gac ccg aaa tcc atc ttc		816	
	Val Lys Lys Phe Leu Ile Pro Ser Val Pro Asp Pro Lys Ser Ile Phe			
	260	265	270	
40	ccc ggg ctc ttt gag ata cac caa ggg aac ttc cag gag tgg atc aca		864	
	Pro Gly Leu Phe Glu Ile His Gln Gly Asn Phe Gln Glu Trp Ile Thr			
	275	280	285	
45	gac acc cag aac gtg gcc cac ctc cac aag atg gca ggt gca gag caa		912	
	Asp Thr Gln Asn Val Ala His Leu His Lys Met Ala Gly Ala Glu Gln			
	290	295	300	
	gaa agt ggc ccc gag gag ccc ctg gta gtc cag ttg gcc aag act gaa		960	
	Glu Ser Gly Pro Glu Glu Pro Leu Val Val Gln Leu Ala Lys Thr Glu			
50	305	310	315	320
	gcc gag tct ccc agg atg ctg gac cca cag acc gag gag aaa gag gcc		1008	
	Ala Glu Ser Pro Arg Met Leu Asp Pro Gln Thr Glu Glu Lys Glu Ala			
	325	330	335	
55	tct ggg gga tcc ctc cag ctt ccc cac cag ccc ctc caa ggc ggt gat		1056	
	Ser Gly Gly Ser Leu Gln Leu Pro His Gln Pro Leu Gln Gly Gly Asp			
	340	345	350	

ES 2 581 229 T3

gtg gtc aca atc ggg ggc ttc acc ttt gtg atg aat gac cgc tcc tac		1104	
Val Val Thr Ile Gly Gly Phe Thr Phe Val Met Asn Asp Arg Ser Tyr			
355	360	365	
5			
gtg gcg ttg tga		1116	
Val Ala Leu			
370			
10			
<210> 4			
<211> 371			
<212> PRT			
<213> Homo sapiens			
15			
<400> 4			
Met Gly Arg Leu Val Leu Leu Trp Gly Ala Ala Val Phe Leu Leu Gly			
1	5	10	15
20			
Gly Trp Met Ala Leu Gly Gln Gly Gly Ala Ala Glu Gly Val Gln Ile			
20	25	30	
25			
Gln Ile Ile Tyr Phe Asn Leu Glu Thr Val Gln Val Thr Trp Asn Ala			
35	40	45	
30			
Ser Lys Tyr Ser Arg Thr Asn Leu Thr Phe His Tyr Arg Phe Asn Gly			
50	55	60	
35			
Asp Glu Ala Tyr Asp Gln Cys Thr Asn Tyr Leu Leu Gln Glu Gly His			
65	70	75	80
Thr Ser Gly Cys Leu Leu Asp Ala Glu Gln Arg Asp Asp Ile Leu Tyr			
85	90	95	
40			
Phe Ser Ile Arg Asn Gly Thr His Pro Val Phe Thr Ala Ser Arg Trp			
100	105	110	
45			
Met Val Tyr Tyr Leu Lys Pro Ser Ser Pro Lys His Val Arg Phe Ser			
115	120	125	
50			
Trp His Gln Asp Ala Val Thr Val Thr Cys Ser Asp Leu Ser Tyr Gly			
130	135	140	
55			
Asp Leu Leu Tyr Glu Val Gln Tyr Arg Ser Pro Phe Asp Thr Glu Trp			
145	150	155	160
Gln Ser Lys Gln Glu Asn Thr Cys Asn Val Thr Ile Glu Gly Leu Asp			
165	170	175	

ES 2 581 229 T3

Ala Glu Lys Cys Tyr Ser Phe Trp Val Arg Val Lys Ala Met Glu Asp
180 185 190

5

Val Tyr Gly Pro Asp Thr Tyr Pro Ser Asp Trp Ser Glu Val Thr Cys
195 200 205

10

Trp Gln Arg Gly Glu Ile Arg Asp Ala Cys Ala Glu Thr Pro Thr Pro
210 215 220

15

Pro Lys Pro Lys Leu Ser Lys Phe Ile Leu Ile Ser Ser Leu Ala Ile
225 230 235 240

20

Leu Leu Met Val Ser Leu Leu Leu Ser Leu Trp Lys Leu Trp Arg
245 250 255

25

Val Lys Lys Phe Leu Ile Pro Ser Val Pro Asp Pro Lys Ser Ile Phe
260 265 270

Pro Gly Leu Phe Glu Ile His Gln Gly Asn Phe Gln Glu Trp Ile Thr
275 280 285

30

Asp Thr Gln Asn Val Ala His Leu His Lys Met Ala Gly Ala Glu Gln
290 295 300

35

Glu Ser Gly Pro Glu Glu Pro Leu Val Val Gln Leu Ala Lys Thr Glu
305 310 315 320

40

Ala Glu Ser Pro Arg Met Leu Asp Pro Gln Thr Glu Glu Lys Glu Ala
325 330 335

45

Ser Gly Gly Ser Leu Gln Leu Pro His Gln Pro Leu Gln Gly Gly Asp
340 345 350

Val Val Thr Ile Gly Gly Phe Thr Phe Val Met Asn Asp Arg Ser Tyr
355 360 365

50

Val Ala Leu
370

55

<210> 5
<211> 33
<212> ADN
<213> Homo sapiens

ES 2 581 229 T3

<400> 5		
caaggagaca gcctcagaag ctattatgca agc		33
 5		
<210> 6		
<211> 11		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
 10		
<400> 6		
Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser		
1 5 10		
 15		
<210> 7		
<211> 33		
<212> ADN		
<213> Homo sapiens		
 20		
<400> 7		
caaggagaca gcctcagaac ctattatgca agc		33
 25		
<210> 8		
<211> 11		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
 30		
<400> 8		
Gln Gly Asp Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser		
1 5 10		
 35		
<210> 9		
<211> 42		
<212> ADN		
<213> Homo sapiens		
 40		
<400> 9		
actgggagca gctccaacat cggggcaggt tttgatgtac ac		42
 45		
<210> 10		
<211> 14		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
 50		
<400> 10		
Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Phe Asp Val His		
1 5 10		
 55		
<210> 11		
<211> 42		
<212> ADN		
<213> Homo sapiens		

ES 2 581 229 T3

<400> 11		
actgggagca gctccaacat cggggcaggt tttgatgtgc ac		42
 5 <210> 12		
<211> 33		
<212> ADN		
<213> Homo sapiens		
 10 <400> 12		
gggggaaaca accttggaaag taaaagtgtg cac		33
 15 <210> 13		
<211> 11		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
 20 <400> 13		
Gly Gly Asn Asn Leu Gly Ser Lys Ser Val His		
1 5 10		
 25 <210> 14		
<211> 33		
<212> ADN		
<213> Homo sapiens		
 30 <400> 14		
tctggagata aattggggga taaatatgct tgc		33
 35 <210> 15		
<211> 11		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
 40 <400> 15		
Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala Cys		
1 5 10		
 45 <210> 16		
<211> 33		
<212> ADN		
<213> Homo sapiens		
 50 <400> 16		
caaggagaca gcctcagaat cttttatgca aac		33
 55 <210> 17		
<211> 11		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
 60 <400> 17		
Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ile Phe Tyr Ala Asn		

ES 2 581 229 T3

	1	5	10
	<210> 18		
5	<211> 33		
	<212> ADN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 18		
10	cgggcaatc agtacattag cacctattta aat		33
	<210> 19		
	<211> 11		
15	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 19		
20	Arg Ala Asn Gln Tyr Ile Ser Thr Tyr Leu Asn		
	1	5	10
	<210> 20		
	<211> 51		
25	<212> ADN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 20		
30	aagtccagcc agagtgtttt aaacagctcc aacaataaga actacttagc t		51
	<210> 21		
	<211> 17		
	<212> PRT		
35	<213> Homo sapiens		
	<400> 21		
	Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asn Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu		
	1	5	10
40			15
	Ala		
45			
	<210> 22		
	<211> 33		
	<212> ADN		
	<213> Homo sapiens		
50	<400> 22		
	cgggcgagtc agggtattag tagctggta gcc		33
	<210> 23		
55	<211> 11		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		

ES 2 581 229 T3

```

<400> 23
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
1           5           10
5

<210> 24
<211> 48
<212> ADN
10 <213> Homo sapiens

<400> 24
aggtagtgc aaagcctcgat ctacagtgtat ggagacacct acttgaaat          48

15
<210> 25
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens
20
<400> 25
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser Asp Gly Asp Thr Tyr Leu Asn
1           5           10           15

25
<210> 26
<211> 33
<212> ADN
<213> Homo sapiens
30
<400> 26
cggcgagtc agggcttag cagctggta gcc          33

35 <210> 27
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

40 <400> 27
Arg Ala Ser Gln Gly Leu Ser Ser Trp Leu Ala
1           5           10

45 <210> 28
<211> 48
<212> ADN
<213> Homo sapiens

50 <400> 28
aggtagtgc aaagcctcgat ctacagtgtat ggaaaacacct acttgaaat          48

55 <210> 29
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

ES 2 581 229 T3

<400> 29
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

5 <210> 30
<211> 48
<212> ADN
<213> Homo sapiens

10 <400> 30
aggtagtgc aaagcctcat atacagtgtat ggaaacactt acttgaat 48

15 <210> 31
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20 <400> 31
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Ile Tyr Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

25 <210> 32
<211> 48
<212> ADN
<213> Homo sapiens

30 <400> 32
aggtagtgc aaagcctcgat atacagtgtat ggaaacacctt acttgaat 48

35 <210> 33
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

40 <400> 33
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

45 <210> 34
<211> 33
<212> ADN
<213> Homo sapiens

50 <400> 34
cgggcgagtc agagtcttag cagctggta gcc 33

55 <210> 35
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 35

ES 2 581 229 T3

Arg Ala Ser Gln Ser Leu Ser Ser Trp Leu Ala
1 5 10

5 <210> 36
<211> 42
<212> ADN
<213> Homo sapiens

10 <400> 36 ggcttgaact ctggctcagt ctctactagt tacttccccca gc 42

15 <210> 37
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20 <400> 37 Gly Leu Asn Ser Gly Ser Val Ser Thr Ser Tyr Phe Pro Ser
1 5 10

25 <210> 38
<211> 48
<212> ADN
<213> Homo sapiens

30 <400> 38 aggtctagtc aaagcctcggt ctacagtgtat ggagacacct acttgaat 48

35 <210> 39
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

40 <400> 39 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser Asp Gly Asp Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

45 <210> 40
<211> 42
<212> ADN
<213> Homo sapiens

50 <400> 40 actgggagca gctccaacat tggggcggt tatgttgtac at 42

55 <210> 41
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 41 Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Val Val His

ES 2 581 229 T3

1	5	10		
5	<210> 42			
	<211> 51			
	<212> ADN			
	<213> Homo sapiens			
10	<400> 42			
	aagtccagcc agagtgtttt atacaactcc aacaataaga actacttagc t			51
15	<210> 43			
	<211> 17			
	<212> PRT			
	<213> Homo sapiens			
20	<400> 43			
	Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Asn Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu			
	1	5	10	15
Ala				
25				
30	<210> 44			
	<211> 33			
	<212> ADN			
	<213> Homo sapiens			
35	<400> 44			
	tctggtgata aattggggga taaatttgct ttc			33
40	<210> 45			
	<211> 11			
	<212> PRT			
	<213> Homo sapiens			
45	<400> 45			
	Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Phe Ala Phe			
	1	5	10	
50	<210> 46			
	<211> 33			
	<212> ADN			
	<213> Homo sapiens			
55	<400> 46			
	caaggagaca gcctcagaag ctatcatgca agc			33

ES 2 581 229 T3

<400> 47		
Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr His Ala Ser		
1	5	10
5		
<210> 48		
<211> 33		
<212> ADN		
10 <213> Homo sapiens		
<400> 48		
tctggagata atttggggga taaatatatt tgc		33
15		
<210> 49		
<211> 11		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
20		
<400> 49		
Ser Gly Asp Asn Leu Gly Asp Lys Tyr Ile Cys		
1	5	10
25		
<210> 50		
<211> 33		
<212> ADN		
<213> Homo sapiens		
30		
<400> 50		
tctggagata aattggggga aagctatgct tgc		33
35		
<210> 51		
<211> 11		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
40		
<400> 51		
Ser Gly Asp Lys Leu Gly Glu Ser Tyr Ala Cys		
1	5	10
45		
<210> 52		
<211> 21		
<212> ADN		
<213> Homo sapiens		
50		
<400> 52		
ggtaaaaact accggccctc a		21
55		
<210> 53		
<211> 7		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		

ES 2 581 229 T3

<400> 53
Gly Lys Asn Tyr Arg Pro Ser
1 5

5 <210> 54
<211> 21
<212> ADN
<213> Homo sapiens

10 <400> 54
gataaaaaaca accggccctc a 21

15 <210> 55
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20 <400> 55
Asp Lys Asn Asn Arg Pro Ser
1 5

25 <210> 56
<211> 21
<212> ADN
<213> Homo sapiens

30 <400> 56
gataacaaca atcggccctc a 21

35 <210> 57
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

40 <400> 57
Asp Asn Asn Asn Arg Pro Ser
1 5

45 <210> 58
<211> 21
<212> ADN
<213> Homo sapiens

50 <400> 58
gataacaaca atcgccccctc a 21

55 <210> 59
<211> 21
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 59

	gatgatacg accggccctc a	21
5	<210> 60 <211> 7 <212> PRT <213> Homo sapiens	
10	<400> 60 Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser 1 5	
15	<210> 61 <211> 21 <212> ADN <213> Homo sapiens	
20	<400> 61 caagataaga agcgccctc a	21
25	<210> 62 <211> 7 <212> PRT <213> Homo sapiens	
30	<400> 62 Gln Asp Lys Lys Arg Pro Ser 1 5	
35	<210> 63 <211> 21 <212> ADN <213> Homo sapiens	
40	<400> 63 caagataaca agcgccctc a	21
45	<210> 64 <211> 8 <212> PRT <213> Homo sapiens	
50	<400> 64 Gln Lys Asn Lys Pro Arg Pro Ser 1 5	
55	<210> 65 <211> 7 <212> PRT <213> Homo sapiens	
	<400> 65 Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser	

ES 2 581 229 T3

1 5

5 <210> 66
<211> 21
<212> ADN
<213> Homo sapiens

10 <400> 66
ggtaaaaaca accggccctc a 21

15 <210> 67
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20 <400> 67
Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser
1 5

25 <210> 68
<211> 21
<212> ADN
<213> Homo sapiens

30 <400> 68
gctgcatcca gtttgcaaag t 21

35 <210> 69
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

40 <400> 69
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

45 <210> 70
<211> 21
<212> ADN
<213> Homo sapiens

50 <400> 70
tggacatcca cccgggaagg c 21

55 <210> 71
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

55 <400> 71
Trp Thr Ser Thr Arg Glu Gly
1 5

<210> 72
<211> 21
5 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 72
actgcatcca gtttgcaaag t 21
10

<210> 73
<211> 7
<212> PRT
15 <213> Homo sapiens

<400> 73
Thr Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5
20

<210> 74
<211> 21
<212> ADN
25 <213> Homo sapiens

<400> 74
aaggtttcta actgggactc t 21
30

<210> 75
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens
35

<400> 75
Lys Val Ser Asn Trp Asp Ser
1 5
40

<210> 76
<211> 21
<212> ADN
<213> Homo sapiens
45

<400> 76
aacacatcca gtttgcaaag t 21
50

<210> 77
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 77
Asn Thr Ser Ser Leu Gln Ser
1 5
55

ES 2 581 229 T3

<210> 78
<211> 21
<212> ADN
5 <213> Homo sapiens

<400> 78
actacatcca gtttgcaaag t 21

10 <210> 79
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

15 <400> 79
Thr Thr Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

20 <210> 80
<211> 21
<212> ADN
<213> Homo sapiens

25 <400> 80
aaggtttctt actgggactc t 21

30 <210> 81
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

35 <400> 81
Lys Val Ser Tyr Trp Asp Ser
1 5

40 <210> 82
<211> 21
<212> ADN
<213> Homo sapiens

45 <400> 82
aatgcattcca gtttgcaaag t 21

50 <210> 83
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

55 <400> 83
Asn Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

ES 2 581 229 T3

<210> 84		
<211> 21		
<212> ADN		
<213> Homo sapiens		
5		
<400> 84		
agcacaaaca gtcgcttcc t		21
10	<210> 85	
<211> 7		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
15	<400> 85	
Ser Thr Asn Ser Pro Ser Ser		
1	5	
20	<210> 86	
<211> 7		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
25	<400> 86	
Asn Thr Ser Ser Lys Gln Ser		
1	5	
30	<210> 87	
<211> 21		
<212> ADN		
<213> Homo sapiens		
35	<400> 87	
ggtaacagca atcgccctc a		21
<210> 88		
40	<211> 7	
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 88		
45	Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser	
1	5	
<210> 89		
50	<211> 21	
<212> ADN		
<213> Homo sapiens		
<400> 89		
55	tgggcttcta cccggaaatc c	21
<210> 90		

ES 2 581 229 T3

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

5 <400> 90
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

10 <210> 91
<211> 21
<212> ADN
<213> Homo sapiens

15 <400> 91
caagatagca agcggccctc a 21

20 <210> 92
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

25 <400> 92
Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser
1 5

30 <210> 93
<211> 21
<212> ADN
<213> Homo sapiens

35 <400> 93
ggtgaaaaca accggccctc a 21

40 <210> 94
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

45 <400> 94
Gly Glu Asn Asn Arg Pro Ser
1 5

50 <210> 95
<211> 21
<212> ADN
<213> Homo sapiens

55 <400> 95
caagattaca agcggccctc a 21

<210> 96
<211> 7

ES 2 581 229 T3

<212> PRT			
<213> Homo sapiens			
<400> 96			
5 Gln Asp Tyr Lys Arg Pro Ser	1	5	
<210> 97			
10 <211> 35			
<212> ADN			
<213> Homo sapiens			
<400> 97			
15 aactcccgaa acagaagtgg taaccatctg gtgtt			35
<210> 98			
<211> 11			
20 <212> PRT			
<213> Homo sapiens			
<400> 98			
Asn Ser Arg Asp Arg Ser Gly Asn His Leu Val	1	5	10
25			
<210> 99			
<211> 37			
30 <212> ADN			
<213> Homo sapiens			
<400> 99			
aactcccgaa acagcagtga taaccatcta gtggtat			37
35			
<210> 100			
<211> 12			
<212> PRT			
40 <213> Homo sapiens			
<400> 100			
Asn Ser Arg Asp Ser Ser Asp Asn His Leu Val Val	1	5	10
45			
<210> 101			
<211> 40			
<212> ADN			
50 <213> Homo sapiens			
<400> 101			
cagtcctatg acagcaacct gagtggttcg attgtggttt			40
55			
<210> 102			
<211> 13			
<212> PRT			

ES 2 581 229 T3

<213> Homo sapiens		
<400> 102		
Gln Ser Tyr Asp Ser Asn Leu Ser Gly Ser Ile Val Val		
5 1	5	10
<210> 103		
<211> 40		
10 <212> ADN		
<213> Homo sapiens		
<400> 103		
cagtcctatg acagcaacct gagtggttcg attgtggtat		40
15		
<210> 104		
<211> 34		
<212> ADN		
20 <213> Homo sapiens		
<400> 104		
caggtgtggg atagtagtag tgatcatgtg gtat		34
25		
<210> 105		
<211> 11		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
30		
<400> 105		
Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Val Val		
1	5	10
35		
<210> 106		
<211> 28		
<212> ADN		
<213> Homo sapiens		
40		
<400> 106		
caggcgtggg acagcagcac tgtggtat		28
45		
<210> 107		
<211> 9		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
50		
<400> 107		
Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val		
1	5	
55		
<210> 108		
<211> 28		
<212> ADN		
<213> Homo sapiens		

ES 2 581 229 T3

<400> 108		
caggcgtggg acagcaccac tgcgatat		28
5		
<210> 109		
<211> 9		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
10		
<400> 109		
Gln Ala Trp Asp Ser Thr Thr Ala Ile		
1	5	
15		
<210> 110		
<211> 34		
<212> ADN		
<213> Homo sapiens		
20		
<400> 110		
aactcccggg acagcagtgg taaccatgtg gtat		34
25	<210> 111	
<211> 11		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
30	<400> 111	
Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His Val Val		
1	5	10
35	<210> 112	
<211> 28		
<212> ADN		
<213> Homo sapiens		
40	<400> 112	
cagcagagct acactacccc gatcacct		28
45	<210> 113	
<211> 9		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
50	<400> 113	
Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Ile Thr		
1	5	
55	<210> 114	
<211> 28		
<212> ADN		
<213> Homo sapiens		

ES 2 581 229 T3

<400> 114		
cagcagtatt ttactactcc gtggacgt		28
 5 <210> 115		
<211> 9		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
 10 <400> 115		
Gln Gln Tyr Phe Thr Thr Pro Trp Thr		
1	5	
 15 <210> 116		
<211> 28		
<212> ADN		
<213> Homo sapiens		
 20 <400> 116		
caacaggctg acagtttccc gctcaactt		28
 25 <210> 117		
<211> 9		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
 30 <400> 117		
Gln Gln Ala Asp Ser Phe Pro Leu Thr		
1	5	
 35 <210> 118		
<211> 28		
<212> ADN		
<213> Homo sapiens		
 40 <400> 118		
atgcaaggta cacactggcc tccggcct		28
 45 <210> 119		
<211> 9		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
 50 <400> 119		
Met Gln Gly Thr His Trp Pro Pro Ala		
1	5	
 55 <210> 120		
<211> 28		
<212> ADN		
<213> Homo sapiens		
 <400> 120		

ES 2 581 229 T3

	caacaggctta acagtttccc tctcactt	28
5	<210> 121 <211> 9 <212> PRT <213> Homo sapiens	
10	<400> 121 Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr 1 5	
15	<210> 122 <211> 27 <212> ADN <213> Homo sapiens	
20	<400> 122 atgcaaggta cacactggcc tccggcc	27
25	<210> 123 <211> 28 <212> ADN <213> Homo sapiens	
30	<400> 123 caacaggctg acagtttccc tctcactt	28
35	<210> 124 <211> 31 <212> ADN <213> Homo sapiens	
40	<400> 124 gtgctgtata tggtagagg catttgggtg t	31
45	<210> 125 <211> 10 <212> PRT <213> Homo sapiens	
50	<400> 125 Val Leu Tyr Met Gly Arg Gly Ile Trp Val 1 5 10	
55	<210> 126 <211> 37 <212> ADN <213> Homo sapiens	
	<400> 126 aaagcatggg ataacagcct gaatgctaa ggggtat	37

ES 2 581 229 T3

	<210> 127		
	<211> 12		
	<212> PRT		
5	<213> Homo sapiens		
	<400> 127		
	Lys Ala Trp Asp Asn Ser Leu Asn Ala Gln Gly Val		
	1	5	10
10			
	<210> 128		
	<211> 28		
	<212> ADN		
15	<213> Homo sapiens		
	<400> 128		
	cagcaatttt atggtcctcc tctcactt		
			28
20			
	<210> 129		
	<211> 9		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
25			
	<400> 129		
	Gln Gln Phe Tyr Gly Pro Pro Leu Thr		
	1	5	
30			
	<210> 130		
	<211> 30		
	<212> ADN		
	<213> Homo sapiens		
35			
	<400> 130		
	caggcgtggg acagcagcgc cgggggggta		
			30
40			
	<210> 131		
	<211> 10		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
45			
	<400> 131		
	Gln Ala Trp Asp Ser Ser Ala Gly Gly Val		
	1	5	10
50			
	<210> 132		
	<211> 34		
	<212> ADN		
	<213> Homo sapiens		
55			
	<400> 132		
	aattatcggtt acaacagtgg taaccatctg gtgt		
			34

ES 2 581 229 T3

	<210> 133		
	<211> 11		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
5			
	<400> 133		
	Asn Tyr Arg Asp Asn Ser Gly Asn His Leu Val		
	1	5	10
10			
	<210> 134		
	<211> 28		
	<212> ADN		
	<213> Homo sapiens		
15			
	<400> 134		
	caggcgtggg acagaagtac tgtactat		28
20	<210> 135		
	<211> 9		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
25	<400> 135		
	Gln Ala Trp Asp Arg Ser Thr Val Leu		
	1	5	
30	<210> 136		
	<211> 15		
	<212> ADN		
	<213> Homo sapiens		
35	<400> 136		
	aactatggca tgcac		15
40	<210> 137		
	<211> 5		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 137		
45	Asn Tyr Gly Met His		
	1	5	
50	<210> 138		
	<211> 15		
	<212> ADN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 138		
55	gattttacca tgcac		15
	<210> 139		

ES 2 581 229 T3

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

5 <400> 139
Asp Phe Thr Met His
1 5

10 <210> 140
<211> 15
<212> ADN
<213> Homo sapiens

15 <400> 140
gactactata tgtac 15

20 <210> 141
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

25 <400> 141
Asp Tyr Tyr Met Tyr
1 5

30 <210> 142
<211> 15
<212> ADN
<213> Homo sapiens

35 <400> 142
ggcgactata tgcac 15

40 <210> 143
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

45 <400> 143
Gly Asp Tyr Met His
1 5

50 <210> 144
<211> 15
<212> ADN
<213> Homo sapiens

55 <400> 144
acctatggca tgcac 15

<210> 145
<211> 5

ES 2 581 229 T3

<212> PRT
<213> Homo sapiens

5 <400> 145
Thr Tyr Gly Met His
1 5

10 <210> 146
<211> 15
<212> ADN
<213> Homo sapiens

15 <400> 146
agctatggca ttcac 15

20 <210> 147
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

25 <400> 147
Ser Tyr Gly Ile His
1 5

30 <210> 148
<211> 21
<212> ADN
<213> Homo sapiens

35 <400> 148
agtggtggtt actactggag c 21

40 <210> 149
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

45 <400> 149
Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Ser
1 5

50 <210> 150
<211> 15
<212> ADN
<213> Homo sapiens

55 <400> 150
agctatggca tgcac 15

<210> 151
<211> 5
<212> PRT

ES 2 581 229 T3

<213> Homo sapiens

5 <400> 151
 Ser Tyr Gly Met His
 1 5

10 <210> 152
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

15 <400> 152
 agttatggca tgcac 15

20 <210> 153
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 153
 agttatacgca tgaac 15

30 <210> 154
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

35 <400> 154
 Ser Tyr Ser Met Asn
 1 5

40 <210> 155
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

45 <400> 155
 agttatggca tgctc 15

50 <210> 156
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

55 <400> 156
 Ser Tyr Gly Met Leu
 1 5

 <210> 157
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

ES 2 581 229 T3

<400> 157		
agctatgccatgagc		15
5		
<210> 158		
<211> 5		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
10		
<400> 158		
Ser Tyr Ala Met Ser		
1	5	
15		
<210> 159		
<211> 15		
<212> ADN		
<213> Homo sapiens		
20		
<400> 159		
ggctatgtca tgact		15
25	<210> 160	
<211> 5		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
30	<400> 160	
Gly Tyr Val Met Thr		
1	5	
35	<210> 161	
<211> 15		
<212> ADN		
<213> Homo sapiens		
40	<400> 161	
ggctactata tgcac		15
45	<210> 162	
<211> 5		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
50	<400> 162	
Gly Tyr Tyr Met His		
1	5	
55	<210> 163	
<211> 5		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		

ES 2 581 229 T3

<400> 163
Asp Phe Thr Met His
1 5

5 <210> 164
<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

10 <400> 164
gttatatggtaatggaag taataaaatac tatgcagact ccgtgaaggg c 51

15 <210> 165
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20 <400> 165
Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

25 Gly

30 <210> 166
<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

35 <400> 166
cttatttagtt gggatggtgg tagcacatac tatgcagact ctgtgaaggg c 51

40 <210> 167
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

45 <400> 167
Leu Ile Ser Trp Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

50

<210> 168
<211> 51
<212> ADN
55 <213> Homo sapiens

<400> 168
tggatcaacc ctaacagtgg tggcacaaac tatgtacaga agtttcaggg c 51

ES 2 581 229 T3

5 <210> 169
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <400> 169
 Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Val Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

15 Gly

20 <210> 170
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 170
 tggatcaacc ctaacagtgg tggcacaaac catgcacgga agtttcaggg c 51

30 <210> 171
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

35 <400> 171
 Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn His Ala Arg Lys Phe Gln
 1 5 10 15

40 Gly

45 <210> 172
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

50 <400> 172
 gttatatggat atgatggaag taataaacac tatgcagact ccgtgaaggg c 51

55 <210> 173
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

60 <400> 173
 Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

ES 2 581 229 T3

Gly

5 <210> 174
<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

10 <400> 174
gttatatcat atgatggaag ttataaatac tatgcagact ccgtgaaggg c 51

15 <210> 175
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20 <400> 175
Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Tyr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly
25

30 <210> 176
<211> 48
<212> ADN
<213> Homo sapiens

35 <400> 176
ttcatccatt acagtggac cacctactac aaccgtccc tcaagagt 48

40 <210> 177
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

45 <400> 177
Phe Ile His Tyr Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

50 <210> 178
<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

55 <400> 178
gttatatcat atgatggaag taataaatac tatgcagact ccgtgaaggg c 51

<210> 179
<211> 17
<212> PRT

ES 2 581 229 T3

<213> Homo sapiens

<400> 179
Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
5 1 5 10 15

Gly

10

<210> 180
<211> 51
<212> ADN
15 <213> Homo sapiens

<400> 180
gttatatggtaatatacatac tatgcagact ccgtgaaggg c 51

20

<210> 181
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

25

<400> 181
Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

30

Gly

35 <210> 182
<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

40 <400> 182
gttatatggtaatatacatac tatgcagact ccgtgaaggg c 51

45 <210> 183
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

50 <400> 183
Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

55

<210> 184

ES 2 581 229 T3

<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

5 <400> 184 tacatttagtg gtcgtactag tagcgtatac tacgcagact ctgtgaaggg c 51

10 <210> 185
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

15 <400> 185
Tyr Ile Ser Gly Arg Thr Ser Ser Val Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

20 Gly

25 <210> 186
<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

30 <400> 186
gttatatggc ttgatgaaag taataaatac tatgcggact ccgtgaaggg c 51

35 <210> 187
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

40 <400> 187
Val Ile Trp Phe Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

45 Gly

50 <210> 188
<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

55 <400> 188
gttttatggc ttgatgaaag ttataaaaac tatgcagact ccgtgaaggg c 51

<210> 189
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

ES 2 581 229 T3

<400> 189
Val Leu Trp Phe Asp Gly Ser Tyr Lys Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

5 Gly

10 <210> 190
<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

15 <400> 190
gcaattatgt gtagtggtgg aagtacacac tacgcagact ccgtgaaggg c 51

20 <210> 191
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

25 <400> 191
Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

30 Gly

35 <210> 192
<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

40 <400> 192
ggaattatgt gtagtggtgg tagcacatac tacgcagact ccgtgaaggg c 51

45 <210> 193
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

50 <400> 193
Gly Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

55 <210> 194
<211> 51

ES 2 581 229 T3

<212> ADN
<213> Homo sapiens

5 <400> 194
tggatcaacc ctaacaatgg tggcacaaac tatggacaga agtttcaggg c 51

<210> 195
<211> 17
10 <212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 195
Trp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Gly Gln Lys Phe Gln
15 1 5 10 15

Gly

20

<210> 196
<211> 51
<212> ADN
25 <213> Homo sapiens

<400> 196
gttatatggat atgatggaag taataaaatac tatgttagact ccgtgaaggg c 51

30 <210> 197
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

35 <400> 197
Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

40 Gly

45 <210> 198
<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

50 <400> 198
gctattagtc gtagtggtac taccacatac tacgcagact ccgtgaaggg c 51

<210> 199
55 <211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

ES 2 581 229 T3

<400> 199
Ala Ile Ser Arg Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

5
Gly

10 <210> 200
<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

15 <400> 200
gttaaatggc atgaaggaag taataaaatac tatggagact ccgtgaaggg c 51

20 <210> 201
<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

25 <400> 201
gctattagtt atagtggcgg tagcacatac tacgcaggct ccgtgaaggg c 51

30 <210> 202
<211> 17
35 <212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 202
Ala Ile Ser Tyr Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Gly Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

40

<210> 203
<211> 36
<212> ADN
45 <213> Homo sapiens

<400> 203
ctagtgggag ctaccaacta ctacggatcg gacgtc 36

50 <210> 204
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

55 <400> 204
Leu Val Gly Ala Thr Asn Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

ES 2 581 229 T3

<210> 205
<211> 30
5 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 205
ccttactact actttcacgg tatggacgta 30
10

<210> 206
<211> 10
<212> PRT
15 <213> Homo sapiens

<400> 206
Pro Tyr Tyr Tyr Phe Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10
20

<210> 207
<211> 36
<212> ADN
25 <213> Homo sapiens

<400> 207
gatgggggta gcagtggctg gcccctcttt gcctac 36
30

<210> 208
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens
35

<400> 208
Asp Gly Gly Ser Ser Gly Trp Pro Leu Phe Ala Tyr
1 5 10
40

<210> 209
<211> 36
<212> ADN
<213> Homo sapiens
45

<400> 209
gataggggta ccagtggctg gccactcttt gactat 36
50

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

<400> 210
Asp Arg Gly Thr Ser Gly Trp Pro Leu Phe Asp Tyr
1 5 10
55

ES 2 581 229 T3

<210> 211
<211> 39
<212> ADN
5 <213> Homo sapiens

<400> 211
gccccctcagt gggagctagt tcatgaagct tttgatatac 39

10
<210> 212
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

15
<400> 212
Ala Pro Gln Trp Glu Leu Val His Glu Ala Phe Asp Ile
1 5 10

20
<210> 213
<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

25
<400> 213
ggggactcct ggaacgacag attaaactac tacttctacg atatggacgt c 51

30
<210> 214
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

35
<400> 214
Gly Asp Ser Trp Asn Asp Arg Leu Asn Tyr Tyr Phe Tyr Asp Met Asp
1 5 10 15

40 Val

45
<210> 215
<211> 36
<212> ADN
<213> Homo sapiens

50
<400> 215
gaagttggca gctcgtcggg taactggttc gacccc 36

55
<210> 216
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 216

ES 2 581 229 T3

Glu Val Gly Ser Ser Ser Gly Asn Trp Phe Asp Pro
1 5 10

5 <210> 217
<211> 45
<212> ADN
<213> Homo sapiens

10 <400> 217
gaggtccggg cgtatagcag tggctggtag cccgccttg actac 45

15 <210> 218
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20 <400> 218
Glu Val Arg Ala Tyr Ser Ser Gly Trp Tyr Ala Ala Phe Asp Tyr
1 5 10 15

25 <210> 219
<211> 48
<212> ADN
<213> Homo sapiens

30 <400> 219
gtaagaagtg ggagctacta cgaacagtat tactacggta tggacgtc 48

35 <210> 220
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

40 <400> 220
Val Arg Ser Gly Ser Tyr Tyr Glu Gln Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

45 <210> 221
<211> 36
<212> ADN
<213> Homo sapiens

50 <400> 221
agtgggatct actacgacta ctacggtag gacgtc 36

55 <210> 222
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 222
Ser Gly Ile Tyr Tyr Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val

ES 2 581 229 T3

1	5	10	
<210> 223			
5	<211> 48		
<212> ADN			
<213> Homo sapiens			
<400> 223			
10	ggggcagcca ctgctataga ttactactac tcctacggta tggacgtc		
			48
<210> 224			
<211> 16			
15	<212> PRT		
<213> Homo sapiens			
<400> 224			
Gly Ala Ala Thr Ala Ile Asp Tyr Tyr Tyr Ser Tyr Gly Met Asp Val			
20	1	5	10
			15
<210> 225			
<211> 48			
25	<212> ADN		
<213> Homo sapiens			
<400> 225			
ggggggggta taccagtagc tgactactac tactacggta tggacgtc			
			48
30			
<210> 226			
<211> 16			
<212> PRT			
35	<213> Homo sapiens		
<400> 226			
Gly Gly Gly Ile Pro Val Ala Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val			
40	1	5	10
			15
<210> 227			
<211> 48			
<212> ADN			
45	<213> Homo sapiens		
<400> 227			
ggggggggta tagcagtggc tgactactac ttctacggta tggacgtc			
			48
50			
<210> 228			
<211> 16			
<212> PRT			
<213> Homo sapiens			
55			
<400> 228			
Gly Gly Gly Ile Ala Val Ala Asp Tyr Tyr Phe Tyr Gly Met Asp Val			
60	1	5	10
			15

ES 2 581 229 T3

<210> 229
<211> 48
5 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 229
ggggggggta tagcagtggc tgactactac tactacggta tggacgtc 48
10

<210> 230
<211> 16
<212> PRT
15 <213> Homo sapiens

<400> 230
Gly Gly Gly Ile Ala Val Ala Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15
20

<210> 231
<211> 30
<212> ADN
25 <213> Homo sapiens

<400> 231
gatagtacaa ctatggccca ctttgactac 30

<210> 232
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens
35

<400> 232
Asp Ser Thr Thr Met Ala His Phe Asp Tyr
1 5 10
40

<210> 233
<211> 27
<212> ADN
<213> Homo sapiens
45

<400> 233
gatctcaact gggagcttt tgatatac 27

<210> 234
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens
50

<400> 234
Asp Leu Asn Trp Gly Ala Phe Asp Ile
1 5
55

ES 2 581 229 T3

<210> 235
 <211> 36
 <212> ADN
5 <213> Homo sapiens

<400> 235
 ggagacagct cgaactacta ctccggatcg gacgtc **36**

10
 <210> 236
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15
 <400> 236
 Gly Asp Ser Ser Asn Tyr Tyr Ser Gly Met Asp Val
 1 5 10

20
 <210> 237
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25
 <400> 237
 gggaaactgga acgacgatgc ttttgatatac **30**

30 <210> 238
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

35 <400> 238
 Gly Asn Trp Asn Asp Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5 10

40 <210> 239
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

45 <400> 239
 atggggttta ctatggttcg gggagccctc tactacggta tggacgtc **48**

50 <210> 240
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 240
55 Met Gly Phe Thr Met Val Arg Gly Ala Leu Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10 15

ES 2 581 229 T3

<210> 241
<211> 30
<212> ADN
<213> Homo sapiens
5
<400> 241
ccgagatatt ttgactggtt attaggcgac
30

10 <210> 242
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

15 <400> 242
Arg Pro Tyr Phe Asp Trp Leu Leu Gly Asp
1 5 10

20 <210> 243
<211> 42
<212> ADN
<213> Homo sapiens

25 <400> 243
ggcgcccacg actacggtga cttctactac ggtatggacg tc
42

30 <210> 244
<211> 39
<212> ADN
<213> Homo sapiens

35 <400> 244
gatcgggagg gagcgacttg gtactacggt atggacgtc
39

40 <210> 245
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

45 <400> 245
Asp Arg Glu Gly Ala Thr Trp Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

50 <210> 246
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

55 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: secuencia de consenso
sintética

<220>
<221> MOD RES

<222> (7)..(7)
 <223> Val o Ile

5 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)..(12)
 <223> Asn o Asp

<400> 246
 10 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Xaa Tyr Ser Asp Gly Xaa Thr Tyr Leu Asn
 1 5 10 15

15 <210> 247
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: secuencia de consenso
 sintética

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Tyr o Asn

<400> 247
 Lys Val Ser Xaa Trp Asp Ser
 30 1 5

35 <210> 248
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: secuencia de consenso
 sintética

<400> 248
 Met Gln Gly Thr His Gln Pro Pro Ala
 1 5

45

<210> 249
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: secuencia de consenso
 sintética

55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)

<223> Gly o Ser
 <220>
 <221> MOD_RES
 5 <222> (6)..(6)
 <223> Leu o Ile
 <400> 249
 Arg Ala Ser Gln Xaa Xaa Ser Ser Trp Leu Ala
 10 1 5 10
 <210> 250
 <211> 7
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: secuencia de consenso
 20 sintética
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 25 <223> Asn o Thr
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 30 <223> Thr o Ala
 <400> 250
 Xaa Xaa Ser Ser Leu Gln Ser
 1 5
 35
 <210> 251
 <211> 9
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: secuencia de consenso
 sintética
 45
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Asn o Asp
 50 <400> 251
 Gln Gln Ala Xaa Ser Phe Pro Leu Thr
 1 5
 55
 <210> 252
 <211> 7
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Descripción de la secuencia artificial: secuencia de consenso
sintética

<220>

<221> MOD_RES

10 <222> (3)..(3)

<223> Lys o Asn

<400> 252

Gln Asp Xaa Lys Arg Pro Ser

1 5

15

<210> 253

<211> 5

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: secuencia de consenso
sintética

25 <220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Ser o Asn

30 <400> 253

Xaa Tyr Gly Met His

1 5

35 <210> 254

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40 <220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: secuencia de consenso
sintética

45 <220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Tyr o Phe

50 <400> 254

Val Ile Trp Xaa Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

55 Gly

5 <210> 255
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> Pro o Ala
 15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (11)..(11)
 <223> Tyr o Phe
 20 <400> 255
 Gly Gly Gly Ile Xaa Val Ala Asp Tyr Tyr Xaa Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10 15
 25 <210> 256
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: secuencia de consenso
 sintética
 35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> Tyr o Asn
 40 <400> 256
 Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Xaa Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 45 Gly
 50 <210> 257
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 55 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: secuencia de consenso
 sintética
 <220>
 <221> MOD_RES

ES 2 581 229 T3

<222> (1)..(1)
<223> Asp o Gly

5 <220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Tyr o Asp

10 <220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
<223> Tyr o His

15 <400> 257
Xaa Xaa Tyr Met Xaa
1 5

20 <210> 258
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: secuencia de consenso
sintética

30 <220>
<221> MOD_RES
<222> (11)..(11)
<223> Tyr o His

35 <220>
<221> MOD_RES
<222> (12)..(12)
<223> Val o Ala

40 <220>
<221> MOD_RES
<222> (13)..(13)
<223> Gln o Arg

<400> 258
Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Xaa Xaa Xaa Lys Phe Gln
45 1 5 10 15

Gly

50

<210> 259
<211> 12
<212> PRT
55 <213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 581 229 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: secuencia de consenso sintética

5 <220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Gly o Arg

10 <220>
10 <221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> Ser o Thr

15 <220>
15 <221> MOD_RES
<222> (11)..(11)
<223> Ala o Asp

20 <400> 259
20 Asp Xaa Gly Xaa Ser Gly Trp Pro Leu Phe Xaa Tyr
1 5 10

25 <210> 260
25 <211> 363
<212> ADN
<213> Homo sapiens

30 <400> 260
30 caggtgcagc tggtgaggc tgggggaggc gtgggtccagc ctggggaggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180
35 gcagactccg tgaaggcccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtat attactgtgc gagtcttagtg 300
40 ggagctacca actactacgg tatggacgtc tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc 360
tca 363

45 <210> 261
<211> 121
<212> PRT
<213> Homo sapiens

50 <400> 261
50 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

ES 2 581 229 T3

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

5 Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

20 Ala Ser Leu Val Gly Ala Thr Asn Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly
 100 105 110

25 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

30 <210> 262
 <211> 326
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

35 <400> 262
 tcttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc
 acatgccaag gagacagcct cagaagctat tatgcaagct ggtaccagca gaagccagga
 caggcccctg tacttgtcat ctctggtaaa aactaccggc cctcagggat cccagaccga
 ttctctggct ccagctcagg aaacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa
 gatgaggctg actactactg taactccgg gacagaagtg gtaaccatct ggtgtttcg
 40 40 gcgaggggac caagctgacc gtccta 326

45 <210> 263
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

50 <400> 263
 Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15

55 Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala
 20 25 30

Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Ser

ES 2 581 229 T3

	35	40	45
5	Gly Lys Asn Tyr Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser 50 55 60		
10	Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu 65 70 75 80		
15	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Arg Ser Gly Asn His 85 90 95		
20	Leu Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu 100 105		
25	<210> 264 <211> 360 <212> ADN <213> Homo sapiens		
30	gaagtgcagc tgggtggagtc tggggggagtc gtggcacagc ctggggggtc cctgagactc tcctgtgcag cctctggatt caccttgat gatttacca tgcactgggt ccgtcaagct ccggggaaagg gtctggagtg ggtctctttt attagttggg atgggtggtag cacatactat gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acagaaaaaa ctccctgtat atgcaaatga acagtcgtgag aactgaggac agcgccttgtt attactgtgc aagaggtcct 35 tactactact tctacggtat ggacgtctgg ggccaaggga ccacggcac cgtctcctca 360	60	
40	<210> 265 <211> 120 <212> PRT <213> Homo sapiens		
45	<400> 265 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Val Gln Pro Gly Gly 1 5 10 15		
50	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Phe 20 25 30		
55	Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val 35 40 45		
	Ser Leu Ile Ser Trp Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val 50 55 60		

ES 2 581 229 T3

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

5

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

10

Ala Arg Gly Pro Tyr Tyr Tyr Phe Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110

15

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

20

<210> 266
 <211> 328
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25

<400> 266
 tcttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc 60
 acatgccaag gagacagcct cagaacctat tatgcaagct ggtaccagca gaagccagga 120
 caggccccta tacttgtcat ctctgataaa aacaaccggc cctcaggat cccagaccga 180
 30 ttctctggct ccagctcagg aaacacagct tccttgacca tcactgggc tcaggcggaa 240
 gatgaggctg actattactg taactcccg gacagcagtg ataaccatct agtggtattt 300
 35 cggcggaggg accaagctga ccgtccta 328

40

<210> 267
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

45

<400> 267
 Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln 1 5 10 15

50

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

55

Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Ile Ser
 35 40 45

Asp Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

ES 2 581 229 T3

	Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu		
65	70	75	80
5			
	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Asp Asn His		
	85	90	95
10	Leu Val Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
	100	105	
15	<210> 268		
	<211> 363		
	<212> ADN		
	<213> Homo sapiens		
20	<400> 268		
	caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc	60	
	tcctgcaagg cttctggata caccttcacc gactactata tgtactgggt gcgacaggcc	120	
	cctggacaag ggcctgagtg gatgggatgg atcaacccta acagtggtgg cacaaactat	180	
25	gtacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac	240	
	atggagctga gcaggatgag atccgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagatggg	300	
30	ggttagcagtg gctggccctt ctttgcctac tggggcctgg gaaccctggt caccgtctcc	360	
	tca	363	
35	<210> 269		
	<211> 121		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
40	<400> 269		
	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
1	5	10	15
45	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr		
	20	25	30
50	Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met		
	35	40	45
	Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Val Gln Lys Phe		
	50	55	60
55	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr		
	65	70	75
	80		

ES 2 581 229 T3

Met Glu Leu Ser Arg Met Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 5

Ala Arg Asp Gly Gly Ser Ser Gly Trp Pro Leu Phe Ala Tyr Trp Gly
 100 105 110
 10

Leu Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

15 <210> 270
 <211> 340
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

20 <400> 270
 cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc
 tcctgcactg ggagcagctc caacatcggg gcaggttttg atgtacactg gtaccagcag
 120

25 cttccaggaa cagccccaa actcctcatc tatgataaca acaatcgcc ctcaggggtc
 cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc
 caggctgagg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcaacct gagtggttcg
 180

30 attgtggttt ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta
 340

35 <210> 271
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

40 <400> 271
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15

45 Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
 20 25 30

50 Phe Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

55 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 80

ES 2 581 229 T3

Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Tyr	Asp	Ser	Asn	
				85					90				95			
5																
	Leu	Ser	Gly	Ser	Ile	Val	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val
					100			105					110			
10	Leu															
15	<210>	272														
	<211>	363														
	<212>	ADN														
	<213>	Homo sapiens														
20	<400>	272														
	caggtgcagc	tgggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctggggcctc	agtgaaggtc								60		
	tcctgcaagg	cttctggata	catcttcacc	ggcgactata	tgcactgggt	gcgacaggcc								120		
25	cctggacaag	ggctggagtg	gatggatgg	atcaacccta	acagtggtgg	cacaaaccat								180		
	gcacggaagt	ttcagggcag	ggtcaccatg	accagggaca	cgtccatcag	cacagcctac								240		
	atggagctga	gcaggctgag	atctgacgac	acggccgtgt	attactgtgt	gagagatagg								300		
30	ggtaccagtg	gctggccact	ctttgactat	tggggccagg	gaacactggt	caccgtctcc								360		
	tca													363		
35	<210>	273														
	<211>	121														
	<212>	PRT														
	<213>	Homo sapiens														
40	<400>	273														
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
	1				5					10				15		
45	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ile	Phe	Thr	Gly	Asp
						20			25				30			
50	Tyr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
						35			40				45			
	Gly	Trp	Ile	Asn	Pro	Asn	Ser	Gly	Gly	Thr	Asn	His	Ala	Arg	Lys	Phe
						50			55				60			
55	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr
						65			70			75			80	

ES 2 581 229 T3

5	Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 85 90 95
10	Val Arg Asp Arg Gly Thr Ser Gly Trp Pro Leu Phe Asp Tyr Trp Gly 100 105 110
15	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser 115 120
20	<210> 274 <211> 340 <212> ADN <213> Homo sapiens
25	<400> 274 cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc tcctgcactg ggagcagctc caacatcggg gcaggttttg atgtgcactg gtaccagctg cttccaggaa cagccccaa actcctcatc ttgtataaca acaatcgccc ctcaggggtc cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc caggctgagg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcaacct gagtggttcg 30 attgtggat ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta 340
35	<210> 275 <211> 113 <212> PRT <213> Homo sapiens
40	<400> 275 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln 1 5 10 15
45	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly 20 25 30
50	Phe Asp Val His Trp Tyr Gln Leu Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu 35 40 45
55	Leu Ile Phe Asp Asn Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe 50 55 60
60	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu 65 70 75 80

ES 2 581 229 T3

Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Tyr	Asp	Ser	Asn	
				85					90				95			
5																
	Leu	Ser	Gly	Ser	Ile	Val	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val
					100				105					110		
10	Leu															
15	<210>	276														
	<211>	378														
	<212>	ADN														
	<213>	Homo sapiens														
20	<400>	276														
	caggtgcagc	tggtgaggc	tgggggaggc	gtggtccagc	ctgggaggc	cctgagactc								60		
	tcctgtgcag	cctctggatt	cattttcagt	agctatggca	ttcactgggt	ccgccaggct								120		
25	ccaggcaagg	ggctggagtg	ggtggcagtt	atatcatatg	atggaagtta	taaatactat								180		
	gcagactccg	tgaaggggccg	attcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat								240		
	ctgcaaatga	acagcctgag	agctgaggac	acggctgtgt	attactgtgc	gagaggggac								300		
30	tcctggaacg	acagattaaa	ctactacttc	tacgatatgg	acgtctgggg	ccaagggacc								360		
	acggtcaccg	tctcctca												378		
35	<210>	277														
	<211>	126														
	<212>	PRT														
	<213>	Homo sapiens														
40	<400>	277														
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
	1				5					10				15		
45	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ile	Phe	Ser	Ser	Tyr
						20			25				30			
50	Gly	Ile	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	Tyr	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
						50			55			60				
55	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
										75				80		
	65															

ES 2 581 229 T3

ES 2 581 229 T3

	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val			
	85	90	95	
5	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu			
	100	105		
10	<210> 280			
	<211> 366			
	<212> ADN			
	<213> Homo sapiens			
15	<400> 280			
	caggtgcagc tgcaggagtc gggcccgagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc	60		
	acctgcactg tctctgggtgg ctccatcagc agtgggtggtt actactggag ctggatccgc	120		
20	cagcacccag ggaaggggcct ggagtggatt gggttcatcc attacagtgg gaccacctac	180		
	tacaaccgt ccctcaagag tcgacttacc ctatcagtag acacgtctaa gagccagttc	240		
	tccctgaagc tgaactctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagaa	300		
25	gttggcagct cgtcgggtaa ctgggtcgac ccctggggcc agggAACCTT ggtcaccgtc	360		
	tcctca	366		
30	<210> 281			
	<211> 122			
	<212> PRT			
	<213> Homo sapiens			
35	<400> 281			
	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln			
	1	5	10	15
40	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly			
	20	25	30	
45	Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu			
	35	40	45	
50	Trp Ile Gly Phe Ile His Tyr Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser			
	50	55	60	
	Leu Lys Ser Arg Leu Thr Leu Ser Val Asp Thr Ser Lys Ser Gln Phe			
	65	70	75	80
55	Ser Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr			
	85	90	95	

ES 2 581 229 T3

Cys Ala Arg Glu Val Gly Ser Ser Ser Gly Asn Trp Phe Asp Pro Trp
 100 105 110
 5

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 10

<210> 282
 <211> 319
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 15

<400> 282
 tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc
 acctgctctg gagataaatt gggggataaa tatgcttgct ggtatcagca gaagccaggc
 20 120

cagtcctctg tgggggtcat ctatcaagat aacaagcggc cctcaggat ccctgagcga
 ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actttgacca tcagcggac ccaggctatg
 25 180

gatgaggctg actattactg tcaggcgtgg gacagcacca ctgcgatatt tcggcggagg
 gaccaagctg accgtccta
 319

30 <210> 283
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

35 <400> 283
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15

40 Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
 20 25 30

45 Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Val Val Ile Tyr
 35 40 45

50 Gln Asp Asn 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

55 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Thr Thr Ala Ile
 85 90 95

ES 2 581 229 T3

	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu						
	100									105						
5	<210>	284														
	<211>	378														
	<212>	ADN														
	<213>	Homo sapiens														
10	<400>	284														
	caggtgcagc	tgggtggagtc	tgggggaggc	gtggtccagc	ctgggaggtc	cctgagactc					60					
15	tcctgtgcag	cctctggatt	caccttcagt	agctatggca	ttcactgggt	ccgccaggct					120					
	ccaggcaagg	ggctggagtg	ggtggcagtt	atatcatatg	atggaagtaa	taaatactat					180					
	gcagactccg	tgaagggccg	attcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat					240					
20	ctgcaaatga	acagcctgag	agctgaggac	acggctgtgt	attactgtgc	gagaggggac					300					
	tcctggaacg	acagattaaa	ctactacttc	tacgatatgg	acgtctgggg	ccaagggacc					360					
	acggtcacccg	tctcctca									378					
25	<210>	285														
	<211>	126														
	<212>	PRT														
30	<213>	Homo sapiens														
	<400>	285														
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg	
	1				5					10					15	
35	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
										25					30	
40	Gly	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
										40					45	
45	Ala	Val	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
										50					60	
50	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
										65					80	
55	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
										85					95	
	Ala	Arg	Gly	Asp	Ser	Trp	Asn	Asp	Arg	Leu	Asn	Tyr	Tyr	Phe	Tyr	Asp
										100					110	

ES 2 581 229 T3

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125
5
 <210> 286
 <211> 319
 <212> ADN
10 <213> Homo sapiens
 <400> 286
 tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc 60
15 acctgctctg gagataaatt gggggataaa tatgcttgct ggtatcagca gaagccaggc 120
 cagtcccctg tactggtcat ctatcaagat aacaagcggc cctcagggat ccctgagcga 180
 ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actttgacca tcagcgggac ccaggctatg 240
20 gatgaggctg actattactg tcaggcgtgg gacagcagca ctgtggtatt tcggcggagg 300
 gaccaagctg accgtccta 319
25
 <210> 287
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
30
 <400> 287
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15
35
 Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
 20 25 30
40 Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45
 Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
45 50 55 60
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
 65 70 75 80
50
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Val Val
 85 90 95
55
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

ES 2 581 229 T3

<210> 288
 <211> 372
 <212> ADN
5 <213> Homo sapiens

<400> 288
 caggtgcagt tgggtggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctggggaggc cctgagactc 60
10 tcctgtgcag cgtctggata taccttcaat agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa tacatactat 180
15 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca tttccaagaa cactctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaggc 300
 cgggcgtata gcagtggtcg gtacgcccgc tttgactact ggggcccagg aaccctggc 360
20 accgtctcct ca 372

<210> 289
 <211> 124
25 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 289
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
30 1 5 10 15

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

35
 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	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
50					55				60						

40
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ile 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
50					85			90				95			

45
 Ala Arg Glu Val Arg Ala Tyr Ser Ser Gly Trp Tyr Ala Ala Phe Asp
 100 105 110

55
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

ES 2 581 229 T3

5 <210> 290
 <211> 325
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

10 <400> 290
 tcttctgac tgactcagga ccctgctgtg tctgtggct tgggacagac agtcaggatc 60
 acatgccaag gagacagcct cagaatcttt tatgcaaact ggtaccagca gaagccagga 120
 caggcccctg tagttgtctt ctatggtaaa aacaaccggc cctcagggat cccagaccga 180
 15 ttctctggct ccagctcagg aaacacagct tccttgacca tcactgcggc tcaggcggaa 240
 gatgaggctg actattattg taactcccg gacagcagt gtaaccatgt ggtatttcgg 300
 cgaggggacc acgctgaccg tccta 325

20

25 <210> 291
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

30 <400> 291
 Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15

35 Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ile Phe Tyr Ala
 20 25 30

40 Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Val Val Phe Tyr
 35 40 45

45 Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

50 Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Ala Ala Gln Ala Glu
 65 70 75 80

55 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His
 85 90 95

55 Val Val Phe Gly Gly Thr Thr Leu Thr Val Leu
 100 105

55 <210> 292
 <211> 375
 <212> ADN

ES 2 581 229 T3

<213> Homo sapiens

<400> 292
 caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggc cctgagactc 60
 5 tcctgtgcaa cgtctggatt caccttcagt agttatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggatg atggaagtag taaatactat 180
 10 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagtaaga 300
 15 agtgggagct actacgaaca gtattactac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg 360
 gtcgccgtct cctca 375

<210> 293
 20 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 293
 25 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg 15
 1 5 10 15

30 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr 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

35 Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

50 Ala Arg Val Arg Ser Gly Ser Tyr Tyr Glu Gln Tyr Tyr Gly Met
 100 105 110

55 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Ala Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 294
 <211> 322

ES 2 581 229 T3

<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 294
5 gacatccaga tgaccaggc tccatccccc ctgtctgcat ctgttaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaaataca gtacattagc acctattaa attggtatca gcagaaacca 120
10 gggaaaagccc ctaaggtcct gatttatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
agttcagtg gcagtggtt tgagacagat ttcaactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcagcag agctacacta ccccgatcac cttcggcca 300
15 agggacacga ctggagatta aa 322

<210> 295
<211> 107
20 <212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 295
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
25 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Asn Gln Tyr Ile Ser Thr Tyr
30 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
35 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Ile
45 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
50 100 105

<210> 296
<211> 363
<212> ADN
55 <213> Homo sapiens

<400> 296
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtagc cttgggggtc cttggactc 60

ES 2 581 229 T3

	tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agttatagca tgaactgggt ccgccaggct	120
	ccagggagg ggctggagtg ggttcatac attagtggtc gtactagtag cgtatactac	180
5	gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctcactgtat	240
	ctgcacatga acagcctgag agacgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaagtggg	300
10	atctactacg actactacgg tatggacgta tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc	360
	tca	363
15	<210> 297	
	<211> 121	
	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
20	<400> 297	
	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
	1 5 10 15	
25	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr	
	20 25 30	
30	Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
	35 40 45	
35	Ser Tyr Ile Ser Gly Arg Thr Ser Ser Val 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 80	
40	Leu His Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85 90 95	
45	Ala Arg Ser Gly Ile Tyr Tyr Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly	
	100 105 110	
50	Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser	
	115 120	
55	<210> 298	
	<211> 340	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 298	

ES 2 581 229 T3

	gacatcgta tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctggcga gagggcccc	60
	atcaactgca agtccagcca gagtgttta aacagctcca acaataagaa ctacttagct	120
5	tggtaccagg agaaaccagg acagcctcct aagctgctca tttactggac atccaccgg	180
	gaaggcgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctacc	240
10	atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcagta ttttactact	300
	ccgtggacgt ttccggccaag ggaccaaggt ggagatcaa	340
	<210> 299	
15	<211> 113	
	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 299	
20	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly	
	1 5 10 15	
25	Glu Arg Ala Pro Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asn Ser	
	20 25 30	
30	Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln	
	35 40 45	
35	Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Glu Gly Gly Val	
	50 55 60	
40	Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr	
	65 70 75 80	
45	Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln	
	85 90 95	
	Tyr Phe Thr Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile	
	100 105 110	
50	Lys	
	<210> 300	
	<211> 375	
	<212> ADN	
55	<213> Homo sapiens	
	<400> 300	
	caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctggggaggc cctgagactc	60

ES 2 581 229 T3

	tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct	120
	ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat	180
5	gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat	240
	ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggggca	300
10	gccactgcta tagattacta ctactcctac ggtatggacg tctgggcct agggaccacg	360
	gtcaccgtct cctca	375
15	<210> 301	
	<211> 125	
	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
20	<400> 301	
	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg	
	1 5 10 15	
25	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr	
	20 25 30	
30	Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
	35 40 45	
35	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	
40	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85 90 95	
45	Ala Arg Gly Ala Ala Thr Ala Ile Asp Tyr Tyr Ser Tyr Gly Met	
	100 105 110	
50	Asp Val Trp Gly Leu Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser	
	115 120 125	
55	<210> 302	
	<211> 322	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 302	

ES 2 581 229 T3

gacatccaga tgaccaggc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtggaga cagagtcacc 60
 atcacttgc gggcgagtca gggtatttagt agctggtag cctggtatca gcggaaacca 120
 5 ggaaaagccc ctaagttcct gatctatact gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 cggttcagcg gcagtggtc tggacagat ttcaactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattctg caacttacta ttgtcaacag gctgacagtt tcccgctcac ttttcggcgg 300
 10 agggaccaag gtggagatca aa 322

15 <210> 303
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20 <400> 303
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

25 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 20 25 30

30 Leu Ala Trp Tyr Gln Arg Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile
 35 40 45

35 Tyr Thr Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

40 Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asp Ser Phe Pro Leu
 85 90 95

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

50 <210> 304
 <211> 375
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

55 <400> 304
 caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggatg atggaagtaa taaatactat 180

ES 2 581 229 T3

	gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat	240
5	ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagggggg	300
	ggtataccag tagctgacta ctactactac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg	360
	gtcaccgtct cctca	375
10	<210> 305	
	<211> 125	
	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
15	<400> 305	
	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg	
	1 5 10 15	
20	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr	
	20 25 30	
25	Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
	35 40 45	
30	Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val	
	50 55 60	
35	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr	
	65 70 75 80	
40	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85 90 95	
45	Ala Arg Gly Gly Ile Pro Val Ala Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met	
	100 105 110	
	<210> 306	
50	<211> 337	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 306	
55	gatgttgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccttggaca gccggcctcc	60
	attccttgca ggtcttagtca aagcctcgta tacagtgtatc gagacaccta cttgaattgg	120

ES 2 581 229 T3

tttcagcaga ggccaggcca atctccaagg cgccataattt ataaggttc taactggac 180
 tctgggtcc catacagatt cagcggcagt gggtcaggca ctgatttcac actgcaaatc 240
 5 agcagggtgg aggctgagga tgttgggatt tactactgca tgcaaggtac acactggcct 300
 ccggcctttc ggccaaggga cacgactgga gattaaa 337

10 <210> 307
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15 <400> 307
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15

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

25 Asp Gly Asp Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

30 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Trp Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

40 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
 85 90 95

45 Thr His Trp Pro Pro Ala Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 308
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

50 <400> 308
 gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgttaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtca gggcttagc agctggtag cctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ccaagctcct gatgtataac acatccagtt tgcaaagtgg ggtccccatca 180
 55 agttcagcg gcagtggtac tggcacagat ttcaagtctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caagttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctctcac ttttcggcgg 300

ES 2 581 229 T3

agggaccaag gtggagatca aa 322

5 <210> 309
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10 <400> 309
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

15 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Leu Ser Ser Trp
20 25 30

20 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Met
35 40 45

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

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

35 Glu Asp Phe Ala Ser Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu
85 90 95

40 <210> 310
<211> 337
<212> ADN
<213> Homo sapiens

45 <400> 310
gatgttgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccttggaca gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca aagcctcgtc tacagtatgc gaaacaccta cttgaattgg 120
tttcagcaga ggccaggcca atctccaagg cgccataattt ataaggtttc taactggac 180
50 tctgggtcc cagacagatt cagcggcatt gggtcaggca ctgacttcac actgaaaatc 240
agcagggtgg aggctgagga tgggggtt tactactgca tgcaaggtac acactggcct 300
55 ccggccttc ggccaaggga cacgactgga gattaaa 337

<210> 311

ES 2 581 229 T3

<211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5 <400> 311
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15

10 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser
 20 25 30

15 Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

20 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Trp Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

35 Thr His Trp Pro Pro Ala Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 312
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

40 <400> 312
 gacatccaga tgaccaggc tccatcttcc gtgtctgcat ctgttaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcgagtca gggcttttagc agctggtag cctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ccaagctcct gatgtataac acatccagtt tgcaaagtgg ggtccccatca 180
45 aggttcagcg gcagtggtatc tggacagat ttcaagtctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caagttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctctcac ttttcggcgg 300
50 agggaccaag gtggagatca aa 322

<210> 313
 <211> 375
55 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 313

ES 2 581 229 T3

	caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaagtc cctgagactc	60
	tcctgtgcag cgtctggatt ccccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct	120
5	ccaggcaagg gactggaatg ggtggcagtt atatggttt atggaagtaa taaatactat	180
	gcggactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atcccaagaa cacgctgtat	240
10	ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagggggg	300
	ggtatagcag tggctgacta ctacttctac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg	360
	gtcacccgtct cctca	375
15	<210> 314	
	<211> 125	
	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
20	<400> 314	
	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Lys	
	1 5 10 15	
25	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Pro Phe Ser Asn Tyr	
	20 25 30	
30	Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
	35 40 45	
35	Ala Val Ile Trp Phe Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val	
	50 55 60	
40	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Pro Lys Asn Thr Leu Tyr	
	65 70 75 80	
45	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85 90 95	
50	Ala Arg Gly Gly Ile Ala Val Ala Asp Tyr Tyr Phe Tyr Gly Met	
	100 105 110	
55	Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser	
	115 120 125	
	<210> 315	
	<211> 337	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	

ES 2 581 229 T3

<400> 315
 gatgttgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccttggaca gccggcctcc 60
 attccttgca ggtcttagtca aagcctcata tacagtatg gaaacactta cttgaattgg
 5 tttcaacaga ggccaggcca atctccaagg cgccataattt ataaggtttc taactggac 180
 tctgggtcc cagacagatt cagcggcagt gggtcaggca ctgattcac actgaaaatc 240
 10 agcagggtgg aggctgagga tgttgggatt tattactgca tgcaaggtac acactggcct 300
 ccggcctttc ggccaaggga cacgactgga gattaaa 337

15 <210> 316
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20 <400> 316
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15

25 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Ile Tyr Ser
 20 25 30

30 Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

35 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Trp Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

45 Thr His Trp Pro Pro Ala Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

50 <210> 317
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

55 <400> 317
 gacatccaga tgaccaggc tccatcttcc gtgtctgcat ctgttaggaga cagagtcacc 60
 attacttgc gggcgagtca gggtttagc agctggtag cctggtatca gcagaaacca 120

ES 2 581 229 T3

gggaaagccc ctaaggctt gacctatact acatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggttc tgggacagat ttcaactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 5 gaagattttg ctacttactt ttgtcaacag gctgacagtt tccctctcac ttttcggcgg 300
 ggggaccaag gtggagatca aa 322

10 <210> 318
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15 <400> 318
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

20 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 20 25 30

25 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Thr
 35 40 45

30 Tyr Thr Thr 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

35 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Ala Asp Ser Phe Pro Leu
 85 90 95

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

45 <210> 319
 <211> 375
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

50 <400> 319
 caggtgcaac tgggtggagtc tgggggagggc gtgggtccagc ctggggaggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggatg atggaagtaa taaatactat 180
 55 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagggggg 300

ES 2 581 229 T3

ggtatagcag tggctgacta ctactactac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg 360
 gtcaccgtct cctca 375
 5
 <210> 320
 <211> 125
 <212> PRT
 10 <213> Homo sapiens
 <400> 320
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 15 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 20 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 25 Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 30 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 35 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Gly Ile Ala Val Ala Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met
 100 105 110
 40 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125
 45 <210> 321
 <211> 337
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 50 <400> 321
 gatgttgtga tgactcagtc tccactctcc ctggccgtca cccttggaca gccggcctcc 60
 attccttgca ggtctagtca aagcctcgta tacagtgtatg gaaacacacca cttgaattgg 120
 55 ttccagcaga ggccaggcca atctccaagg cgccataattt ataaggtttc ttactggac 180
 tctggggtcc cagacagatt cagcggcagt gggtaagca ctgatttcac actgaaaatc 240

ES 2 581 229 T3

agtagggtgg aggctgagga ttttgggtt tattactgca tgcaaggtac acactggcct 300
 ccggccttgc ggccaaggga cacgactgga gattaaa 337

5
 <210> 322
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10
 <400> 322
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15

15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser
 20 25 30

20 Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

25 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Tyr Trp Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

30
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Ser Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

35
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
 85 90 95

40
 Thr His Trp Pro Pro Ala Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

45
 <210> 323
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

50
 <400> 323
 gacatccaga tgaccaggc tccatcttcc gtgtctgcat ctgttaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgta gggcgagtca gagtccttagc agctggtag cctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaaactcct gctccataat gcatccagtt tgcaaagtgg ggtccccatca 180
 agttcagcg gcagtggtac tgggacagat ttcaactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg taaattacta ttgtcaaacag gctaacagtt tccctctcac ttttcggcgg 300
 55 agggaccagg gtggagatca aa 322

ES 2 581 229 T3

<210> 324
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 324
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

10

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

15

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

20

His Asn Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

25

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

30

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

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

35

<210> 325
 <211> 357
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

40

<400> 325
 caggtgcagc tggtgaggc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggc cctaagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt cacctaagt agttatggca tgctctgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt ttatggttt atggaagtta taaaaactat 180
 gcagactccg tgaagggccc attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatacga acagcctgcg agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatagt 300
 50 acaactatgg cccactttga ctactggggc cagggAACCC tggtcaccgt ctcctca 357

55

<210> 326
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

ES 2 581 229 T3

<400> 326
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

5
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

15 Ala Val Leu Trp Phe Asp Gly Ser Tyr Lys Asn Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

30 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

35 <210> 327
 <211> 331
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

40 <400> 327
 cagactgtgg tgaccaggaa gccatcggttc tcagtgtccc ctggagggac agtcacactc 60
 acttgtggct tgaactctgg ctcagtctct actagttact tccccagctg gtaccagcag
 accccaggcc aggctccacg cacgctcatc tacagcacaa acagtcgctc ttctgggtc 120
 45 cctgatcgct tctctggctc catccttggg aacaaagctg ccctcaccat cacgggggcc 180
 cagggcagatg atgaatctga ttattactgt gtgctgtata tggtagagg catttgggtg 240
 50 ttccggcgga gggaccaagc tgaccgtcct a 300
 331

<210> 328
 <211> 110
 55 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 328

ES 2 581 229 T3

Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15

5 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Leu Asn Ser Gly Ser Val Ser Thr Ser
 20 25 30

10 Tyr Phe Pro Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Pro Arg Thr
 35 40 45

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

Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
 65 70 75 80

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

25 Gly Ile Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

30 <210> 329
 <211> 337
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

35 <400> 329
 gatgttgtga tgactcagtc tccactctcc ctgccccgtca cccttggaca gccggcctcc 60
 attccttgca ggtcttagtca aagcctcgta tacagtgtatg gaaacacaccta cttgaattgg 120
 40 tttcagcaga ggccaggcca atctccaagg cgccataattt ataaggtttc ttactggcac 180
 tctggggtcc cagacagatt cagcggcagt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240
 agtaggggtgg aggctgagga tgggtgggtt tattactgca tgcaaggtac acactggcct 300
 45 ccggccttcc ggccaaggga cacgactgga gatcaaa 337

50 <210> 330
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

55 <400> 330
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser

ES 2 581 229 T3

	20	25	30	
5	Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser 35	40	45	
10	Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Tyr Trp Asp Ser Gly Val Pro 50	55	60	
15	Asp Arg Phe 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 Gln Gly 85	90	95	
20	Thr His Trp Pro Pro Ala Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys 100	105	110	
25	<210> 331 <211> 322 <212> ADN <213> Homo sapiens			
30	<400> 331 gacatccaga tgaccaggc tccatcttcc gtgtctgcat ctgttaggaga cagagtcacc atcacttgta gggcgagtca gagtcttagc agctggtag cctggtatca gcagaaacca gggaaagccc ctaaactcct gctctataat gcatccagtt tgcaaagtgg ggccccatca 35		60	
	aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcaactctca ccatcagcag cctgcagcct gaagattttg taacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctctcac ttttcggcgg 40		120	
	agggaccagg gtggagatca aa		180	
			240	
			300	
			322	
45	<210> 332 <211> 107 <212> PRT <213> Homo sapiens			
50	<400> 332 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly 1 5 10 15			
55	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Leu Ser Ser Trp 20 25 30			
	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Leu 35 40 45			

ES 2 581 229 T3

Tyr Asn Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Ala Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

5

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

10

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

15 Thr Phe Gly Gly Thr Arg Val Glu Ile Lys
 100 105

20 <210> 333
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 333
 gacatccaga tgaccaggc cccatcttcc gtgtctgcat ctgttaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtca gggcttttagc agctggtag cctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ccaagctcct gatgtataac acatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 30 aggttcagcg gcagtggtatc tgggacagat ttcatgtctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caagttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctctcac ttttcggcgg 300
 35 agggaccaag gtggagatca aa 322

40 <210> 334
 <211> 354
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

45 <400> 334
 gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgccat tgagctgggt ccggcaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtgg tctcagca attagtgta gtggtagaag tacacactac 180
 50 gcagactccg tgaaggggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatac acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatctc 300
 aactggggag ctttgatat ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc ttca 354
 55 <210> 335
 <211> 118

ES 2 581 229 T3

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 335

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

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

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

20 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

30 25 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

35 Ala Lys Asp Leu Asn Trp Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

35 Met Val Thr Val Ser Ser
115

40 <210> 336
<211> 337
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 336

45 cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
ttctgcactg ggagcagctc caacattggg gcgggttatg ttgtacattg gtaccagcag
cttccaggaa cagcccccaa actcctcatc tatggtaaca gcaatcgcc ctcaggggtc 120
cctgaccaat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactggactc
50 cagtctgagg atgaggctga ttattactgc aaagcatggg ataacagcct gaatgctcaa 240
ggggtatttc ggcggaggga ccaagctgac cgtccta 300
337

55 <210> 337
<211> 112
<212> PRT

ES 2 581 229 T3

<213> Homo sapiens

<400> 337
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 5 1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
 10 20 25 30

Tyr Val Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
 15 35 40 45

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

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
 20 65 70 75 80

Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Lys Ala Trp Asp Asn Ser
 25 85 90 95

Leu Asn Ala Gln Gly Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 30 100 105 110

<210> 338
 <211> 363
 <212> ADN
 35 <213> Homo sapiens

<400> 338
 gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggcacagc cgggggggtc cctgagactc 60
 40 tcctgtgcag gctctggatt ctcctttaga ggctatgtca tgacttgggt ccgccaggct 120
 ccagggaaagg ggctggagtg ggtctcagga attagtggta gtgggtggtag cacatactac 180
 gcagactccg tgaaggggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtgt 240
 45 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggagac 300
 agctcgaact actactccgg tatggacgac tggggccaag ggaccacggt catcgctcc 360
 50 tca 363

<210> 339
 <211> 121
 55 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 339

ES 2 581 229 T3

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

5 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Ser Phe Arg Gly Tyr
 20 25 30

10 Val Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

15 Ser Gly Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

30 Ala Lys Gly Asp Ser Ser Asn Tyr Tyr Ser Gly Met Asp Val Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Ile Val Ser Ser
 115 120

35 <210> 340
 <211> 340
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

40 <400> 340
 gacatcgta tgaccaggc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
 atcaactgca agtccagcca gagtgttta tacaactcca acaataagaa ctacttagct
 tggtaccaggc agaaaccagg acagcctcct aagctgctca tttactggc ttctaccgg
 45 gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc
 atcagcagcc tgcaggctga ggatgtggca atttattact gtcagcaatt ttatggcct
 cctctcactt ttcggcggag ggaccaaggt ggaaatcaa 340
 50

<210> 341
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 341
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

ES 2 581 229 T3

	1	5	10	15	
5	Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Asn				
		20	25	30	
10	Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln				
		35	40	45	
15	Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val				
		50	55	60	
20	Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr				
		65	70	75	80
25	Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln				
		85	90	95	
30	Phe Tyr Gly Pro Pro Leu Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile				
		100	105	110	
	Lys				
35	<210> 342				
	<211> 357				
	<212> ADN				
	<213> Homo sapiens				
40	<400> 342				
	caggtgcagc tggcgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggc				60
	tcctgcaagg cttctggata cacttcacc ggctactata tgcactgggt gcgacaggcc				120
	cctggacaag ggcttgagtg gatggatgg atcaacccta acaatggtgg cacaactat				180
	ggacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac				240
	atggagctga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagggAAC				300
	tggAACGACG atgctttGA tatctgggc caaggAACAA tggTCACCtG ctcttca				357
50	<210> 343				
	<211> 119				
	<212> PRT				
	<213> Homo sapiens				
55	<400> 343				
	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala				
	1	5	10	15	

ES 2 581 229 T3

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

5

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

10

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Gly Gln Lys Phe
 50 55 60

15

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

20

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

25

Ala Arg Gly Asn Trp Asn Asp Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

30

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115

35

<210> 344
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

40

<400> 344
 tcctatgagc tgactcagtc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc
 acctgttctg gtgataaaatt gggggataaaa tttgctttct ggtatcagca gaagccaggc
 45
 cagtccccctg tgctggtcat ctatcaagat agcaagcggc cctcagggat ccctgagcga
 ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actctgacca tcagcggac ccaggctatg
 gatgaggctg actattactg tcaggcgtgg gacagcagcg ccgggggggt atttcggcgg
 aggaccaag ttgaccgtcc ta

50

<210> 345
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

55

<400> 345
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15

ES 2 581 229 T3

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Phe Ala
 20 25 30

5 Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45

10 Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

15 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
 65 70 75 80

20 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Ala Gly Gly
 85 90 95

25 Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

30 <210> 346
 <211> 375
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

35 <400> 346
 caggtgcaac tggaggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt cacttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

40 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180
 gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaatgggg 300
 tttactatgg ttcccgggagc cctctactac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg 360
 gtcaccgtct cctca 375

45 <210> 347
 <211> 125
 <212> PRT
 50 <213> Homo sapiens

<400> 347
 Gln Val Gln Leu Glu Glu Ser Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

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

ES 2 581 229 T3

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
5

 Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

10

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

15

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

20

 Ala Arg Met Gly Phe Thr Met Val Arg Gly Ala Leu Tyr Tyr Gly Met
 100 105 110

25

 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

30

 <210> 348
 <211> 325
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 348
 tcttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc 60

35

 acatgccaag gagacagcct cagaagctat catgcaagct ggtaccagca gaagccagga 120
 caggccccctg tacttgtcat ctatggtaa aacaaccggc cctcagggat cccagaccga 180

40

 ttctctgact ccagttcagg aaacacagct tccttgacca tcactgggc tcaggcggaa 240
 gatgaggctg actattattg taattatcggt gacaacagtg gtaaccatct ggtgtttcggt 300
 cggagggacc aagctgaccg tccta 325

45

 <210> 349
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

50

 <400> 349
 Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15

55

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

ES 2 581 229 T3

Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45

5 Gly Glu Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Asp Ser
 50 55 60

10 Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
 65 70 75 80

15 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Tyr Arg Asp Asn Ser Gly Asn His
 85 90 95

20 Leu Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

25 <210> 350
 <211> 357
 <212> ADN
 25 <213> Homo sapiens

30 <400> 350
 gaggtgcagc tggttggaaatc tggggggaggc ttgggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

35 tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaaagg ggcttggagtg ggtctcagct attagtcgta gtggtagtac cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 35 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgt ggaaccgaga 300
 tattttgact ggttatttagg cgactggggc cagggAACCC tggtcaccgt ctcctca 357

40 <210> 351
 <211> 119
 <212> PRT
 40 <213> Homo sapiens

45 <400> 351
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

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

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

ES 2 581 229 T3

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

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

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

15 Val Glu Pro Arg Tyr Phe Asp Trp Leu Leu Gly Asp Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

20 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

25 <210> 352
 <211> 369
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

30 <400> 352
 caggtgcagc tgggtggagtc ggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttca gactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt aaatggtatg aaggaagtaa taaatactat 180
 ggagactccg tgaaggggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 35 ttgcaa atga acagtctgag aggcgaggat acggctgtgt attactgtgc gagaggcgcc 300
 cacgactacg gtgacttcta ctacggatg gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc 360
 gtctcctca 369

40 <210> 353
 <211> 123
 <212> PRT
 45 <213> Homo sapiens

<400> 353
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

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

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

ES 2 581 229 T3

Ala Val Lys Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
 50 55 60

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

10 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

15 Ala Arg Gly Ala His Asp Tyr Gly Asp Phe Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 100 105 110

20 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

25 <210> 354
 <211> 319
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

30 <400> 354
 tccttatgaac tgactcagcc agcctcagtg tccgtgtccc caggacagat agccagcatc 60

35 acctgctctg gagataattt gggggataaa tatatttgct ggtatcagca gaagccaggc 120
 cagtccccctg tgcgggtcat ctatcaagat aacaagcggc cctcagggat ccctgagcgt 180
 ttctctggct ccaattctgg gaacacagcc actctgacca tcagcggac ccaggctatg 240
 gatgaggctg actattactg tcaggcgtgg gacagcagca ctgtggtatt tcggcggagg 300
 gaccaagctg accgtccta 319

40 <210> 355
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

45 <400> 355
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln 1 5 10 15

50 Ile Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Leu Gly Asp Lys Tyr Ile
 20 25 30

55 Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Arg Val Ile Tyr
 35 40 45

ES 2 581 229 T3

	Gln	Asp	Asn	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Glu	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser
50																
5	Asn	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Thr	Gln	Ala	Met
65																80
10																
	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ala	Trp	Asp	Ser	Ser	Thr	Val	Val
100																
15																
	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu						
105																
20	<210>	356														
	<211>	366														
	<212>	ADN														
20	<213>	Homo sapiens														
	<400>	356														
	gaggtgcagc	tgttgagtc	tgggggaggc	ttggcacgc	ctgggggtc	cctgagactc										60
25	tcctgtgcag	cctctggatt	cacctttagc	agctatgcc	tgagctgggt	ccgccaggct										120
	ccagggaaagg	ggctggagtg	ggtctcagct	attagttata	gtggcggtag	cacatactac										180
	gcaggctccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat										240
30	ctgcaaatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaagatcg										300
	gagggagcga	cttggacta	cggtatggac	gtctgggccc	aagggaccac	ggtcaccgtc										360
35	tcctca															366
	<210>	357														
	<211>	122														
40	<212>	PRT														
	<213>	Homo sapiens														
	<400>	357														
	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
45	1															
	10															
	30															
50																
	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
	20															
	25															
	30															
55																
	Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
	35															
	40															
	45															
	Ser	Ala	Ile	Ser	Tyr	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Gly	Ser	Val
	50															
	55															
	60															

ES 2 581 229 T3

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

5
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

10 Ala Lys Asp Arg Glu Gly Ala Thr Trp Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
 100 105 110

15 Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 358
 <211> 319
 20 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 358
 tccttatgaac tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc
 25 acctgctctg gagataaatt gggggaaagc tatgcttgct ggtatcagca gaagccaggc
 cagtcccctg tactggtcat ctatcaagat tacaagcggc cctcagggat ccctgagcgc
 30 ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actctgacca tcagcggac ccaggctatg
 gatgaggctg actattactg tcaggcgtgg gacagaagta ctgtactatt tcggcggagg
 gaccaagctg accgtccta 319

35 <210> 359
 <211> 106
 <212> PRT
 40 <213> Homo sapiens

<400> 359
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15

45 Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Glu Ser Tyr Ala
 20 25 30

50 Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45

55 Gln Asp Tyr Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

ES 2 581 229 T3

	Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met			
65	65	70	75	80
5	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Arg Ser Thr Val Leu			
	85	90	95	
10	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu			
	100	105		
	<210> 360			
	<211> 366			
15	<212> ADN			
	<213> Homo sapiens			
	<400> 360			
20	cagatgcagc tggtgaggc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggc cctgagactc	60		
	tcctgtgcag cgtctggatt cacttcaga acctatggca tgcactgggt ccgccaggct	120		
	ccaggcaagg gactggagtg ggtggcagtt atatggatg atggaagtaa taaacactat	180		
25	gcagactccg tgaagggccg attcaccatc accagagaca attccaagaa cactctgaat	240		
	ctgcaaatac acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagcccc	300		
	cagtggagc tagttcatga agctttgat atctgggccc aaggacaat ggtcaccgtc	360		
30	tcttca	366		
	<210> 361			
35	<211> 122			
	<212> PRT			
	<213> Homo sapiens			
	<400> 361			
40	Gln Met Gln Leu Val Glu Ser 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 Arg Thr Tyr			
45	20 25 30			
	Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
	35 40 45			
50	Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val			
	50 55 60			
55	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Thr Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asn			
	65 70 75 80			

ES 2 581 229 T3

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

5 Ala Arg Ala Pro Gln Trp Glu Leu Val His Glu Ala Phe Asp Ile Trp
 100 105 110

10 Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

15 <210> 362
 <211> 325
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

20 <400> 362
 tcctatgtgc tgactcagcc accctcggtg tcagtggccc caggacagac ggccaggatt
 acctgtgggg gaaaacaacct tggaaagtaaa agtgtgcact ggtaccagca gaagccaggc
 25 caggccccctg tgctggtcgt ctatgatgat agcgaccggc cctcatggat ccctgagcga
 ttctctggct ccaactctgg gaacacggcc accctgacca tcagcagggg cgaagccggg
 gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg gatagtagta gtgatcatgt ggtatttcgg
 30 cgaggaggacc aagctgaccg tccta 325

35 <210> 363
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

40 <400> 363
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15

45 Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Leu Gly Ser Lys Ser Val
 20 25 30

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

50 Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Trp Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

55 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Gly Glu Ala Gly
 65 70 75 80

ES 2 581 229 T3

	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His																																																																																																				
	85	90		95		5	Val Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu			100	105		<210> 364		10	<211> 981			<212> ADN			<213> Homo sapiens			<400> 364		15	gctagcacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag	60		agcacagcgg ccctgggctg cctggtaag gactacttcc ccgaaccgggt gacggtgtcg	120	20	tggaaactcag ggcgctctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtcct acagtcccta	180		ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcaacttcgg caccagacc	240		tacacctgca acgttagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc	300	25	aaatgttgtg tcgagtgccc accgtgccc gcaccacctg tggcaggacc gtcagtctc	360		ctcttccccca caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacgtgc	420		gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc	480	30	gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt	540		gtggtcagcg tcctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc	600	35	aaggtctcca acaaaggcct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa aaccaaaggg	660		cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac	720	40	caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg	780		gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctccatgct ggactccgac	840		ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggaaac	900	45	gtcttctcat gctccgtat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc	960		tccctgtctc cggtaaatg a	981	50	<210> 365			<211> 326			<212> PRT			<213> Homo sapiens		55	<400> 365			Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg			1	5		10	15
	95																																																																																																				
5	Val Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu																																																																																																				
	100	105																																																																																																			
	<210> 364																																																																																																				
10	<211> 981																																																																																																				
	<212> ADN																																																																																																				
	<213> Homo sapiens																																																																																																				
	<400> 364																																																																																																				
15	gctagcacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag	60																																																																																																			
	agcacagcgg ccctgggctg cctggtaag gactacttcc ccgaaccgggt gacggtgtcg	120																																																																																																			
20	tggaaactcag ggcgctctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtcct acagtcccta	180																																																																																																			
	ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcaacttcgg caccagacc	240																																																																																																			
	tacacctgca acgttagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc	300																																																																																																			
25	aaatgttgtg tcgagtgccc accgtgccc gcaccacctg tggcaggacc gtcagtctc	360																																																																																																			
	ctcttccccca caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacgtgc	420																																																																																																			
	gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc	480																																																																																																			
30	gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt	540																																																																																																			
	gtggtcagcg tcctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc	600																																																																																																			
35	aaggtctcca acaaaggcct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa aaccaaaggg	660																																																																																																			
	cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac	720																																																																																																			
40	caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg	780																																																																																																			
	gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctccatgct ggactccgac	840																																																																																																			
	ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggaaac	900																																																																																																			
45	gtcttctcat gctccgtat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc	960																																																																																																			
	tccctgtctc cggtaaatg a	981																																																																																																			
50	<210> 365																																																																																																				
	<211> 326																																																																																																				
	<212> PRT																																																																																																				
	<213> Homo sapiens																																																																																																				
55	<400> 365																																																																																																				
	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg																																																																																																				
	1	5																																																																																																			
	10	15																																																																																																			

ES 2 581 229 T3

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

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

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

15 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

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

25 Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

30 Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

35 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

40 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

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

50 Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

55 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

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

55 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

ES 2 581 229 T3

	245	250	255
5	Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr 260	265	270
10	Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys 275	280	285
15	Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys 290	295	300
20	Ser Leu Ser Pro Gly Lys 325		
25	<210> 366 <211> 324 <212> ADN <213> Homo sapiens		
30	<400> 366 cgtacggtgg ctgcaccatc tgtcttcatt ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaaggtgg ataacgccct ccaatcggtt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 35	60	
35	agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaaag 40	120	
40	agcttcaaca ggggagagtg ttag	180	
45	agactacgag aaacacaaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaaag <210> 367 <211> 107 <212> PRT <213> Homo sapiens	240	
50	<400> 367 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu 1 5 10 15	300	
55	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		

ES 2 581 229 T3

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

5

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

10

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

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

20 <210> 368
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 368
 ggccaaccga aagcggcgcc ctgggtcaact ctgttcccgc ctcctctga ggagcttcaa 60
 gccaacaagg ccacactggt gtgtctcata agtgacttct acccgggagc cgtgacagtg 120
 gcctggaagg cagatagcag ccccgtaaag gcgggagtgg agaccaccac accctccaaa 180
 30 caaagcaaca acaagtacgc ggccagcagc tatctgagcc tgacgcctga gcagtggaag 240
 tccccacagaa gctacagctg ccaggtcacf catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg 300
 35 gcccttacag aatgttcata g 321

40 <210> 369
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

45 <400> 369
 Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser 1 5 10 15

50

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
 20 25 30

55 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 Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
 50 55 60

ES 2 581 229 T3

	Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys			
65	65	70	75	80
5				
	Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val			
	85	90	95	
10	Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser			
	100	105		
15	<210> 370			
	<211> 15			
	<212> ADN			
	<213> Homo sapiens			
20	<400> 370			
	agaaaaaggaa aagtc			15
25	<210> 371			
	<211> 5			
	<212> PRT			
	<213> Homo sapiens			
30	<400> 371			
	Arg Lys Arg Lys Val			
	1	5		
35	<210> 372			
	<211> 504			
	<212> ADN			
	<213> Homo sapiens			
40	<400> 372			
	atgttccctt ttgccttact atatgttctg tcagtttctt tcagggaaaat cttcatctta			60
	caaccttgtag ggctgggtgtt aacttacgac ttcactaact gtgactttga gaagattaaa			120
	gcagcctatac tcagtactat ttctaaagac ctgattacat atatgagtgg gaccaaaaagt			180
45	accgagttca acaacaccgt ctctttagc aatcgccac attgccttac tgaaatccag			240
	agcctaacct tcaatccac cgccggctgc gcgtcgctcg ccaaagaaaat gttcgccatg			300
	aaaactaagg ctgccttagc tatctggtgc ccaggctatt cgaaaaactca gataaatgct			360
50	actcaggcaa tgaagaagag gacaaccaat aaatgtctgg aacaagtgtc acaattacaa			420
	ggattgtggc gtcgcttcaa tcgaccttta ctgaaacaac agcatcacca tcaccatcac			480
55	gactacaaag acgatgacga caaa			504
	<210> 373			

ES 2 581 229 T3

<211> 168
<212> PRT
<213> Homo sapiens

5 <400> 373
Met Phe Pro Phe Ala Leu Leu Tyr Val Leu Ser Val Ser Phe Arg Lys
1 5 10 15

10 Ile Phe Ile Leu Gln Leu Val Gly Leu Val Leu Thr Tyr Asp Phe Thr
20 25 30

15 Asn Cys Asp Phe Glu Lys Ile Lys Ala Ala Tyr Leu Ser Thr Ile Ser
35 40 45

20 Lys Asp Leu Ile Thr Tyr Met Ser Gly Thr Lys Ser Thr Glu Phe Asn
50 55 60

25 Asn Thr Val Ser Cys Ser Asn Arg Pro His Cys Leu Thr Glu Ile Gln
65 70 75 80

30 Met Phe Ala Met Lys Thr Lys Ala Ala Leu Ala Ile Trp Cys Pro Gly
100 105 110

35 Tyr Ser Glu Thr Gln Ile Asn Ala Thr Gln Ala Met Lys Lys Arg Thr
115 120 125

40 Thr Asn Lys Cys Leu Glu Gln Val Ser Gln Leu Gln Gly Leu Trp Arg
130 135 140

45 Arg Phe Asn Arg Pro Leu Leu Lys Gln Gln His His His His His His
145 150 155 160

50 <210> 374
<211> 519
<212> ADN
<213> Homo sapiens

55 <400> 374
atgttccctt ttgccttact atatgttctg tcagttcctt tcaggaaaat cttcatctta 60
caacctttag ggctgggtgtt aacttacgac ttcactaact gtgactttga gaagattaaa 120

ES 2 581 229 T3

	gcagcctatc tcagtactat ttctaaagac ctgattacat atatgagtgg gacaaaagt	180
5	accgagttca acaacaccgt ctctttagc aatcgccac attgccttac taaaatccag	240
	agcctaacct tcaatcccac cgccggctgc gcgtcgctcg ccaaagaaat gttcgccatg	300
	aaaactaagg ctgccttagc tatctggtgc ccaggctatt cgaaaaactca gataaatgct	360
10	actcaggcaa tgaagaagag gagaaaaagg aaagtcacaa ccaataaatg tctggaacaa	420
	gtgtcacaat tacaaggatt gtggcgtcgc ttcaatcgac cttaactgaa acaacagcat	480
	caccatcacc atcacgacta caaagacgat gacgacaaa	519
15		
	<210> 375	
	<211> 173	
	<212> PRT	
20	<213> Homo sapiens	
	<400> 375	
	Met Phe Pro Phe Ala Leu Leu Tyr Val Leu Ser Val Ser Phe Arg Lys	
	1 5 10 15	
25		
	Ile Phe Ile Leu Gln Leu Val Gly Leu Val Leu Thr Tyr Asp Phe Thr	
	20 25 30	
30		
	Asn Cys Asp Phe Glu Lys Ile Lys Ala Ala Tyr Leu Ser Thr Ile Ser	
	35 40 45	
35	Lys Asp Leu Ile Thr Tyr Met Ser Gly Thr Lys Ser Thr Glu Phe Asn	
	50 55 60	
40	Asn Thr Val Ser Cys Ser Asn Arg Pro His Cys Leu Thr Glu Ile Gln	
	65 70 75 80	
45	Ser Leu Thr Phe Asn Pro Thr Ala Gly Cys Ala Ser Leu Ala Lys Glu	
	85 90 95	
	Met Phe Ala Met Lys Thr Lys Ala Ala Leu Ala Ile Trp Cys Pro Gly	
	100 105 110	
50		
	Tyr Ser Glu Thr Gln Ile Asn Ala Thr Gln Ala Met Lys Lys Arg Arg	
	115 120 125	
55	Lys Arg Lys Val Thr Thr Asn Lys Cys Leu Glu Gln Val Ser Gln Leu	
	130 135 140	

ES 2 581 229 T3

	Gln	Gly	Leu	Trp	Arg	Arg	Phe	Asn	Arg	Pro	Leu	Leu	Lys	Gln	Gln	His
145							150						155			160
5	His	His	His	His	Asp	Tyr	Lys	Asp	Asp	Asp	Asp	Lys				
					165			170								
10	<210>	376														
	<211>	28														
	<212>	PRT														
	<213>	Homo sapiens														
15	<400>	376														
	Met	Phe	Pro	Phe	Ala	Leu	Leu	Tyr	Val	Leu	Ser	Val	Ser	Phe	Arg	Lys
	1					5				10				15		
20	Ile	Phe	Ile	Leu	Gln	Leu	Val	Gly	Leu	Val	Leu	Thr				
					20			25								
25	<210>	377														
	<211>	481														
	<212>	ADN														
	<213>	Homo sapiens														
30	<400>	377														
	atggagacag	acacactcct	gctatggta	ctgctgctct	gggttccagg	ttccaccgg								60		
	tacgacttca	ctaactgtga	ctttcagaag	attgaagcag	actatatccg	tactatttct								120		
	aaagacctga	ttacatata	gagtggact	aaaagtaccg	acttcaacaa	caccgtctcc								180		
35	tgttagcaatc	ggccacactg	ccttactgaa	atccagagcc	taaccttcaa	tcccaccccc								240		
	cgctgcgcgt	cgctgccaa	ggaaatgttc	gccaggaaaa	ctaaggctac	cctcgctctc								300		
	tggtgcccag	gctattcgga	aactcagata	aatgctactc	aggcaatgaa	gaagaggaca								360		
40	accaataaat	gtctggaaca	agtgtcacaa	ttactaggat	tgtggcgtcg	cttcattcga								420		
	actttactga	aacaacagca	ccaccaccac	caccatgact	ataaaagacga	tgacgacaaa								480		
45	t													481		
50	<210>	378														
	<211>	160														
	<212>	PRT														
	<213>	Homo sapiens														
55	<400>	378														
	Met	Glu	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Trp	Val	Pro	
	1					5				10				15		
	Gly	Ser	Thr	Gly	Tyr	Asp	Phe	Thr	Asn	Cys	Asp	Phe	Gln	Lys	Ile	Glu

ES 2 581 229 T3

	20	25	30	
5	Ala Asp Tyr Leu Arg Thr Ile Ser Lys Asp Leu Ile Thr Tyr Met Ser 35	40	45	
10	Gly Thr Lys Ser Thr Asp Phe Asn Asn Thr Val Ser Cys Ser Asn Arg 50	55	60	
15	Pro His Cys Leu Thr Glu Ile Gln Ser Leu Thr Phe Asn Pro Thr Pro 65	70	75	80
20	Arg Cys Ala Ser Leu Ala Lys Glu Met Phe Ala Arg Lys Thr Lys Ala 85	90	95	
25	Thr Leu Ala Leu Trp Cys Pro Gly Tyr Ser Glu Thr Gln Ile Asn Ala 100	105	110	
30	Thr Gln Ala Met Lys Lys Arg Thr Thr Asn Lys Cys Leu Glu Gln Val 115	120	125	
35	Ser Gln Leu Leu Gly Leu Trp Arg Arg Phe Ile Arg Thr Leu Leu Lys 130	135	140	
40	Gln Gln His His His His His Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys 145	150	155	160
45	<210> 379 <211> 495 <212> ADN <213> Homo sapiens			
50	atggagacag acacactcct gctatggta ctgctgctc gggttccagg ttccaccgg tacgacttca ctaactgtga ctttcagaag attgaagcag actatctccg tactatttct aaagacctga ttacatatat gagtggact aaaagtaccg acttcaacaa caccgtctcc tgttagcaatc ggccacactg ctttactgaa atccagagcc taaccttcaa tcccaccccc cgctgcgcgt cgctcgccaa ggaaatgttc gccaggaaaa ctaaggctac cctcgctctc tggtgcccaag gctattcgga aactcagata aatgctactc aggcaatgaa gaagaggaga aaaaggaaag tcacaaccaa taaatgtctg gaacaagtgt cacaattact aggattgtgg cgtcgcttca ttcgaacttt actgaaacaa cagcaccacc accaccacca tgactataaa gacgatgacg acaaa			60
55				120
				180
				240
				300
				360
				420
				480
				495

ES 2 581 229 T3

5 <210> 380
 <211> 165
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <400> 380
 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15

15 Gly Ser Thr Gly Tyr Asp Phe Thr Asn Cys Asp Phe Gln Lys Ile Glu
 20 25 30

20 Ala Asp Tyr Leu Arg Thr Ile Ser Lys Asp Leu Ile Thr Tyr Met Ser
 35 40 45

25 Gly Thr Lys Ser Thr Asp Phe Asn Asn Thr Val Ser Cys Ser Asn Arg
 50 55 60

30 Pro His Cys Leu Thr Glu Ile Gln Ser Leu Thr Phe Asn Pro Thr Pro
 65 70 75 80

35 Arg Cys Ala Ser Leu Ala Lys Glu Met Phe Ala Arg Lys Thr Lys Ala
 50 85 90 95

40 Thr Leu Ala Leu Trp Cys Pro Gly Tyr Ser Glu Thr Gln Ile Asn Ala
 100 105 110

45 Thr Gln Ala Met Lys Lys Arg Arg Lys Arg Lys Val Thr Thr Asn Lys
 115 120 125

50 Cys Leu Glu Gln Val Ser Gln Leu Leu Gly Leu Trp Arg Arg Phe Ile
 130 135 140

55 Arg Thr Leu Leu Lys Gln Gln His His His His His Asp Tyr Lys
 145 150 155 160

60 Asp Asp Asp Asp Lys
 50 165

65 <210> 381
 <211> 20
 55 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

70 <400> 381

ES 2 581 229 T3

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

5 Gly Ser Thr Gly
20

10 <210> 382
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido de unión sintético

<400> 382
Ser Gly Gly Ala Pro Met Leu Ser
1 5
20

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo humano anti-LPET que comprende:

a. un dominio variable de cadena ligera que comprende:

5 i. una secuencia CDR1 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 13;

10 ii. una secuencia CDR2 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 60; y

15 iii. una secuencia CDR3 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 105; y

b. un dominio variable de cadena pesada que comprende:

20 i. una secuencia CDR1 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 145;

25 ii. una secuencia CDR2 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 173; y

30 iii. una secuencia CDR3 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 212; y

2. El anticuerpo humano anti-LPET de la reivindicación 1, que comprende:

20 a. una secuencia del dominio variable de cadena ligera seleccionado del grupo que consiste en:

i. aminoácidos que tienen una secuencia idéntica en al menos 80% al SEQ ID NO: 363;

25 ii. una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de polinucleótidos que es idéntica en al menos 80% al SEQ ID NO: 362;

30 iii. una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de polinucleótido que hibrida en condiciones moderadamente rigurosas con el complemento de un polinucleótido que consiste en el SEQ ID NO: 362;

y

35 b. una secuencia del dominio variable de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en:

i. una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 80% al SEQ ID NO: 361;

40 ii. una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos 80% al SEC ID NO: 360;

iii. una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de polinucleótido que hibrida en condiciones moderadamente rigurosas con el complemento de un polinucleótido que consiste en el SEQ ID NO: 360;

35 3. El anticuerpo humano anti-LPET de la reivindicación 1, que comprende:

un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia del SEQ ID NO: 363 y un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia del SEQ ID NO: 361.

4. El anticuerpo humano anti-LPET de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde

40 a. el anticuerpo humano anti-LPET se une a LPET sustancialmente con la misma Kd que un anticuerpo de referencia, y/o

b. en donde el anticuerpo humano anti-LPET inhibe la actividad de LPET de acuerdo con el análisis de OPG de células primarias con la misma CI50 que un anticuerpo de referencia,

45 en donde dicho anticuerpo de referencia es un anticuerpo que comprende un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 363 y un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 361.

5. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo humano anti-LPET de una cualquiera de las

reivindicaciones 1-4.

6. Un ácido nucleico que comprende una secuencia de polinucléotido que codifica el dominio variable de cadena ligera y el dominio variable de cadena pesada del anticuerpo humano anti-LPET de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4.

5 7. Un vector de expresión recombinante que comprende el ácido nucleico de la reivindicación 6.

8. Una célula anfitriona que comprende

a) un vector de expresión que comprende un polinucleótido que codifica el dominio variable de cadena ligera y el dominio variable de cadena pesada del anticuerpo humano anti-LPET de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4; o

10 b) un vector de expresión que comprende un polinucleótido que codifica el dominio variable de cadena ligera del anticuerpo humano anti-LPET de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y un vector de expresión que comprende un polinucleótido que codifica el dominio variable de cadena pesada del anticuerpo humano anti-LPET de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4.

9. Un hibridoma capaz de producir el anticuerpo humano anti-LPET de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4.

15 10. Un método de producción del anticuerpo humano anti-LPET de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que comprende incubar la célula anfitriona de la reivindicación 8, en condiciones que permiten expresar el anticuerpo.

11. Una composición de acuerdo con la reivindicación 5, para su uso en el tratamiento de

a. una afección inflamatoria relacionada con LPET en un sujeto que necesita semejante tratamiento; o
b un trastorno fibrótico relacionado con LPET en un sujeto que necesite semejante tratamiento.

20 12. La composición para su uso de la reivindicación 11, en donde la afección inflamatoria se selecciona del grupo que consiste en asma alérgica, rinosinusitis alérgica, conjuntivitis alérgica, y dermatitis atópica.

25 13. La composición para su uso de la reivindicación 11, en donde el trastorno fibrótico se selecciona del grupo que consiste en esclerodermia, enfermedad pulmonar intersticial, fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis que se produce a partir de hepatitis B o C crónica, fibrosis inducida por radiación, y fibrosis que se produce a partir de la curación de heridas.

14. El anticuerpo humano anti-LPET de la reivindicación 1, en donde dicho anticuerpo humano anti-LPET es un anticuerpo monoclonal.

30 15. El anticuerpo humano anti-LPET de la reivindicación 1, en donde dicho anticuerpo humano anti-LPET comprende a) una cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID NO: 363 y un dominio constante de cadena ligera lambda que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID NO: 369; y b) una cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID NO: 361 y un dominio constante pesado de IgG2 que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID NO: 365.

16. El método de la reivindicación 10, en donde la célula anfitriona es una célula CHO.

35 17. Un anticuerpo humano anti-LPET obtenible mediante el método de la reivindicación 16.

CDR LIGERAS VARIABLES					
Ab	CDR 1	CDR 2	CDR 3		
A1 NA	CAAGGAGACAGCCTCAGAACGCTATT TGCAAGC (SEQ ID NO: 5)	GGTAAAAACTACCGGCCCTCA (SEQ ID NO: 52)	AACTCCCGGGACAGAAGTGTAAACCATCTGGTG TT (SEQ ID NO: 97)		
AA	QGDSLRSYYAS (SEQ ID NO: 6)	GKNYRPS (SEQ ID NO: 53)	NISRDRSGNHLV (SEQ ID NO: 98)		
A2 NA	CAAGGAGACAGCCTCAGAACGCTATT TGCAAGC (SEQ ID NO: 7)	GATAAAAACAAACGGGCCCTCA (SEQ ID NO: 54)	AACTCCCCGGGACAGCAGTGATAACCATCTAGTG GTAT (SEQ ID NO: 99)		
AA	QGDSLRTYYAS (SEQ ID NO: 8)	DKNNRPS (SEQ ID NO: 55)	NISRDSSDNHILVV (SEQ ID NO: 100)		
A3 NA	ACTGGGAGCAGCTCCAACATCGGGGC AGGTTTGTATGTACAC (SEQ ID NO: 9)	GATAACAAACAATCGGCCCTCA (SEQ ID NO: 56)	CAGTCCTATGACAGCAACCTGAGTAGTTGGTTCGATT GTGGTT (SEQ ID NO: 101)		
AA	TGSSSNIGAGFDVH (SEQ ID NO: 10)	DNNNRPS (SEQ ID NO: 57)	OSYFDNSLNSGSIVV (SEQ ID NO: 102)		
A4 NA	ACTGGGAGCAGCTCCAACATCGGGGC AGGTTTGTATGTGAC (SEQ ID NO: 119)	GATAACAAACAATCGGCCCTCA (SEQ ID NO: 58)	CAGTCCTATGACAGCAACCTGAGTAGTTGGTTCGATT GTGGTT (SEQ ID NO: 103)		
AA	TGSSSNIGAGFDVH (SEQ ID NO: 10)	DNNNRPS (SEQ ID NO: 57)	OSYFDNSLNSGSIVV (SEQ ID NO: 102)		
A5 NA	GGGGGAAACAAACCTTGGAAAGTAAAAA GTGTGCAC (SEQ ID NO: 442)	GATGATAGCCGACGGCCCTCA (SEQ ID NO: 59)	CAGGTGTGGATAGTAGTGTATGTGGTA T (SEQ ID NO: 104)		
AA	GGNNLGSKSVH (SEQ ID NO: 421)	DDSDRPS (SEQ ID NO: 60)	QWWDSSSDHV (SEQ ID NO: 105)		

FIGURA 1A

Ab		CDR 1	CDR 2	CDR 3
A6 NA	TCTGGAGATAAAATTGGGGATAAATA (SEQ ID NO: 4514)	CAAGATAAGAACGGGATTA A (SEQ ID NO: 61)	CAAGCCGTGGACAGCACACTGGTAT (SEQ ID NO: 106)	
AA	SGDKLQDKYAC (SEQ ID NO: 4415) TGCTTGC (SEQ ID NO: 4514)	QDKKRPFS (SEQ ID NO: 62)	QAWDSSTVY (SEQ ID NO: 107)	
A7 NA	TCTGGAGATAAAATTGGGGATAAATA (SEQ ID NO: 4514)	CAAGATAACAAGCGGCCCTCA (SEQ ID NO: 63)	CAGGGCATGGACAGGCACCACTGGATAT (SEQ ID NO: 108)	
AA	SGDKLQDKYAC (SEQ ID NO: 4415) TGCTTGC (SEQ ID NO: 4514)	QENKRPFS (SEQ ID NO: 64)	QAWDSSTTAI (SEQ ID NO: 109)	
A8 AA	TCTGGAGATAAAATTGGGGATAAATA TGCTTGC (SEQ ID NO: 4514) SGDKLQDKYAC (SEQ ID NO: 4415)	CAAGATAACAAGCGGCCCTCA (SEQ ID NO: 63)	CAGGGCTGGACAGGCACACTGGTAT (SEQ ID NO: 106)	
A9 NA	CAAGGAGACAGCCTAGAAATCTTTTA TGCAAAC (SEQ ID NO: 4516)	GGTAAAAACAAACCGGCCCTCA (SEQ ID NO: 65)	QAWDSSTVY (SEQ ID NO: 107)	
AA	QGDLSLRIFYAN (SEQ ID NO: 4617)	GKNNRPS (SEQ ID NO: 67)	AACTCCCCGAGCAGTGGTAAACCATGTGGTA T (SEQ ID NO: 66)	
A10 NA	CGGGCAAATCAGTACATTAGCACCTA TTAAAT (SEQ ID NO: 4718)	GCTGCATCCAGTTGCAAAAGT (SEQ ID NO: 68)	NSRDSSGNHNV (SEQ ID NO: 110)	
AA	RANQYISTYLN (SEQ ID NO: 4819)	AASSLQS (SEQ ID NO: 69)	CAGCAQAGCTACACTACCCGATCACCT (SEQ ID NO: 112)	
A11 NA	AAAGTCAGCCAGAGTGTTAAACAG CTCCAAACATAAGAACTACTTACGT (SEQ ID NO: 4920)	TGGACATCCACCCGGGAAGGC (SEQ ID NO: 70)	QQSYTTPT (SEQ ID NO: 111)	
AA	KSSQSVLNSSNNKNYLA (SEQ ID NO: 2921)	WTSTREG (SEQ ID NO: 71)	QQYFTTIPWT (SEQ ID NO: 115)	

FIGURA 1B

Ab	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A12 NA	CGGGCGAGTCAGGGTATTAGCTG GTTAGCC (SEQ ID NO: 2422)	ACTGCATTCAGTTGCCAAAGT (SEQ ID NO: 72)	CAACAGGTGACAGTTGCCACTT (SEQ ID NO: 16)
AA	RASQGLSSWLA (SEQ ID NO: 2221)	TASSLQS (SEQ ID NO: 73)	QQADSFLT (SEQ ID NO: 17)
A13.1 NA	AGGTCTAGTCAAAGGCTCTGTCTACAG TGATGGAGAACCTTACCTGAAT (SEQ ID NO: 2224)	AAGGTTCCTAACTGGACTCT (SEQ ID NO: 74)	ATGCAAGGTACACACTGGCTCGGGCT (SEQ ID NO: 18)
AA	RSSQSLVYSDGNTYLN (SEQ ID NO: 2425)	KVSNWDS (SEQ ID NO: 75)	MQGTHWPPA (SEQ ID NO: 19)
A13.2 NA	CGGGCGAGTCAGGGTCTAGCAGCTG GTTAGCC (SEQ ID NO: 2426)	AACACATCCAGTTGCCAAAGT (SEQ ID NO: 76)	CAACAGGTAAACAGTTGCCCTCTCACTT (SEQ ID NO: 20)
AA	RASQGLSSWLA (SEQ ID NO: 2427)	NTSSLQS (SEQ ID NO: 77)	QOANSFPLT (SEQ ID NO: 121)
A14.1 NA	AGGTCTAGTCAAAGGCTCTGTCTACAG TGATGGAAACACCTTACCTGAAT (SEQ ID NO: 2228)	AAGGTTCCTAACTGGACTCT (SEQ ID NO: 78)	ATGCAAGGTACACACTGGCTCGGGCC (SEQ ID NO: 122)
AA	RSSQSLVYSDGNTYLN (SEQ ID NO: 2429)	KVSNWDS (SEQ ID NO: 79)	MQGTHWPPA (SEQ ID NO: 19)
A14.2 NA	CGGGCGAGTCAGGGTCTAGCAGCTG GTTAGCC (SEQ ID NO: 2426)	AACACATCCAGTTGCCAAAGT (SEQ ID NO: 76)	CAACAGGTAAACAGTTGCCCTCTCACTT (SEQ ID NO: 20)
AA	RASQGLSSWLA (SEQ ID NO: 2427)	NTSSLQS (SEQ ID NO: 77)	QOANSFPLT (SEQ ID NO: 121)
A15.1 NA	AGGTCTAGTCAAAGGCTCTATACTACAG TGATGGAAACACTTACCTGAAT (SEQ ID NO: 2230)	AAGGTTCCTAACTGGACTCT (SEQ ID NO: 78)	ATGCAAGGTACACACTGGCTCGGGCC (SEQ ID NO: 122)
AA	RSSQSLVYSDGNTYLN (SEQ ID NO: 2431)	KVSNWDS (SEQ ID NO: 75)	MQGTHWPPA (SEQ ID NO: 19)

FIGURA 1C

Ab	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A15.2 NA	CGGGCGAGTCAGGCTTCTAGCAACTG GTAGGCC (SEQ ID NO: 2526)	ACTACATCCAGTTGCAAAGT (SEQ ID NO: 78)	CAACIAGGGCTGACAGTTTOCCTCTCACIT (SEQ ID NO: 123)
AA	RASQSLSSWLA (SEQ ID NO: 2627)	TTSLSQS (SEQ ID NO: 79)	QQADSPLT (SEQ ID NO: 117)
A16.1 NA	AGGTCTAGTCAAAAGCCTCGTATACAG TGATGCAAACACCTACTTGAAAT (SEQ ID NO: 3432)	AAGGTTTCTTACTGGGACTCT (SEQ ID NO: 80)	ATGCAAGGTACACACTGGAATTGGGCT (SEQ ID NO: 118)
AA	RSSQSLVYSDGNTYLN (SEQ ID NO: 3233)	KVSYWDS (SEQ ID NO: 81)	MQGTHWTPA (SEQ ID NO: 119)
A16.2 NA	CGGGCGAGTCAGGCTTCTAGCAGCTG GTAGCC (SEQ ID NO: 3334)	AATGCATCCAGTTGCAAAGT (SEQ ID NO: 82)	CAACAGGCTAACAGTTCCCTCTCACTT (SEQ ID NO: 120)
AA	RASQSLSSWLA (SEQ ID NO: 3435)	NASSLQS (SEQ ID NO: 83)	QQANSPLT (SEQ ID NO: 121)
A17 NA	GGCTTGAACTCTGGCTCAGTCCTACT AGTTACTTCCCAGC (SEQ ID NO: 3530)	AGCACAAAACAGTCGCTCTTCT (SEQ ID NO: 84)	GTGCTGTATACTGGTAGAGGCATTYGGTGT (SEQ ID NO: 124)
AA	GLNSGSVSTSYPPS (SEQ ID NO: 3637)	STNSPSS (SEQ ID NO: 85)	VLYMGRGIWV (SEQ ID NO: 125)
A18.1 NA	AGGTCTAGTCAAAAGCCTCGTATACAG TGATGCAAACACCTACTTGAAAT (SEQ ID NO: 3432)	AAGGTTTCTTACTGGGACTCT (SEQ ID NO: 86)	ATGCAAGGTACACACTGGAATTGGGCT (SEQ ID NO: 118)
AA	RSSQSLVYSDGNTYLN (SEQ ID NO: 3233)	KVSYWDS (SEQ ID NO: 81)	MQGTHWTPA (SEQ ID NO: 119)
A18.2 NA	CGGGCGAGTCAGGCTTCTAGCAGCTG GTAGCC (SEQ ID NO: 3334)	AATGCATCCAGTTGCAAAGT (SEQ ID NO: 82)	CAACAGGCTAACAGTTCCCTCTCACTT (SEQ ID NO: 120)
AA	RASQSLSSWLA (SEQ ID NO: 3435)	NASSLQS (SEQ ID NO: 83)	QQANSPLT (SEQ ID NO: 121)

FIGURA 1D

Ab	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A19.1 NA	AGGTCTAGTCAAAGGCTCGTCTACAG TGATGGAGAACCTACTTGAAT (SEQ ID NO: 3218)	AAGGGTTCTAACTGGGACTCT (SEQ ID NO: 74)	ATGCAAGGTACACACTGGCTCGGGCCT (SEQ ID NO: 118)
AA A19.2 NA	RSSQSLVYSDGDTYLN (SEQ ID NO: 4839) CGGGCGACTCAGGGCTTAGCAGCTG GTTAGCC (SEQ ID NO: 2526)	KVSNWDS (SEQ ID NO: 75) AACACATCCAGTTGCAAAGT (SEQ ID NO: 76)	MQGTHWPPA (SEQ ID NO: 119) CAACAGGCCTAACAGTTTCCCTCTCACCT (SEQ ID NO: 120)
AA	RASQGLSSWL (SEQ ID NO: 2627)	NTSSLQS (SEQ ID NO: 77)	QQANSEPLT (SEQ ID NO: 121) ATGCAAGGTACACACTGGCTCGGGCCT (SEQ ID NO: 118)
A20.1 NA	AGGTCTAGTCAAAGGCTCGTCTACAG TGATGGAGAACCTACTTGAAT (SEQ ID NO: 3218)	AAGGGTTCTAACTGGGACTCT (SEQ ID NO: 74)	MQGTHWPPA (SEQ ID NO: 119) CAACAGGCCTAACAGTTTCCCTCTCACCT (SEQ ID NO: 120)
AA A20.2 NA	RSSQSLVYSDGDTYLN (SEQ ID NO: 4839) CGGGCGACTCAGGGCTTAGCAGCTG GTTAGCC (SEQ ID NO: 2526)	KVSNWDS (SEQ ID NO: 75) AACACATCCAGTTGCAAAGT (SEQ ID NO: 76)	MQGTHWPPA (SEQ ID NO: 119) CAACAGGCCTAACAGTTTCCCTCTCACCT (SEQ ID NO: 120)
AA	RASQGLSSWL (SEQ ID NO: 2627)	NTSSKQS (SEQ ID NO: 86)	QQANSEPLT (SEQ ID NO: 121) AAAGCATGGGATAAACAGCCTGAATGCTCAAGG GGTAT (SEQ ID NO: 126)
A21 NA	ACTGGGAGCTCCAACATTGGGC GGTTATGTTGTAACAT (SEQ ID NO: 40)	GTTAACAGCAATCGGCCCTCA (SEQ ID NO: 87)	KAWDNLSNAQGV (SEQ ID NO: 127) CAGCAATTATGCTCTCTCTCTCACCT (SEQ ID NO: 128)
AA	TGSSRNIGAGVVH (SEQ ID NO: 41)	GNSNRPS (SEQ ID NO: 88)	QQFYGPPLT (SEQ ID NO: 129)
A22 NA	AACTCCAGCCAGAGTTTATACAA CTCCAACATAAGAACTACTTGT (SEQ ID NO: 42)	TGGGCTCTACCCCTGAATCC (SEQ ID NO: 89)	
AA	KSSQSVLYNSNNNKNYL (SEQ ID NO: 43)	WASTRES (SEQ ID NO: 90)	

FIGURA 1E

λ_b	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A23 NA	TCTGGTCAATAATTGGGGATAAATT (SEQ ID NO: 44)	CAAGATAGCAAAGGCCCTCA (SEQ ID NO: 91)	CAGGGTGGACAGCCAGGGGGGTTA (SEQ ID NO: 130)
AA	SGDKLDRKFAF (SEQ ID NO: 45)	QDSKRPS (SEQ ID NO: 92)	QA WDSSEAGGV (SEQ ID NO: 131)
A24 NA	CAAGGGAGACAGCCTCAGAACGCTATCA (SEQ ID NO: 46)	GCTGAAAACAACCGGCCCTCA (SEQ ID NO: 93)	AATTATCGGGACAAACAGTGGTAACCATCTGGTG T (SEQ ID NO: 132)
AA	QGDSLRSYHAS (SEQ ID NO: 47)	GENNRPS (SEQ ID NO: 94)	NYRDNSGNHLY (SEQ ID NO: 133)
A25 NA	AAAGTCAGGCCAGAGTGTITATACAA CTCCAACATAAGAACTACTTAGCT (SEQ ID NO: 42)	TGAGCITCTACCCGGGAATCC (SEQ ID NO: 89)	CAGCAATTATGGTCCCTCTCTACIT (SEQ ID NO: 128)
AA	KSSQSVLYNNSNNKNTYLA (SEQ ID NO: 43)	WASTRES (SEQ ID NO: 90)	QQFYGPPLT (SEQ ID NO: 129)
A26 NA	TCTGGAGATAATAATTGGGGATAAATA TATTGCA (SEQ ID NO: 48)	CAAGATAAACAAAGGCCCTCA (SEQ ID NO: 63)	CAGGGTGGACAGCAGCACTGTGGTAT (SEQ ID NO: 130)
AA	SGDNLGDKYIC (SEQ ID NO: 49)	QDNKRPS (SEQ ID NO: 65)	QA WDSSTVY (SEQ ID NO: 107)
A27 NA	TCTGGAGATAATAATTGGGGAAAGCTA TGCTTGC (SEQ ID NO: 50)	CAAGATTACAAGGCCCTCA (SEQ ID NO: 95)	CAGGCCTGGACAGAAAGTACTGTACTAT (SEQ ID NO: 134)
AA	SGDKLDRSYYAC (SEQ ID NO: 51)	QDVKRPS (SEQ ID NO: 96)	QAWDRSSTVL (SEQ ID NO: 135)

FIGURA 1F

CDR PESADAS VARIABLES

Ab	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A1 NA (SEQ ID NO: 136)	AACTATGGCATGGCAC	GTTATAATGGTATGATGGAAAGTAA TAATACTATGCAGACTCCGTGA AGGGC (SEQ ID NO: 164)	CTAGTGGGAGCTACCAAACTACTACCGGTATGGACGTC (SEQ ID NO: 203)
AA (SEQ ID NO: 137)	NYGMH	VIVYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO: 165)	LYGATINYYGMDV (SEQ ID NO: 204)
A2 NA (SEQ ID NO: 138)	GATTITACCATGCAC	CITATACTTGGGGATGGTGGTAG CACATACTATGCAGACTCTGTGA AGGGC (SEQ ID NO: 166)	CCTTACTACTACTTACCGGTATGGACGTC (SEQ ID NO: 205)
AA (SEQ ID NO: 139)	DFTMH	LISWDGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 167)	PYYYFYGMDV (SEQ ID NO: 206)
A3 NA (SEQ ID NO: 140)	GACTACTATATGTAC	TGGATCAACCCTAACAGTGGTGG CACAAAACTATGTTACAGAAGTTTC AGGGC (SEQ ID NO: 168)	GATGGGGGTAGCAGTAACTGGCCCTCTTGGCTAC (SEQ ID NO: 207)
AA (SEQ ID NO: 141)	DYMY	WINTNSGGTNYVQKFOQ (SEQ ID NO: 169)	DGGSSGWPLFAY (SEQ ID NO: 208)
A4 NA (SEQ ID NO: 142)	GGCGACTTATGCAC	TGGATCAACCCTAACAGTGGTGG CACAAAACCATGCAACGGAAAGTTTC AGGGC (SEQ ID NO: 170)	GATAGGGGTACCAAGTGGCTGGCCACCTTGGACTAT (SEQ ID NO: 209)
AA (SEQ ID NO: 143)	GDYMH	WINTNSGGTNHARKFOQ (SEQ ID NO: 171)	DRGTSGWPLFDY (SEQ ID NO: 210)

FIGURA 2A

Ab		CDR 1	CDR 2	CDR 3
A5 NA	ACCTATGGCATGCAC (SEQ ID NO: 144)	GTTATATGGTATGGAAGTAA TAACACTATCGAAGACTCCGTGA AGGCC (SEQ ID NO: 172)	GCCCCCTCAGTGGGAGGCTAGTTCATGAAGCTTTGATATC (SEQ ID NO: 211)	
AA	TYGMH (SEQ ID NO: 145)	VIWYDGSMNKHYADSVKG (SEQ ID NO: 173)	APQWELVHEAFD (SEQ ID NO: 212)	
A6 NA	AGCTATGGCATTICAC (SEQ ID NO: 146)	GTTATATCATATGGTAAAGTTA TAAATACTATCGAAGACTCCGTGA AGGCC (SEQ ID NO: 174)	GCGGGAACCTCTGGAAACGACAGATTAAACTACTACTTCTACG ATATGGGACGTC (SEQ ID NO: 213)	
AA	SYGIH (SEQ ID NO: 147)	VISVDGSNKKYYADSVKG (SEQ ID NO: 175)	GDSWNDRNLYFYDMDV (SEQ ID NO: 214)	
A7 NA	AGTGGTGGTTACTACTG GAGC (SEQ ID NO: 148)	TTCATCCATTACAGTGGGACCAC CTACTACAACCGTCCCTCAAGA GT (SEQ ID NO: 176)	GAAGITGGCAGCTGTCGGITAACCTGGTTCGACCCC (SEQ ID NO: 215)	
AA	SGGYYWS (SEQ ID NO: 149)	FHTYSGTYYYNPSLKS (SEQ ID NO: 177)	EVGSSSGNWFDP (SEQ ID NO: 216)	
A8 NA	AGCTATGGCATTICAC (SEQ ID NO: 146)	GTTATATCATATGGTAAAGTTA TAAATACTATCGAAGACTCCGTGA AGGCC (SEQ ID NO: 178)	GCGGGAACCTCTGGAAACGACAGATTAAACTACTACTTCTACG ATATGGGACGTC (SEQ ID NO: 213)	
AA	SYGIH (SEQ ID NO: 147)	VISVDGSNKKYYADSVKG (SEQ ID NO: 179)	GDSWNDRNLYFYDMDV (SEQ ID NO: 214)	
A9 NA	AGCTATGGCATGCAC (SEQ ID NO: 150)	GTTATATGGTATGGAAGTAA TACATACTATCGAAGACTCCGTGA AGGCC (SEQ ID NO: 180)	GAAGGTGGGGCTATAGCAGTGGCTGGTACGGGGCCCTTG ACTAC (SEQ ID NO: 217)	
AA	SYGMH (SEQ ID NO: 151)	VIWYDGSMNTYYADSVKG (SEQ ID NO: 181)	EVRAYSSGWYAAF DY (SEQ ID NO: 218)	

FIGURA 2B

Ab	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A10 NA	AGTTATGGCATGCA C (SEQ ID NO: 152)	GTTATATGGTATGATGGAAGTAG TAATACTATGCAACTCCGTGA AGGGC (SEQ ID NO: 182)	GTAAGAAGTGGAGGCTACTACGAACAGTATTACTACCGTA TGGACGTC (SEQ ID NO: 219)
AA	SYGMH (SEQ ID NO: 151)	VIWYDGSSKYYADSVVK G (SEQ ID NO: 183)	VRSGSYYQQYYGMDV (SEQ ID NO: 220)
A11 NA	AGTTATGGCATGCA C (SEQ ID NO: 153)	TACATTAATGGTGTACTAGTAG CGTATACTACCGAGACTCTGTGA AGGGC (SEQ ID NO: 184)	AGTGGGATCTACTACCGACTACTACGGTATGGTACGCTC (SEQ ID NO: 221)
AA	SYSMN (SEQ ID NO: 154)	YISGRISSSVYYADSVVK G (SEQ ID NO: 185)	SGIYYDDYYGMDV (SEQ ID NO: 222)
A12 NA	AGCTATGGCATGCA C (SEQ ID NO: 150)	GTTATATGGTATGATGGAAGTAG TAATACTATGCAACTCCGTGA AGGGC (SEQ ID NO: 164)	GGGGCAGCAGCTGGCTATAGATTACTACTACTACCTACCGTA TGGACGTC (SEQ ID NO: 223)
AA	SYGMH (SEQ ID NO: 151)	VIWYDGSSKYYADSVVK G (SEQ ID NO: 165)	GAATAIDYYYSYGMDV (SEQ ID NO: 224)
A13 NA	AGCTATGGCATGCA C (SEQ ID NO: 150)	GTTATATGGTATGATGGAAGTAG TAATACTATGCAACTCCGTGA AGGGC (SEQ ID NO: 164)	GGGGGGGGTATACCGATAGCTGACTACTACTACCTACCGTA TGGACGTC (SEQ ID NO: 225)
AA	SYGMH (SEQ ID NO: 151)	VIWYDGSSKYYADSVVK G (SEQ ID NO: 165)	GGGIPVADYYGMDV (SEQ ID NO: 226)
A14 NA	AGCTATGGCATGCA C (SEQ ID NO: 150)	GTTATATGGTATGATGGAAGTAG TAATACTATGCAACTCCGTGA AGGGC (SEQ ID NO: 164)	GGGGGGGGTATACCGATAGCTGACTACTACTACCTACCGTA TGGACGTC (SEQ ID NO: 225)
AA	SYGMH (SEQ ID NO: 151)	VIWYDGSSKYYADSVVK G (SEQ ID NO: 165)	GGGIPVADYYGMDV (SEQ ID NO: 226)

FIGURA 2C

Ab	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A15 NA	AACTATGGCATGCAC (SEQ ID NO: 136)	GTTATATGGTGTGAAAGTAA TAATACTATGCCACTCCGTGA AGGGC (SEQ ID NO: 146)	GGGGGGGGTAYAGCAGTGGCTGACTACTACTTCTACCGTA TGGACGTC (SEQ ID NO: 227)
AA	NYGMH (SEQ ID NO: 137)	VIVWDGSNKKYADSVKG (SEQ ID NO: 187)	GGGIAVADYYFYGMDV (SEQ ID NO: 228)
A16 NA	AACTATGGCATGCAC (SEQ ID NO: 136)	GTTATATGGTGTGAAAGTAA TAATACTATGCCAGCTCCGTGA AGGGC (SEQ ID NO: 164)	GGGGGGGGTATAGCAGTGGCTGACTACTACTTCTACCGTA TGGACGTC (SEQ ID NO: 229)
AA	NYGMH (SEQ ID NO: 137)	VIVWDGSNKKYADSVKG (SEQ ID NO: 165)	GGGIAVADYYFYGMDV (SEQ ID NO: 230)
A17 NA	AGTTATGGCATGCAC (SEQ ID NO: 155)	GTTTATGGTGTGAAAGTAA TAAAAACCTATGCCAGACTCCGTGA AGGGC (SEQ ID NO: 188)	GATAGTACAACTATGCCCACTTTGACTAC (SEQ ID NO: 231)
AA	SYGML (SEQ ID NO: 156)	VLWFDSYKNYADSVKG (SEQ ID NO: 189)	DSTTMIAHFDY (SEQ ID NO: 232)
A18 NA	AACTATGGCATGCAC (SEQ ID NO: 136)	GTTATATGGTGTGAAAGTAA TAATACTATGCCAGACTCCGTGA AGGGC (SEQ ID NO: 164)	GGGGGGGGTATAGCAGTGGCTGACTACTACTTCTACCGTA TGGACGTC (SEQ ID NO: 229)
AA	NYGMH (SEQ ID NO: 137)	VIVWDGSNKKYADSVKG (SEQ ID NO: 165)	GGGIAVADYYFYGMDV (SEQ ID NO: 230)
A19 NA	AGCTATGGCATGCAC (SEQ ID NO: 150)	GTTATATGGTGTGAAAGTAA TAATACTATGCCAGACTCCGTGA AGGGC (SEQ ID NO: 164)	GGGGGGGGTATACCAGTAGCTGACTACTACTTCTACCGTA TGGACGTC (SEQ ID NO: 225)
AA	SYGML (SEQ ID NO: 151)	VIVWDGSNKKYADSVKG (SEQ ID NO: 165)	GGGIPVADYYFYGMDV (SEQ ID NO: 226)

FIGURA 2D

Ab	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A20 NA	AGCTATGGCATGCAC (SEQ ID NO: 150)	GTTATAATGGTATGGAAGTAA TAATAACTATGCCAGACTCCGTAA AGGGC (SEQ ID NO: 164)	GUCGGGGGTWACCAGTAGCTGACTACTACTACCGTA TGGAOCTC (SEQ ID NO: 215)
AA	SYGMH (SEQ ID NO: 151)	VIVYDGSNKKYYADSVKG (SEQ ID NO: 165)	GGGIPVADYYYYGMDV (SEQ ID NO: 226)
A21 NA	AGCTATGGCATGCAC (SEQ ID NO: 151)	GCAATTAGTGGIAAGTGGTGGAA GTACACACTACGGCAGACTCCGTG AAGGGC (SEQ ID NO: 190)	GATCTCAACTGGGGAGCTTITGATTC (SEQ ID NO: 233)
AA	SYAMS (SEQ ID NO: 158)	AISGGGGSTHYADSVKG (SEQ ID NO: 191)	DLNWGAFDI (SEQ ID NO: 234)
A22 NA	GGCTATGTCATGACT (SEQ ID NO: 159)	GGAAATTAGTGGTAGTGTTGGTAA GCACATACTACGGCAGACTDCGTG AAGGGC (SEQ ID NO: 192)	GGAGACAGACTCGAACACTACTCCGGTATGGACGTC (SEQ ID NO: 235)
AA	GYVMT (SEQ ID NO: 160)	GISGGGSIYYADSVKG (SEQ ID NO: 193)	QDSSNNYSQMDV (SEQ ID NO: 236)
A23 NA	GGCTACTATATGGCAC (SEQ ID NO: 161)	TGGATCAACCTAAACAAATGGTGG CACAAAACCTATGGACAGAGTTTC AGGGC (SEQ ID NO: 194)	GGGAACATGGAACGACATGCTTGTATTC (SEQ ID NO: 237)
AA	GYYMH (SEQ ID NO: 162)	WINPNNGGTYNGQKPG (SEQ ID NO: 195)	GNWNDDAFDI (SEQ ID NO: 238)
A24 NA	AGCTATGGCATGCAC (SEQ ID NO: 150)	GTTATAATGGTATGGAAGTAA TAATAACTATGCCAGACTCCGTAA AGGGC (SEQ ID NO: 196)	ATGGGGTTTACTATGGGTGGGAGGCGCTTACTACGGTA TGGACGTC (SEQ ID NO: 239)
AA	SYGMH (SEQ ID NO: 151)	VIVYDGSNKKYYADSVKG (SEQ ID NO: 197)	MGFTMVRGALYYGMDV (SEQ ID NO: 240)

FIGURA 2E

Ab	CDR 1		CDR 2		CDR 3	
	SEQ ID NO: 157)	(SEQ ID NO: 157)	GCTATTAGTCGTTAGTGTAC CACATACTACCGCAGACTCCGTGA AGGGC (SEQ ID NO: 198)	CCGAGATATTTGACTGGTTATTAGGGGAC (SEQ ID NO: 241)	RPYFDWLLGD (SEQ ID NO: 242)	GGGGCCCCACGAACTACCGGTGACTCTACTACGGTATGGC TC (SEQ ID NO: 241)
A4	SYAMS (SEQ ID NO: 158)	(SEQ ID NO: 199)	AISRGSGSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 199)	GTTAAATGGTATGAGGAAAGTA ATAAATACTATGGAGACTCCGTG AAGGGC (SEQ ID NO: 200)	LJSWDGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 167)	PYYYFYGMDV (SEQ ID NO: 206)
A4	DFTMH (SEQ ID NO: 163)	(SEQ ID NO: 163)	GCTATTAGTTATAGTGGGGTAG CACATACTACCGCAGGCTCCGTGA AGGGC (SEQ ID NO: 201)	GATCCGGGAGGCCGACTTGGTACTACGGTATGGC (SEQ ID NO: 244)	DREGATWYGMGV (SEQ ID NO: 245)	
A4	SYAMS (SEQ ID NO: 158)	(SEQ ID NO: 158)	AISYSGSGSTYYAGSVKG (SEQ ID NO: 202)			

FIGURA 2F