(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 711 554**

(51) Int. CI.:

C07K 16/24 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.05.2013 PCT/US2013/041928**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **28.11.2013 WO13177101**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.05.2013 E 13726375 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.12.2018 EP 2852615**

(54) Título: **Anticuerpos biespecíficos contra IL-17A/F IL-23 y sus usos**

(30) Prioridad:

22.05.2012 US 201261650286 P
14.03.2013 US 201361784600 P
15.03.2013 US 201361787890 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.05.2019

(73) Titular/es:

BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY (100.0%)
Route 206 and Province Line Road
Princeton, NJ 08543, US

(72) Inventor/es:

STEVENS, BRENDA L.;
WITTE, ALISON;
RIXON, MARK W.;
CARDARELLI, JOSEPHINE M.;
KEMPE, THOMAS D.;
PRESNELL, SCOTT R.;
SRINIVASAN, MOHAN;
WONG, SUSAN C.;
CHEN, GUODONG;
WEI, HUI;
KRYSTEK, STANLEY R.;
SCHNEEWEIS, LUMELLE A.;
SHEPPARD, PAUL O.;
CHAKRABORTY, INDRANI;
GAO, MIAN;
SHERIFF, STEVEN;
DITTO, NOAH;
HAMACHER, NELS B.;
EDWARDS, THOMAS;
ATKINS, KATERI y
ARAKAKI, TRACY

(74) Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

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

Anticuerpos biespecíficos contra IL-17A/F IL-23 y sus usos

Las citocinas son pequeñas proteínas solubles que median diversos efectos biológicos, lo que incluye la inducción de la proliferación, el desarrollo, la diferenciación y/o la migración de células inmunitarias, y la regulación del crecimiento y de la diferenciación de muchos tipos de células (véase, por ejemplo, Arai et al., *Annu. Rev. Biochem*. 59:783 (1990); Mosmann, *Curr. Opin. Immunol*. 3:311 (1991); Paul et al., *Cell*, 76:241 (1994)). Las funciones inmunitarias inducidas por citocina también pueden incluir una reacción inflamatoria, caracterizada por una acumulación sistémica o local de células inmunitarias. Si bien tienen efectos de protección del huésped, estas respuestas inmunitarias pueden producir consecuencias patológicas cuando la respuesta involucra inflamación excesiva y/o crónica, como en trastornos autoinmunitarios (tales como esclerosis múltiple) y cáncer/enfermedades neoplásicas (Oppenheim et al., ed., *Cytokine Reference*, Academic Press, San Diego, CA (2001); von Andrian et al., *New Engl. J. Med*., 343:1020 (2000); Davidson et al., *New Engl. J. Med*., 345:340 (2001); Lu et al., *Mol. Cancer Res.*, 4:221 (2006); Dalgleish et al., *Cancer Treat Res*., 130:1 (2006)).

IL-17A, IL-17F e IL-23 son citocinas involucradas en la inflamación. IL-17A induce la producción de citocinas inflamatorias, tales como IL-1β, TNF-α, IL-6 e IL-23, por medio de fibroblastos, monocitos y macrófagos sinoviales, y todos ellos promueven la inflamación y el desarrollo de Th17. IL-17A también induce varias quimiocinas, que incluyen CXCL-1, CXCL-2, CXCL-5, CXCL-8, CCL-2 y CCL-20, lo cual produce el reclutamiento de linfocitos T, linfocitos B, monocitos y neutrófilos. Lundy, S.K., *Arthritis Res. Ther.*, 9:202 (2007). IL-17F comparte la mayor homología (55 %) con IL-17A y también es una citocina proinflamatoria. IL-17A e IL-17F son producidas por linfocitos Th17, mientras que los otros miembros de la familia IL-17, IL-17B, IL-17C e IL-17D, son producidos por fuentes que no son linfocitos T. IL-17A e IL-17F pueden existir como homodímeros de IL-17A y homodímeros de IL-17F, o como heterodímeros de IL-17A/F. Liang, S.C. et al., *J. Immunol*., 179:7791-7799 (2007). IL-17A aumenta en el líquido sinovial y suero de la artritis reumatoide, y está presente en las áreas ricas en linfocitos T de la membrana sinovial. Shahrara S, *Arthritis Res. Ther.*, 10:R93 (2005). IL-17A también puede producir daño en los huesos y en los cartílagos. Será necesario un bloqueo eficaz de IL-17 para neutralizar los homodímeros de IL-17A, los homodímeros de IL-17F y los heterodímeros de IL-17A/F.

IL-23 es un heterodímero tipo 1, que comprende una subunidad α con núcleo helicoidal cuádruple de 19 kilodalton (kD) (IL-23p19), unido mediante un puente de disulfuro a una subunidad β distinta de 40 kD (IL-12p40). IL-23 es una citocina clave que conecta los brazos innatos y adaptativos de la respuesta inmunitaria; se produce en forma temprana en respuesta a la exposición a antígenos y es esencial para dirigir las respuestas inmunitarias locales tempranas. Asimismo, IL-23 cumple una función central en la activación de células NK, la mejora de la proliferación de linfocitos T y la regulación de la producción de anticuerpos. IL-23 también regula las citocinas proinflamatorias (por ejemplo, IFN-γ), que son importantes para la inmunidad mediada por células contra patógenos intracelulares. Informes recientes indican que, en los seres humanos, el aumento de la cantidad de IL-23 estuvo asociado a varias enfermedades autoinmunitarias, que incluyen artritis reumatoide (RA), borreliosis de Lyme, enfermedad intestinal inflamatoria (IBD), enfermedad de Crohn (CD), psoriasis y esclerosis múltiple (MS). Los ratones con IL-23p19 inactivada fueron resistentes a la encefalomielitis autoinmunitaria (EAE), la artritis inducida por colágeno (CIA) y la inducción autoinmunitaria del sistema nervioso central. IL-23 no es esencial para el desarrollo de linfocitos Th17 humanos, pero parece ser necesaria para su supervivencia y/o expansión. Paradowska-Gorycka, A., *Scandinavian Journal of Immunology*, 71:134-145 (2010). Los estudios genéticos revelaron una asociación entre genes receptores de IL-23 y la susceptibilidad a varias enfermedades autoinmunitarias, que incluyen CD, RA y oftalmopatía de Graves. El eje de IL-23-Th17 es esencial para el desarrollo de las enfermedades autoinmunitarias. Leng et al., *Archives of Medical Research*, 41:221-225 (2010). Mabry R. et al., Protein Engineering, Design and Selection, vol. 23 (3), marzo de 2010, páginas 115-127, describe la ingeniería de anticuerpos biespecíficos estables dirigidos a IL-17A e IL-23.

Las actividades demostradas de IL-17A, IL-17F e IL-23p19 en la mediación y promoción de diversas enfermedades autoinmunitarias indican el potencial clínico y la necesidad de obtener moléculas que puedan antagonizar estas diana. Esta invención, como se indica en la presente en las reivindicaciones, satisface estas y otras necesidades.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es una ilustración esquemática de un anticuerpo entero y sus componentes modulares.

La Figura 2 representa un modelo de un anticuerpo biespecífico denominado biAbFabL, que contiene un anticuerpo entero con una unidad Fab del terminal C del segundo brazo del anticuerpo biespecífico unido mediante un ligador, y que utiliza una cadena ligera común.

La Figura 3 representa un modelo de un anticuerpo biespecífico denominado taFab, que contiene un anticuerpo entero con una unidad Fab del terminal N del segundo brazo del anticuerpo biespecífico unido mediante un ligador. Como sucede con la porción de la cadena pesada, hay dos cadenas ligeras para cada brazo del anticuerpo biespecífico unido mediante un ligador.

La Figura 4 representa un modelo de un anticuerpo biespecífico denominado Fc heterodimérico, que se asemeja a un anticuerpo tradicional y, sin embargo, contiene dos cadenas pesadas diferentes que se asocian mediante de una asociación de complementariedad electroestática en la región C_{H3}. El Fc heterodimérico utiliza una cadena

ligera común.

La Figura 5 representa un modelo de un anticuerpo biespecífico denominado VCVFc, que contiene un anticuerpo entero con una unidad Fv del segundo brazo del anticuerpo biespecífico insertado entre la región Fab y la bisagra mediante ligadores.

La Figura 6 representa un modelo de un anticuerpo biespecífico denominado VCDFc, que contiene un anticuerpo entero con un anticuerpo de dominio simple para el segundo brazo del anticuerpo biespecífico insertado entre la región Fab y la bisagra mediante ligadores.

La Figura 7 ilustra los resultados de ELISA que muestran una fijación fuerte del anticuerpo a IL-23p19 y la ausencia de reactividad cruzada con IL-12.

La Figura 8 ilustra la neutralización potente de la señalización de IL-23 observada en el ensayo kit225.

La Figura 9 muestra los resultados de Biacore de 7B7,STELARA® (ustekinumab, un anticuerpo anti-IL-23p40) y la capacidad del receptor de IL-23 humana de fijarse a los distintos mutantes múltiples (*shaved*) de alanina IL-23p19, L-23p19 de tipo silvestre y de tipo silvestre purificado (control positivo) y un control negativo. La fijación de 7B7 mAb se muestra en la columna izquierda, STELARA® se muestra en la columna central y la fijación de hIL-23R-Fc se muestra en la columna derecha. Los cuatro mutantes indicados con estrella se seleccionaron para el aumento, a fin de confirmar estos resultados.

La Figura 10 muestra un análisis de cinética Biacore de la fijación del anticuerpo IL-23p19 a los mutantes de alanina IL-23.

La Figura 11 ilustra esquemáticamente el proceso que se usa para identificar y seleccionar el anticuerpo 7B7 (anti-IL-23p19).

La Figura 12 ilustra esquemáticamente las calificaciones clínicas de la enfermedad con el tiempo en el modelo EAE de tití.

La Figura 13 ilustra esquemáticamente la calificación de la lesión según la IRM en el modelo EAE de tití.

La Figura 14 ilustra esquemáticamente la calificación del nervio óptico según la IRM en el modelo EAE de tití.

La Figura 15 muestra el revestimiento de las cuatro estructuras de Fab con IL-17A o IL-17F, alineadas mediante la interleucina.

La Figura 16 muestra gráficamente la actividad funcional celular de los mutantes IL-17A.

La Figura 17 muestra gráficamente la actividad funcional celular de los mutantes IL-17F.

La Figura 18 es un revestimiento esquemático de los mutantes 9nM IL-17A que se fijan a BiAb3 y demuestran así la tasa de activación acelerada de los mutantes que contienen la mutación Y108A y combinaciones de esta

La Figura 19 muestra el análisis energético computacional de los mutantes IL-17A que se fijan a BiAb3.

Descripción detallada de la invención

En una forma de realización, la presente invención provee anticuerpos biespecíficos que comprenden una entidad de fijación a IL-17A/F que se fija a IL-17A y a IL-17F, y una entidad de fijación a IL-23 que se fija a IL-23 mediante p19 como se define en las reivindicaciones. La invención también incluye ácidos nucleicos aislados como se define en las reivindicaciones que codifican las cadenas pesadas y las cadenas ligeras de los anticuerpos biespecíficos de la invención, así como vectores que comprenden los ácidos nucleicos, células huésped que comprenden los vectores, y métodos para obtener y usar los anticuerpos biespecíficos como se defin en las reivindicaciones.

En otras formas de realización, la presente invención provee composiciones que comprenden los anticuerpos biespecíficos y kits que comprenden los anticuerpos biespecíficos como se define en las reivindicaciones. En el presente documento también se divulgan como artículos de fabricación que comprenden los anticuerpos biespecíficos.

Los anticuerpos biespecíficos de la presente invención son útiles para la inhibición de citocinas proinflamatorias, por ejemplo, IL-17A, IL-17F e IL-23p19. Los anticuerpos se pueden usar para reducir, limitar, neutralizar o bloquear los efectos proinflamatorios del homodímero de IL-17A, del homodímero de IL-17F o del heterodímero de IL-17A/F. Asimismo, los anticuerpos se pueden usar para reducir, limitar, neutralizar o bloquear los efectos procancerosos del homodímero de IL-17A, del homodímero de IL-17F o del heterodímero de IL-17A/F. En esos casos, la porción anti-IL-23p19 del anticuerpo se usa para reducir, limitar, neutralizar o bloquear la producción de nuevos linfocitos T que producirían IL-17A y/o IL-17F, incluidos los homodímeros y heterodímeros. Los anticuerpos biespecíficos descritos en la presente se pueden usar para tratar trastornos inflamatorios y enfermedades autoinmunitarias, tales como esclerosis múltiple, (por ejemplo, esclerosis múltiple con recidiva-remisión, esclerosis múltiple progresiva secundaria, esclerosis múltiple progresiva primaria y esclerosis múltiple progresiva con recidiva), enfermedad intestinal inflamatoria, psoriasis, esclerosis sistémica, lupus eritematoso sistémico, vasculitis asociada a anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos (ANCA) (AAV) y arteritis de células gigantes. Los anticuerpos biespecíficos descritos en la presente también se pueden usar para tratar el cáncer, lo que incluye angiogénesis. Por ejemplo, los anticuerpos biespecíficos que se describen en la presente se pueden usar para tratar la enfermedad osteolítica inducida por mieloma múltiple (Sotomayor, E.M., Blood, 116(18):3380-3382 (2010)).

En la siguiente descripción, se usan ampliamente varios términos. Las siguientes definiciones se proporcionan para facilitar la comprensión de la invención.

A menos que se especifique lo contrario, "un", "una", "el/la" y "al menos un/una" se usan de manera indistinta y significan uno o más de uno.

Los “anticuerpos" (Ab) y las "inmunoglobulinas" (Ig) son glucoproteínas que tienen las mismas características estructurales. Mientras que los anticuerpos exhiben especificidad de fijación a un antígeno específico, las inmunoglobulinas incluyen anticuerpos y otras moléculas de tipo anticuerpo que carecen de especificidad antigénica. Los polipéptidos de esta última clase son producidos, por ejemplo, en niveles bajos por el sistema linfático y en niveles más altos por mielomas. Por ello, como se usa en la presente, los términos "anticuerpo" o "péptido de anticuerpo" se refieren a un anticuerpo intacto o a un fragmento de fijación al antígeno de este que compite con el anticuerpo intacto por la fijación específica e incluye anticuerpos quiméricos, humanizados, totalmente humanos y biespecíficos. En ciertas formas de realización, los fragmentos de fijación al antígeno son producidos, por ejemplo, por técnicas de ADN recombinante. En formas de realización adicionales, los fragmentos de fijación al antígeno son producidos por escisión enzimática o química de anticuerpos intactos. Los fragmentos de fijación al antígeno incluyen, entre otros, Fab, Fab', $F(ab)^2$, $F(ab')^2$, Fv y anticuerpos monocatenarios.

Como se usa en la presente, la expresión “anticuerpo aislado” se refiere a un anticuerpo que fue identificado y separado, y/o recuperado de un componente de su entorno natural. Los componentes contaminantes de su entorno natural son materiales que interferirían con usos terapéuticos o de diagnóstico para el anticuerpo, y pueden incluir enzimas, hormonas y otros solutos proteináceos o no proteináceos. En formas de realización preferidas, el anticuerpo se purificará (1) hasta obtener más de 95 % en peso de anticuerpo según se determina mediante el método de Lowry y, con máxima preferencia, más de 99 % en peso, (2) en la medida suficiente para obtener al menos 15 residuos de la secuencia de aminoácidos interna o del terminal N mediante el uso de un secuenciador de taza giratoria, o (3) hasta alcanzar homogeneidad mediante SDS-PAGE en condiciones reductoras o no reductoras usando azul de Coomassie o, preferentemente, tinción de plata. El anticuerpo aislado incluye el anticuerpo *in situ* dentro de las células recombinantes, ya que al menos un componente del entorno natural del anticuerpo no estará presente. Sin embargo, en general, el anticuerpo aislado se puede preparar mediante al menos una etapa de purificación.

El término "agonista" se refiere a cualquier compuesto, lo que incluye proteína, polipéptido, péptido, anticuerpo, fragmento de anticuerpo, molécula grande o molécula pequeña (de menos de 10 kD), que aumenta la actividad, la activación o la función de otra molécula.

El término "antagonista" se refiere a cualquier compuesto, lo que incluye proteína, polipéptido, péptido, anticuerpo, fragmento de anticuerpo, molécula grande o molécula pequeña (de menos de 10 kD), que disminuye la actividad, la activación o la función de otra molécula.

La expresión "fijación de un polipéptido " incluye, entre otras, fijación del polipéptido ligando de la presente divulgación a un receptor; la fijación de un polipéptido receptor de la presente divulgación a un ligando; la fijación de un anticuerpo de la presente divulgación a un antígeno o epítopo; la fijación de un antígeno o epítopo de la presente divulgación a un anticuerpo; la fijación de un anticuerpo de la presente divulgación a un anticuerpo antiidiotípico; la fijación de un anticuerpo antiidiotípico de la presente divulgación a un ligando; la fijación de un anticuerpo antiidiotípico de la presente divulgación a un receptor; la fijación de a un anticuerpo anti-antiidiotípico de la presente divulgación a un ligando, receptor o anticuerpo, etc.

Un anticuerpo "biespecífico" o "bifuncional" es un anticuerpo híbrido que tiene dos pares de cadenas pesadas/livianas diferentes y dos sitios de fijación diferentes. Los anticuerpos biespecíficos se pueden producir por varios métodos que incluyen, entre otros, fusión de hibridomas o fijación de fragmentos Fab'. Véase, por ejemplo, Songsivilai et al., *Clin. Exp. Immunol.*, 79:315-321 (1990); Kostelny et al., *J. Immunol.*, 148:1547-1553 (1992).

Como se usa en la presente, el término "epítopo" se refiere a la porción de un antígeno al cual se fija específicamente un anticuerpo. Por ello, el término “epítopo” incluye cualquier determinante de proteína capaz de fijarse específicamente a un receptor de linfocitos T o inmunoglobulinas. En general, los determinantes epitópicos consisten en agrupaciones de superficies químicamente activas de moléculas, tales como cadenas laterales de azúcar o aminoácidos y, en general, tienen características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas. Más específicamente, como se usan en la presente, las expresiones “epítopo de IL-17”, “epítopo de IL-23” y/o “epítopo de IL-23/p19” se refieren a una porción del polipéptido correspondiente que tiene actividad antigénica o inmunogénica en un animal, preferentemente, en un mamífero y, con máxima preferencia, en un ratón o ser humano. Un epítopo que tiene actividad inmunogénica es una porción de, por ejemplo, un polipéptido IL-17A, IL-17F o IL-23/p19 que provoca la respuesta de un anticuerpo en un animal. Un epítopo que tiene actividad antigénica es una porción de, por ejemplo, un polipéptido IL-17A, IL-17F o IL-23/p19 al que se fija inmunoespecíficamente un anticuerpo, según se determina por cualquier método conocido en el estado de la técnica, por ejemplo, mediante inmunoensayos, digestión de proteasa, cristalografía o intercambio H/D. No es necesario que los epítopos antigénicos sean inmunogénicos. Estos epítopos pueden ser lineales por naturaleza o pueden ser un epítopo discontinuo. Por ello, como se usa en la presente, la expresión "epítopo conformacional" se refiere a un epítopo discontinuo formado por una relación espacial entre los aminoácidos de un antígeno distinto de una serie de aminoácidos continua.

Como se usa en la presente, el término "inmunoglobulina" se refiere a una proteína que consiste en uno o más polipéptidos sustancialmente codificados por genes de inmunoglobulina. Una forma de inmunoglobulina constituye la unidad estructural básica de un anticuerpo. Esta forma es un tetrámero y consiste en dos pares idénticos de cadenas de inmunoglobulina, donde cada par tiene una cadena ligera y una cadena pesada. En cada par, las regiones variables de la cadena ligera y la cadena pesada son conjuntamente responsables de la fijación al antígeno, y las regiones constantes son responsables de las funciones efectoras del anticuerpo.

Las "cadenas ligeras" de inmunoglobulina de longitud completa (alrededor de 25 Kd o alrededor de 214 aminoácidos) son codificadas por un gen de la región variable en el terminal NH2 (alrededor de 110 aminoácidos) y un gen kappa o lambda de la región constante en el terminal COOH-. Las "cadenas pesadas" de inmunoglobulina de longitud completa (alrededor de 50 Kd o alrededor de 446 aminoácidos) son codificadas de manera similar mediante un gen de la región variable (alrededor de 116 aminoácidos) y uno de los otros genes de la región constante antes mencionados (alrededor de 330 aminoácidos). Las cadenas pesadas se clasifican en gamma, mu, alfa, delta o épsilon, y definen el isotipo del anticuerpo como IgG (tal como IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4), IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente. Dentro de las cadenas ligeras y pesadas, las regiones variables y constantes están unidas por una región "J" de alrededor de 12 aminoácidos o más, y la cadena pesada también incluye una región "D" de alrededor de 10 aminoácidos más. (Véase, en general, Fundamental Immunology (Paul, W., ed., 2.ª edición, Raven Press, N.Y., (1989)), capítulo 7 (que se incorpora por referencia en su totalidad para todos los fines).

Una región variable de la cadena ligera o pesada de inmunoglobulina consiste en una región "marco" interrumpida por tres regiones hipervariables. Por ello, la expresión "región hipervariable" se refiere a los residuos de aminoácidos de un anticuerpo que son responsables de la fijación al antígeno. La región hipervariable comprende residuos de aminoácidos de una "región determinante de la complementariedad" o "CDR" (Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5.ª edición, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)) y/o los residuos de un "bucle hipervariable" (Chothia et al., *J. Mol. Biol*. 196: 901-917) (1987)). Los residuos de la "región marco" o "FR" son los residuos de dominios variables distintos de los residuos de la región hipervariable definidos en la presente. Las secuencias de las regiones marco de diferentes cadenas ligeras o pesadas son relativamente conservadas dentro de una especie. Por ello, una "región marco humana" es una región marco que es sustancialmente idéntica (alrededor de 85 % o más, generalmente 90-95 % o más) a la región marco de una inmunoglobulina humana natural. La región marco de un anticuerpo, que es la combinación de regiones marco de las cadenas ligeras y pesadas constituyentes, sirve para posicionar y alinear las CDR. Las CDR son las principales responsables de la fijación de un antígeno al epítopo. En consecuencia, el término inmunoglobulina "humanizada" se refiere a una inmunoglobulina que comprende una región marco humana y una o más CDR de una inmunoglobulina no humana (generalmente, de rata o ratón). La inmunoglobulina no humana que proporciona las CDR se denomina "donante", y la inmunoglobulina humana que proporciona el marco se denomina "aceptora". No es necesario que haya regiones constantes, pero si las hubiera, deben ser sustancialmente idénticas a las regiones constantes de la inmunoglobulina humana, es decir, al menos alrededor de 85-90 %, preferentemente, alrededor de 95 % o más idénticas. Por lo tanto, todas las partes de una inmunoglobulina humanizada, excepto posiblemente las CDR, son sustancialmente idénticas a las partes correspondientes de las secuencias de inmunoglobulina humana natural. Asimismo, uno o más residuos en la región marco humana pueden retromutar a la secuencia parental para retener una afinidad y una especificidad de fijación al antígeno óptimas. De esta manera, ciertos residuos marco del anticuerpo parental no humano se retienen en el anticuerpo humanizado, a fin de retener las propiedades de fijación del anticuerpo parental a la vez que se minimiza su inmunogenicidad. Como se usa en la presente, la expresión “región marco humana” incluye regiones con esas retromutaciones. Un "anticuerpo humanizado" es un anticuerpo que comprende una inmunoglobulina de cadena ligera humanizada y de cadena pesada humanizada. Por ejemplo, un anticuerpo humanizado no abarcaría un anticuerpo quimérico típico como se definió anteriormente, por ejemplo, porque la totalidad de la región variable de un anticuerpo quimérico es no humana.

El término inmunoglobulina "humanizada" se refiere a una inmunoglobulina que comprende una región marco humana y una o más CDR de una inmunoglobulina no humana, por ejemplo, de ratón, rata o conejo. La inmunoglobulina no humana que proporciona las CDR se denomina "donante", y la inmunoglobulina humana que proporciona el marco se denomina "aceptora". No es necesario que haya regiones constantes, pero si las hubiera, deben ser sustancialmente idénticas a las regiones constantes de la inmunoglobulina humana, es decir, al menos alrededor de 85-90 %, preferentemente, alrededor de 95 % o más idénticas. Por lo tanto, todas las partes de una inmunoglobulina humanizada, excepto posiblemente las CDR y algunos residuos de aminoácidos retromutados en la región marco (por ejemplo, 1-15 residuos), son sustancialmente idénticas a las partes correspondientes de las secuencias de inmunoglobulina humana natural. Un "anticuerpo humanizado" es un anticuerpo que comprende una inmunoglobulina de cadena ligera humanizada y de cadena pesada humanizada. Por ejemplo, un anticuerpo humanizado no abarcaría un anticuerpo quimérico típico como se definió anteriormente, por ejemplo, porque la totalidad de la región variable de un anticuerpo quimérico es no humana.

Como se usa en la presente, la expresión "anticuerpo humano” incluye un anticuerpo que tiene una secuencia de aminoácidos de una inmunoglobulina humana e incluye anticuerpos aislados de colecciones de inmunoglobulinas humanas o de animales transgénicos para una o más inmunoglobulinas humanas y que no expresan inmunoglobulinas endógenas, como describen, por ejemplo, Kucherlapati et al. en la patente estadounidense N.° 5.939.598.

La expresión "anticuerpos genéticamente alterados" significa anticuerpos en donde la secuencia de aminoácidos varió de una secuencia de un anticuerpo nativo. Debido a la importancia de las técnicas de ADN recombinante en la generación de anticuerpos, no es necesario limitarse a las secuencias de aminoácidos encontradas en los anticuerpos naturales; los anticuerpos se pueden rediseñar para obtener las características deseadas. Las posibles variaciones son muchas y varían desde cambiar solo uno o pocos aminoácidos hasta rediseñar totalmente, por ejemplo, la región variable y/o constante. Los cambios en la región constante se realizarán, en general, a fin de mejorar o alterar las características, tal como la fijación al complemento, interacción con membranas y demás funciones efectoras. Los cambios en la región variable se realizarán a fin de mejorar las características de fijación al antígeno.

Un "fragmento Fab" está compuesto por una cadena ligera y las regiones variables y C_{H1} de una cadena pesada. La cadena pesada de una molécula Fab no puede formar un puente de disulfuro con otra molécula de la cadena pesada.

Un "fragmento Fab'" contiene una cadena ligera y una cadena pesada que contiene más de la región constante, entre los dominios C_{H1} y C_{H2}, de modo que se puede formar un puente de disulfuro intercatenario entre dos cadenas pesadas para formar una molécula $F(ab')_2$.

Un "fragmento $F(ab')_2$" contiene dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas que contienen una porción de la región constante entre los dominios C_{H1} y C_{H2}, de modo que se puede formar un puente de disulfuro intercatenario entre dos cadenas pesadas.

Un “fragmento Fv” contiene las regiones variables de la cadena pesada y la cadena ligera, pero carece de las regiones constantes.

Un “anticuerpo de dominio simple” es un fragmento de anticuerpo que consiste en una unidad Fv de dominio simple, por ejemplo, V_H o V_L. Como un anticuerpo entero, es capaz de fijarse selectivamente a un antígeno específico. Con un peso molecular de tan solo 12–15 kDa, los anticuerpos de dominio simple son mucho más pequeños que los anticuerpos comunes (150–160 kDa), que están compuestos por dos cadenas pesadas de proteínas y dos cadenas ligeras, e incluso más pequeños que los fragmentos Fab (~50 kDa, una cadena ligera y media cadena pesada) y fragmentos variables monocatenarios (~25 kDa, dos dominios variables, uno de una cadena ligera y uno de una cadena pesada). Los primeros anticuerpos de dominio simple fueron modificados por ingeniería genética de anticuerpos de cadena pesada hallados en camélidos. Aunque actualmente la mayoría de las investigaciones sobre anticuerpos de dominio simple se basan en dominios variables de la cadena pesada, también se ha demostrado que los dominios variables de la cadena ligera y los nanocuerpos derivados de las cadenas ligeras se fijan específicamente a epítopos diana.

Como se usa en la presente, la expresión "anticuerpo monoclonal", o los términos "mAb", "MAb", "Mab" o "mab", no se limitan a anticuerpos producidos mediante tecnología de hibridoma. La expresión "anticuerpo monoclonal", o los términos "mAb", "MAb", "Mab" o "mab", se refieren a un anticuerpo que deriva de un único clon, lo que incluye cualquier clon eucariótico, procariótico o de fago, y no al método mediante el cual se produce.

Como se usa en la presente, “ácido nucleico” o “molécula de ácido nucleico” se refieren a polinucleótidos, tales como ácido desoxirribonucleico (ADN) o ácido ribonucleico (ARN), oligonucleótidos, fragmentos generados por la reacción en cadena de polimerasa (PCR) y fragmentos generados por cualquier ligadura, fragmentación, acción de endonucleasa y acción de exonucleasa. Las moléculas de ácido nucleico pueden estar compuestas por monómeros que son nucleótidos naturales (tales como ADN y ARN), o análogos de nucleótidos naturales (por ejemplo, formas α-enantioméricas de nucleótidos naturales), o una combinación de ambos. Los nucleótidos modificados pueden tener alteraciones en las porciones de azúcar y/o en las porciones básicas de pirimidina o purina. Las modificaciones de azúcares incluyen, por ejemplo, el reemplazo de uno o más grupos hidroxilo por halógenos, grupos alquilo, aminas y grupos azido, o los azúcares se pueden funcionalizar como éteres o ésteres. Asimismo, la porción entera de azúcar se puede reemplazar por estructuras estérica y electrónicamente similares, tales como análogos de azúcares carbocíclicos y aza-azúcares. Algunos ejemplos de modificaciones en una porción básica incluyen purinas y pirimidinas alquiladas, purinas o pirimidinas aciladas u otros sustitutos heterocíclicos conocidos. Los monómeros de ácido nucleico pueden estar ligados mediante enlaces de fosfodiéster o análogos de esos enlaces. Los análogos de los enlaces de fosfodiéster incluyen fosforotioato, fosforoditioato, fosforoselenoato, fosforodiselenoato, fosforoanilotioato, fosforanilidato, fosforamidato y similares. La expresión “molécula de ácido nucleico” también incluye los denominados “ácidos nucleicos de péptidos”, que comprenden bases de ácidos nucleicos naturales o modificados unidas a una estructura principal de poliamida. Los ácidos nucleicos pueden ser monocatenarios o bicatenarios.

La expresión “complemento de una molécula de ácido nucleico” se refiere a una molécula de ácido nucleico que tiene una secuencia de nucleótidos complementaria y una orientación inversa, en comparación con una secuencia de nucleótidos de referencia.

La expresión “secuencia de nucleótidos degenerada” indica una secuencia de nucleótidos que incluye uno o más codones degenerados, en comparación con una molécula de ácido nucleico de referencia que codifica un polipéptido. Los codones degenerados contienen diferentes tripletes de nucleótidos, pero codifican el mismo residuo de aminoácido (es decir, cada uno de los tripletes GAU y GAC codifica Asp).

Una “molécula de ácido nucleico aislada” es una molécula de ácido nucleico que no está integrada en el ADN genómico de un organismo. Por ejemplo, una molécula de ADN que codifica un factor de crecimiento que se separó del ADN genómico de una célula es una molécula de ADN aislada. Otro ejemplo de una molécula de ácido nucleico aislada es una molécula de ácido nucleico sintetizada químicamente, que no está integrada en el genoma de un organismo. Una molécula de ácido nucleico que se aisló de una especie particular es más pequeña que la molécula de ADN completa de un cromosoma de esa especie.

Un “constructo de molécula de ácido nucleico” es una molécula de ácido nucleico, ya sea monocatenaria o bicatenaria, que fue modificada mediante intervención humana para que contenga segmentos de ácido nucleico combinados y yuxtapuestos de una manera que no existe en la naturaleza.

“ADN complementario (cADN)” es una molécula de ADN monocatenaria que se forma de un molde de mARN mediante la enzima transcriptasa inversa. En general, se usa un cebador complementario de las porciones de mARN para la iniciación de la transcripción inversa. Las personas del oficio de nivel medio también usan el término “cADN” para referirse a una molécula de ADN bicatenaria que consiste en la molécula de ADN monocatenaria y su cadena de ADN complementaria. El término “cADN” también se refiere a un clon de una molécula de cADN sintetizada de un molde de ARN.

Un “promotor” es una secuencia de nucleótidos que dirige la transcripción de un gen estructural. En general, un promotor está ubicado en la región 5' no codificante de un gen, cerca del sitio de inicio de la transcripción de un gen estructural. En general, los elementos de la secuencia dentro de los promotores que participan en la iniciación de la transcripción se caracterizan por secuencias consenso de nucleótidos. Estos elementos promotores incluyen los sitios de fijación de la ARN polimerasa, secuencias TATA, secuencias CAAT, elementos específicos de la diferenciación (DSE; McGehee *et al.*, Mol. *Endocrinol.*, 7:551 (1993)), elementos de respuesta a AMP cíclico (CRE), elementos de respuesta al suero (SRE; Treisman, *Seminars in Cancer Biol.*, 1:47 (1990)), elementos de respuesta a los glucocorticoides (GRE) y sitios de fijación de otros factores de transcripción, tales como CRE/ATF (O'Reilly et al., *J. Biol. Chem.*, 267:19938 (1992)), AP2 (Ye et al., *J. Biol. Chem.*, 269:25728 (1994)), SP1, proteína de fijación a los elementos de respuesta de cAMP (CREB; Loeken, *Gene Expr.*, 3:253 (1993)) y factores de octámeros (véase, en general, Watson et al., ed., *Molecular Biology of the Gene*, 4.ª edición, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. (1987) y Lemaigre et al., *Biochem. J.*, 303:1 (1994)). Si el promotor es un promotor inducible, la velocidad de transcripción aumenta en respuesta a un agente de inducción. Por el contrario, la velocidad de transcripción no es regulada por un agente de inducción si el promotor es un promotor constitutivo. También se conocen los promotores reprimibles.

Un “elemento regulador” es una secuencia de nucleótidos que modula la actividad de un promotor de núcleo. Por ejemplo, un elemento regulador puede contener una secuencia de nucleótidos que se fija a factores celulares, lo cual permite la transcripción exclusiva o preferentemente en células, tejidos u organelas particulares. Estos tipos de elementos reguladores se asocian normalmente a genes que se expresan de manera “específica de célula”, “específica de tejido” o “específica de organela”.

Un “potenciador” es un tipo de elemento regulador que puede aumentar la eficacia de la transcripción, independientemente de la distancia u orientación del potenciador con respecto al sitio de inicio de la transcripción.

“ADN heterólogo” se refiere a una molécula de ADN, o a una población de moléculas de ADN, que no existe naturalmente en una célula huésped determinada. Las moléculas de ADN heterólogas con respecto a una célula huésped particular pueden contener ADN derivado de la especie celular huésped (es decir, ADN endógeno) en la medida en que ese ADN huésped se combine con ADN no huésped (es decir, ADN exógeno). Por ejemplo, se considera que una molécula de ADN que contiene un segmento de ADN no huésped que codifica un polipéptido ligado operativamente a un segmento de ADN huésped que comprende un promotor de la transcripción es una molécula de ADN heteróloga. Por el contrario, una molécula de ADN heteróloga puede comprender un gen endógeno ligado operativamente a un promotor exógeno. A modo de ejemplo, se considera que una molécula de ADN que comprende un gen derivado de una célula de tipo silvestre es una molécula de ADN heteróloga si esa molécula de ADN se introduce en una célula mutante que carece del gen de tipo silvestre.

Un “vector de expresión” es una molécula de ácido nucleico que codifica un gen que se expresa en una célula huésped. Generalmente, un vector de expresión comprende un promotor de la transcripción, un gen y un terminador de la transcripción. En general, la expresión del gen se coloca bajo el control de un promotor, y se dice que ese gen está “ligado operativamente” al promotor. De manera similar, un elemento regulador y un promotor de núcleo están ligados operativamente si el elemento regulador modula la actividad del promotor de núcleo.

Un “huésped recombinante" es una célula que contiene una molécula de ácido nucleico heteróloga, tal como un vector de clonación o un vector de expresión. En el presente contexto, un ejemplo de un huésped recombinante es una célula que produce un antagonista de la presente divulgación de un vector de expresión. Por el contrario, el antagonista puede ser producido por una célula que es una “fuente natural” del antagonista y que carece de un vector de expresión.

Las expresiones “terminal amino” y “terminal carboxilo” se usan para indicar posiciones dentro de los polipéptidos. En la medida en que lo permita el contexto, estos términos se usan con referencia a una secuencia o porción particulares de un polipéptido para indicar proximidad o posición relativa. Por ejemplo, una cierta secuencia ubicada en el terminal carboxilo con respecto a una secuencia de referencia en un polipéptido se ubica cerca del terminal carboxilo de la secuencia de referencia, pero no está necesariamente en el terminal carboxilo del polipéptido completo.

Una “proteína de fusión” es una proteína híbrida expresada por una molécula de ácido nucleico que comprende secuencias de nucleótidos de al menos dos genes. Por ejemplo, una proteína de fusión puede comprender al menos parte de un polipéptido IL-17RA fusionado con un polipéptido que se fija a una matriz de afinidad. Esa proteína de fusión provee un medio para aislar grandes cantidades de IL-17A usado cromatografía por afinidad.

El término “receptor” indica una proteína asociada a una célula, que se fija a una molécula bioactiva denominada “ligando”. Esta interacción media el efecto del ligando en la célula. Los receptores pueden estar fijados a la membrana, pueden ser citosólicos o nucleares; monoméricos (por ejemplo, receptor de la hormona estimulante de la tiroides, receptor beta-adrenérgico) o multiméricos (por ejemplo, receptor de PDGF, receptor de la hormona del crecimiento, receptor de IL-3, receptor de GM-CSF, receptor de G-CSF, receptor de eritropoyetina y receptor de IL-6). Los receptores fijados a la membrana se caracterizan por una estructura multidominio que comprende un dominio de fijación al ligando extracelular y un dominio efector intracelular que generalmente participa en la transducción de la señal. En ciertos receptores fijados a la membrana, el dominio de fijación al ligando extracelular y el dominio efector intracelular se ubican en polipéptidos separados que comprenden el receptor funcional completo.

En general, la fijación del ligando al receptor da como resultado un cambio conformacional en el receptor, lo que causa una interacción entre el dominio efector y otras moléculas en la célula lo cual, a su vez, provoca la alteración del metabolismo de la célula. Los eventos metabólicos generalmente ligados a interacciones receptor-ligando incluyen transcripción génica, fosforilación, desfosforilación, aumento de la producción de AMP cíclico, movilización del calcio celular, movilización de lípidos de la membrana, adhesión celular, hidrólisis de lípidos de inositol e hidrólisis de fosfolípidos.

El término “expresión” se refiere a la biosíntesis de un producto génico. Por ejemplo, en el caso de un gen estructural, la expresión implica la transcripción del gen estructural en mARN y la traducción de mARN en uno o más polipéptidos.

La expresión “par complemento/anticomplemento” indica porciones no idénticas que forman un par estable asociado de manera no covalente en condiciones adecuadas. Por ejemplo, la biotina y la avidina (o estreptavidina) son miembros prototípicos de un par complemento/anticomplemento. Otros ejemplos de pares complemento/anticomplemento incluyen los pares receptor/ligando, pares anticuerpo/antígeno (o hapteno o epítopo), pares de polinucleótidos sentido/antisentido y similares. En los casos en que es conveniente la posterior disociación del par complemento/anticomplemento, el par complemento/anticomplemento tiene, preferentemente, una afinidad de fijación menor de 10^9 M^{-1}.

Como se usa en la presente, un “agente terapéutico” es una molécula o un átomo que se conjugan con una porción de anticuerpo para producir un conjugado útil para la terapia. Algunos ejemplos de agentes terapéuticos incluyen fármacos, toxinas, inmunomoduladores, quelantes, compuestos de boro, agentes fotoactivos o tinturas, y radioisótopos.

Una “etiqueta detectable” es una molécula o un átomo que se pueden conjugar con una porción de anticuerpo para producir una molécula útil para el diagnóstico. Algunos ejemplos de etiquetas detectables incluyen quelantes, agentes fotoactivos, radioisótopos, agentes fluorescentes, iones paramagnéticos u otras porciones de marcadores.

La expresión “etiqueta de afinidad” se usa en la presente para indicar un segmento polipeptídico que se puede unir a un segundo polipéptido para la purificación o detección del segundo polipéptido o proporcionar sitios para la unión del segundo polipéptido a un sustrato. En principio, se puede usar como etiqueta de afinidad cualquier péptido o proteína para los cuales un anticuerpo u otro agente de fijación específico están disponibles. Las etiquetas de afinidad incluyen un tracto de polihistidina, proteína A (Nilsson et al., EMBO J., 4: 1075 (1985); Nilsson et al., Methods Enzymol., 198: 3 (1991)), glutatión S transferasa (Smith et al., Gene, 67:31 (1988)), etiqueta de afinidad Glu-Glu (Grussenmeyer et al., Proc. Natl Acad Sci. USA, 82: 7952 (1985)), sustancia P, péptido FLAG® (Hopp et al., Biotechnology, 6: 1204 (1988)), péptido de unión a estreptavidina u otro epítopo antigénico o dominio de unión. Véase, en general, Ford et al., Protein Expression and Purification, 2:95 (1991). Las moléculas de ADN que codifican etiquetas de afinidad están disponibles de proveedores comerciales (por ejemplo, Pharmacia Biotech, Piscataway,

NJ).

Una “entidad de fijación a IL-17A” es una entidad de fijación, tal como un anticuerpo, que se fija específicamente a IL-17A en su forma homodimérica (IL-17A/IL-17A) y en su forma heterodimérica (IL-17A/IL-17F).

Una “entidad de fijación a IL-17F” es una entidad de fijación, tal como un anticuerpo, que se fija específicamente a IL-17F en su forma homodimérica (IL-17F/IL-17F) y en su forma heterodimérica (IL-17A/IL-17F).

Una “entidad de fijación a IL-17A/F” es una entidad de fijación, tal como un anticuerpo, que se fija específicamente a IL-17A e IL-17F al reconocer y fijarse al mismo epítopo o a uno similar, por ejemplo, un epítopo continuo o discontinuo, compartido por IL-17A e IL-17F. La entidad de fijación a IL-17A/F se fija al homodímero de IL-17A, al homodímero de IL-17F y al heterodímero de IL-17A/IL-17F.

Un problema consiste en que IL-17A, IL-17F y IL-23p19 están sobreexpresados e implicados en la causa y/o la sostenibilidad de varios trastornos inflamatorios y/o autoinmunitarios. Una solución que se provee en varias formas de realización de la presente invención es inhibir o reducir la capacidad de estas citocinas para señalizar células, administrando un anticuerpo biespecífico como se define en las reivindicaciones que se fija a cada citocina e inhibe o reduce cada citocina, por ejemplo, la forma homodimérica o heterodimérica, de la señalización a través de su receptor cognado.

Otro problema es que al crear una IL-17A/F biespecífica y un anticuerpo biespecífico IL-23p19, por ejemplo, biAb3, se encontraron diferencias para generar un anticuerpo biespecífico que tenía alta afinidad con IL-17A y que era un neutralizador eficaz, por ejemplo, CI_{50}, de IL-17A. El anticuerpo de ratón parental (por ejemplo, quimérico 339.15, 339.15.3.5, 339.15.5.3 o 339.15.3.6), como se muestra en la Tabla 1, tuvo una CI_{50} de IL-17A/F de 0,30 nM y una CI_{50} de IL-17F de 0,26 nM, pero solo tuvo una CI_{50} de IL-17A de 11 nM. Era necesario mejorar la capacidad de los anticuerpos para inhibir o neutralizar IL-17A de la señalización. Como se muestra en la Tabla 3, 339.15 de ratón parental quimérico y 339.134 parental humanizado tuvieron una afinidad de fijación a IL-17A similar. Asimismo, como se muestra en la Tabla 8, la capacidad de 339.134 parental humanizado para inhibir IL-17A (CI_{50} de 1,3 nM) aún era significativamente reducida, en comparación con su capacidad para inhibir IL-17A/F (CI_{50} de 0,27 nM) e IL-17F (CI_{50} de 0,24 nM). Este problema se superó sorpresivamente utilizando la cadena ligera del anticuerpo IL-23p19 de biAb3 (SEQ ID NO:17). Cuando la cadena ligera de IL-23p19 se apareó con la cadena pesada humanizada de 339.134, el anticuerpo monoclonal resultante aumentó significativamente su capacidad para inhibir IL-17A de la señalización (véase la Tabla 9) y aumentó significativamente su afinidad con IL-17A (véase la Tabla 10). El residuo fundamental en la cadena ligera de IL-23p19/IL-17A/F ahora compartida de, por ejemplo, biAb3, que pudo haber proporcionado esta mejor capacidad de neutralización y afinidad puede ser Y108 o Tyr108 de SEQ ID NO:2, según lo demuestran la cristalografía de rayos X y los estudios de mutantes de alanina del Ejemplo 9.

En una forma de realización, la presente invención provee anticuerpos biespecíficos, anticuerpos y fragmentos de fijación al antígeno de estos. La divulgación también proporciona anticuerpos biespecíficos de la invención comprenden una entidad de fijación a IL-17A que se fija a IL-17A y una entidad de fijación a IL-23 que se fija a IL-23 mediante p19. Los anticuerpos biespecíficos de la divulgación comprenden una entidad de fijación a IL-17F que se fija a IL-17F y a una entidad de fijación a IL-23 que se fija a IL-23 mediante p19. En otro aspecto, los anticuerpos biespecíficos de la divulgación comprenden una entidad de fijación a IL-17A/F que se fija a IL-17A e IL-17F y una entidad de fijación a IL-23 que se fija a IL-23 mediante p19. La entidad de fijación que se fija a IL-23 mediante p19 se denomina, en adelante, entidad de fijación que se fija a IL-23 o “entidad de fijación a IL-23”. La secuencia de polinucleótidos de la IL-17A humana se muestra en SEQ ID NO:1, y la secuencia de polipéptidos correspondiente se muestra en SEQ ID NO:2. La secuencia de señales del polipéptido IL-17A son los residuos de aminoácidos 1-23 de SEQ ID NO:2. Por eso, los residuos de aminoácidos 24-155 de SEQ ID NO:2 constituyen el polipéptido IL-17A maduro. Los anticuerpos (y los fragmentos de fijación al antígeno de estos) y los anticuerpos biespecíficos descritos en la presente que se fijan a IL-17A se fijan al polipéptido IL-17A maduro (residuos de aminoácidos 24-155 de SEQ ID NO:2). La secuencia de polinucleótidos de la IL-17F humana se muestra en SEQ ID NO:3, y la secuencia de polipéptidos correspondiente se muestra en SEQ ID NO:4. La secuencia de señales del polipéptido IL-17F son los residuos de aminoácidos 1-30 de SEQ ID NO:4. Por eso, los residuos de aminoácidos 31-163 de SEQ ID NO:4 constituyen el polipéptido IL-17F maduro. Los anticuerpos (y los fragmentos de fijación al antígeno de estos) y los anticuerpos biespecíficos descritos en la presente que se fijan a IL-17F se fijan al polipéptido IL-17F maduro (residuos de aminoácidos 31-163 de SEQ ID NO:4). La secuencia de polinucleótidos de la subunidad p19 humana de IL-23 se muestra en SEQ ID NO:5, y la secuencia de polipéptidos correspondiente se muestra en SEQ ID NO:6. La secuencia de señales del polipéptido IL-23p19 son los residuos de aminoácidos 1-19 de SEQ ID NO:6. Por eso, los residuos de aminoácidos 20-189 de SEQ ID NO:6 constituyen el polipéptido IL-23p19 maduro. Los anticuerpos (y los fragmentos de fijación al antígeno de estos) y los anticuerpos biespecíficos descritos en la presente que se fijan a IL-23p19 se fijan al polipéptido IL-23p19 maduro (residuos de aminoácidos 20-189 de SEQ ID NO:6). Los anticuerpos (y fragmentos de unión a antígeno de los mismos) y los anticuerpos biexpecíficos divulgados en el presente documento que se unen a IL-23p19 se unen al polipéptido IL-23p19 maduro (restos de aminácidos 20-289 de la SEQ ID NO:6).

En un aspecto de la divulgación, la entidad de fijación a IL-17A/F comprende un anticuerpo, es decir, dos pares de cadenas de inmunoglobulina, en donde cada par tiene una cadena ligera y una cadena pesada, y la entidad de fijación a IL-23 comprende dos fragmentos Fab, cada uno de los cuales comprende una cadena ligera y las regiones C_{H1} y variables de una cadena pesada, y los fragmentos Fab de la entidad de fijación a IL-23 se unen al terminal C de las cadenas pesadas (Fc) de la entidad de fijación a IL-17A/F. En la presente invención, el formato de este anticuerpo biespecífico se denomina biAbFabL (véase la Figura 2). En otra forma de realización, cada una de la cadena ligera y las regiones C_{H1} y variables de la cadena pesada que comprenden los fragmentos Fab de la entidad de fijación a IL-23 se unen al terminal N de las cadenas ligeras y las cadenas pesadas, respectivamente, de la entidad de fijación a IL-17A/F. En la presente, el formato de este anticuerpo biespecífico se denomina taFab (véase la Figura 3).

En la invención, la entidad de fijación a IL-23 comprende un anticuerpo, es decir, dos pares de cadenas de inmunoglobulina, en donde cada par tiene una cadena ligera y una cadena pesada, y la entidad de fijación a IL-17A/F comprende dos fragmentos Fab, cada uno de los cuales comprende una cadena ligera y las regiones C_{H1} y variables de una cadena pesada, y los fragmentos Fab de la entidad de fijación a IL-17A/F se unen al terminal C de las cadenas pesadas (Fc) de la entidad de fijación a IL-23. Este formato de anticuerpo biespecífico se denomina biAbFabL (véase la Figura 2). En otro aspecto de la divulgación, cada una de la cadena ligera y las regiones C_{H1} y variables de la cadena pesada que comprenden los fragmentos Fab de la entidad de fijación a IL-17A/F se unen al terminal N de la cadena ligera y la cadena pesada, respectivamente, de la entidad de fijación a IL-23. En la presente, el formato de este anticuerpo biespecífico se denomina taFab (véase la Figura 3).

En otro aspecto de la divulgación, la entidad de fijación a IL-23 comprende una cadena ligera y una cadena pesada de IL-23, y la entidad de fijación a IL-17A/F comprende una cadena ligera y una cadena pesada de IL-17A/F. Este anticuerpo biespecífico se asemeja a un anticuerpo tradicional, excepto porque comprende dos cadenas pesadas diferentes que se asocian mediante una asociación de complementariedad electroestática en las regiones C_{H3}. Utiliza una cadena ligera común. Este formato de anticuerpo biespecífico se denomina Fc heterodimérico (véase la Figura 4).

En otro aspecto, la divulgación provee anticuerpos biespecíficos que comprenden una primera entidad de fijación que comprende un anticuerpo, es decir, dos pares de cadenas de inmunoglobulina, en donde cada par tiene una cadena ligera y una cadena pesada, y una segunda entidad de fijación que comprende una unidad Fv, es decir, los dominios variables de una cadena pesada y una cadena ligera, y en donde la segunda entidad de fijación que comprende la unidad Fv se ubica entre la región Fab y la bisagra de la primera entidad de fijación, como se muestra en la Figura 5. La unidad Fv se liga a la región Fab de la primera entidad de fijación mediante moléculas ligadoras. Más específicamente, la unidad Fv comprende un dominio liviano variable que se liga a la región constante de la cadena ligera del fragmento Fab y un dominio pesado variable que se liga a la región C_{H1} del fragmento Fab. En la presente, el formato de este anticuerpo biespecífico se denomina VCVFc. La primera entidad de fijación y la segunda entidad de fijación de un VCVFc no tienen que compartir una cadena ligera común, mientras que la primera entidad de fijación y la segunda entidad de fijación de un biAbFabL no tienen que compartir una cadena ligera común. En un aspecto de esta forma de realización de la invención, la primera entidad de fijación se fija específicamente a un antígeno linfocitario, citocina, receptor de citocina, factor de crecimiento, receptor del factor de crecimiento, interleucina (por ejemplo, IL-17A, IL-17F, IL-17A/F e IL-23) o receptor de interleucina, y la segunda entidad de fijación se fija específicamente a un antígeno linfocitario, citocina, receptor de citocina, factor de crecimiento, receptor del factor de crecimiento, interleucina (por ejemplo, IL-17A, IL-17F, IL-17A/F e IL-23) o receptor de interleucina. En otro aspecto de esta forma de realización de la invención, la primera entidad de fijación es una entidad de fijación a IL-17A/F, y la segunda entidad de fijación es una entidad de fijación a IL-23. En otro aspecto de esta forma de realización de la invención, la primera entidad de fijación es una entidad de fijación a IL-23, y la segunda entidad de fijación es una entidad de fijación a IL-17A/F.

En otra forma de realización, la presente divulgación provee anticuerpos biespecíficos que comprenden una primera entidad de fijación que comprende un anticuerpo, es decir, dos pares de cadenas de inmunoglobulina, en donde cada par tiene una cadena ligera y una cadena pesada, y una segunda entidad de fijación que comprende un anticuerpo de dominio simple. En la presente, el formato de este anticuerpo biespecífico se denomina VCDFc. Un ejemplo de un anticuerpo biespecífico VCDFc se muestra en la Figura 6. La segunda entidad de fijación que comprende el anticuerpo de dominio simple se ubica entre la región Fab, más específicamente, la región C_{H1} del fragmento Fab, y la bisagra de la primera entidad de fijación. El anticuerpo de dominio simple se liga a la región C_{H1} de Fab de la primera entidad de fijación mediante moléculas ligadoras (por ejemplo, 10mer G_4S, representada por la ecuación $(G_4S)_2$ o SSASTKGPS (SEQ ID NO:86)). En un aspecto de esta forma de realización de la invención, la primera entidad de fijación se fija específicamente a un antígeno linfocitario, citocina, receptor de citocina, factor de crecimiento, receptor del factor de crecimiento, interleucina (por ejemplo, IL-17A, IL-17F, IL-17A/F e IL-23) o receptor de interleucina, y la segunda entidad de fijación se fija específicamente a un antígeno linfocitario, citocina, receptor de citocina, factor de crecimiento, receptor del factor de crecimiento, interleucina (por ejemplo, IL-17A, IL-17F, IL-17A/F e IL-23) o receptor de interleucina. En un aspecto de esta forma de realización de la invención, la primera entidad de fijación es una entidad de fijación a IL-23, y la segunda entidad de fijación es una entidad de fijación a IL-17A/F. En otro aspecto de esta forma de realización de la invención, la primera entidad de fijación es una entidad de fijación a IL-17A/F, y la segunda entidad de fijación es una entidad de fijación a IL-23.

Las secuencias de aminoácidos de las entidades de fijación se basan, preferentemente, en las secuencias de anticuerpos monoclonales humanos y/o humanizados contra un antígeno linfocitario, citocina, receptor de citocina, factor de crecimiento, receptor del factor de crecimiento, interleucina (por ejemplo, IL-17A, IL-17F, IL-17A/F e IL-23) o receptor de interleucina.

En una forma de realización de los aspectos anteriores de la invención, cada una de las cadenas ligeras de la entidad de fijación a IL-17A/F y la entidad de fijación a IL-23 del anticuerpo biespecífico comprende un dominio variable que comprende una CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22, una CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:23 y una CDR3 que tiene la secuencia de SEQ ID NO:24. En otra forma de realización, cada una de las cadenas ligeras de la entidad de fijación a IL-17A/F y la entidad de fijación a IL-23 comprende un dominio variable que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9. En otra forma de realización, cada una de las cadenas ligeras de la entidad de fijación a IL-17A/F y la entidad de fijación a IL-23 comprende un dominio constante que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10. En otra forma de realización, cada una de las cadenas ligeras de la entidad de fijación a IL-17A/F y la entidad de fijación a IL-23 comprende un dominio variable que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9 y un dominio constante que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la invención, la cadena pesada de la entidad de fijación a IL-17A/F del anticuerpo biespecífico comprende un dominio variable que comprende una CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25, una CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26 y una CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27. En otra forma de realización, la cadena pesada de la entidad de fijación a IL-17A/F comprende un dominio variable que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:13. En otra forma de realización, cuando la entidad de fijación a IL-17A/F comprende un anticuerpo, el dominio constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:127 o SEQ ID NO:128. En otra forma de realización, cuando la entidad de fijación a IL-17A/F comprende un fragmento Fab, la región C_{H1} de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:14 o SEQ ID NO:15.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la invención, la entidad de fijación a IL-17A/F del anticuerpo biespecífico comprende un dominio variable de la cadena pesada que tiene al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:13. Opcionalmente, todas las sustituciones, adiciones o eliminaciones están dentro de la región marco del dominio variable de la cadena pesada. Opcionalmente, la entidad de fijación a IL-17A/F del anticuerpo biespecífico comprende un dominio variable de la cadena pesada que tiene al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:13, en donde el dominio variable comprende una CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25, una CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26 y una CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27. Opcionalmente, el dominio variable de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:13. Opcionalmente, las tres CDR del dominio variable de la cadena pesada de IL-17A/F incluyen una región CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25; una región CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26; y una región CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27. Opcionalmente, la CDR1 del dominio variable de la cadena pesada de IL-17A/F tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25; la CDR2 del dominio variable de la cadena pesada tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26; y la CDR3 del dominio variable de la cadena pesada tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27. Las entidades de fijación a IL-17A/F y/o IL-23p19 comprenden un dominio variable de la cadena ligera que tiene al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9. Opcionalmente, todas las sustituciones, adiciones o eliminaciones están dentro de la región marco del dominio variable de la cadena ligera. Opcionalmente, la entidad de fijación a IL-17A/F y/o IL-23p19 del anticuerpo biespecífico comprende un dominio variable de la cadena ligera que tiene al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9, en donde el dominio variable comprende una CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22, una CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:23 y una CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24. Opcionalmente, el dominio variable de la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9. Opcionalmente, las tres CDR del dominio variable de la cadena ligera de IL-17A/F y/o IL-23p19 incluyen una región CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % de

identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22; una región CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:23; y una región CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24. Opcionalmente, la CDR1 del dominio variable de la cadena ligera de IL-17A/F y/o IL-23p19 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22; la CDR2 del dominio variable de la cadena ligera de IL-17A/F y/o IL-23p19 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:23; y la CDR3 del dominio variable de la cadena ligera de IL-17A/F y/o IL-23p19 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24. La entidad de fijación a IL-23p19 comprenden un dominio variable de la cadena pesada que tiene al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7. Opcionalmente, todas las sustituciones, adiciones o eliminaciones están dentro de la región marco del dominio variable de la cadena pesada de IL-23p19. Opcionalmente, la entidad de fijación a IL-23p19 del anticuerpo biespecífico comprende un dominio variable de la cadena pesada que tiene al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7, en donde el dominio variable comprende una CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:19, una CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20 y una CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21. Opcionalmente, el dominio variable de la cadena pesada de IL-23p19 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7. Opcionalmente, las tres CDR del dominio variable de la cadena pesada de IL-23p19 incluyen una región CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:19; una región CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20; y una región CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21. Opcionalmente, la CDR1 del dominio variable de la cadena pesada de IL-23p19 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:19; la CDR2 del dominio variable de la cadena pesada tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20; y la CDR3 del dominio variable de la cadena pesada tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21.

La cadena pesada de la entidad de fijación a IL-23 del anticuerpo biespecífico comprende un dominio variable que comprende una CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:19, una CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20 y una CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21. En otra forma de realización, la cadena pesada de la entidad de fijación a IL-23 comprende un dominio variable que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7. En otra forma de realización, cuando la entidad de fijación a IL-23 comprende un anticuerpo, el dominio constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:127 o SEQ ID NO:128. En algunas formas de realización, se escindió la lisina del terminal C de SEQ ID NO:8, y por eso, el dominio constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de los residuos 1-326 de SEQ ID NO:8. En otra forma de realización, cuando la entidad de fijación a IL-23 comprende un fragmento Fab, la región C_{H1} de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:14 o SEQ ID NO:15.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la divulgación, cuando la entidad de fijación a IL-23 o la entidad de fijación a IL-17A/F del anticuerpo biespecífico es una unidad Fv, el dominio variable de la cadena ligera comprende una CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22, una CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:23 y una CDR3 que tiene la secuencia de SEQ ID NO:24. En otra forma de realización, cada una de las cadenas ligeras de la entidad de fijación a IL-17A/F y la entidad de fijación a IL-23 comprende un dominio variable que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la invención, cuando la entidad de fijación a IL-17A/F del anticuerpo biespecífico es una unidad Fv, el dominio variable de la cadena pesada comprende una CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25, una CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26 y una CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27. En otra forma de realización, la cadena pesada de la entidad de fijación a IL-17A/F comprende un dominio variable que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:13.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la divulgación, cuando la entidad de fijación a IL-23 del anticuerpo biespecífico es una unidad Fv, el dominio variable de la cadena pesada comprende una CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:19, una CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20 y una CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21. En otra forma de realización, la cadena pesada de la entidad de fijación a IL-23 comprende un dominio variable que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la invención, los fragmentos Fab de la entidad de fijación a IL-23 del anticuerpo biespecífico se ligan al terminal C de las cadenas pesadas (Fc) de la entidad de fijación a IL-17A/F, o los fragmentos Fab de la entidad de fijación a IL-17A/F se ligan, por ejemplo, al terminal C de las cadenas pesadas (Fc) de la entidad de fijación a IL-23 mediante una molécula ligadora (véase, por ejemplo, la Figura 2). En otra forma de realización, cada una de la cadena ligera y las regiones CH1 y variables de la cadena pesada que comprende los fragmentos Fab de la entidad de fijación a IL-23 se liga al terminal N de la cadena ligera y de la cadena pesada, respectivamente, de la entidad de fijación a IL-17A/F, o cada una de la cadena ligera y las regiones CH1 y variables de la cadena pesada que comprende los fragmentos Fab de la entidad de fijación a IL-17A/F se liga al terminal N de la cadena ligera y de la cadena pesada, respectivamente, de la entidad de fijación a IL-23 mediante una molécula ligadora (véase, por ejemplo, la Figura 3). En otra forma de realización del anticuerpo biespecífico VCVFc, cada una de la región variable de la cadena ligera y la región variable de la cadena pesada de la unidad Fv que comprende la segunda entidad de fijación se liga a cada una de la región constante de la cadena ligera y la región C_{H1}, respectivamente, del fragmento Fab de la primera entidad de fijación mediante una molécula ligadora (véase la Figura 5). Las moléculas ligadoras adecuadas se conocen en la técnica e incluyen, por ejemplo, polipéptidos cortos. Un ligador adecuado puede incluir un polipéptido corto, que contiene glicina, que confiere flexibilidad, y serina o treonina, que confieren solubilidad. Un ligador adecuado puede comprender unidades Gly_4Ser_1. Por ejemplo, el ligador puede ser $(Gly_4Ser_1)_x$, en donde x es 1, 2 o 3. Opcionalmente, el polipéptido ligador tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12. En otra forma de realización de los anticuerpos biespecíficos VCVFc, el ligador de la cadena ligera tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:85, y el ligador de la cadena pesada tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:86.

En una forma de realización preferida de la invención, el anticuerpo biespecífico comprende un par de cadenas pesadas, que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:74, y un par de cadenas ligeras, cada una de las cuales comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:17.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la invención, la entidad de unión a IL-17A/F del anticuerpo biespecífico, tal como biAbFabL (véase la Figura 2), se unen a (a) un homodímero de IL-17A con una afinidad de fijación (K_{D1}) de al menos 1×10^9 M, al menos 5×10^9 M, al menos 1×10^{10} M, al menos 5×10^{10} M, al menos 8×10^{10} M o al menos 1×10^{11} M; (b) un homodímero de IL-17F con una afinidad de fijación (K_{D1}) de al menos 1×10^9 M, al menos 5×10^9 M, al menos 1×10^{10} M, al menos 2×10^{10} M, al menos 3×10^{10} M, al menos 4×10^{10} M, al menos 5×10^{10} M o al menos 1×10^{11} M; y/o (c) un heterodímero de IL-17A/F con una afinidad de fijación (K_{D1}) de al menos 1×10^8 M, al menos 5×10^8 M, al menos 1×10^9 M, al menos 2×10^9 M, al menos 3×10^9 M, al menos 4×10^9 M, al menos 5×10^9 M, al menos 6×10^9 M, al menos 7×10^9 M, al menos 9×10^9 M, al menos 1×10^{10} M o al menos 5×10^{10} M, en donde la afinidad de fijación se mide mediante resonancia de plasmones superficiales, tal como Biacore.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la invención la entidad de fijación a IL-23p19 del anticuerpo biespecífico, tal como biAbFabL (véase la Figura 2), se une a IL-23p19 con una afinidad de fijación (K_{D1}) de al menos 1×10^{-9} M, al menos 5×10^{-9} M, al menos 1×10^{-10} M, al menos 2×10^{-10} M, al menos 3×10^{-10} M, al menos 4×10^{-10} M, al menos 5×10^{-10}, al menos 6×10^{-10}, al menos 7×10^{-10}, al menos 8×10^{-10} o al menos 9×10^{-10}, al menos 1×10^{-11}, en donde la afinidad de fijación se mide mediante resonancia de plasmones superficiales, tal como Biacore.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la invención, la entidad de fijación a IL-17A/F del anticuerpo biespecífico, tal como biAbFabL (véase la Figura 2), se fija a (a) un homodímero de IL-17A con una afinidad de fijación (K_{D1}) de al menos 1×10^{-9} M, al menos 5×10^{-9} M, al menos 1×10^{-10} M, al menos 5×10^{-10} M, al menos 8×10^{-10} M or al menos al menos 1×10^{-11} M; (b) un homodímero de IL-17F con una afinidad de fijación (K_{D1}) de al menos 1×10^{-9} M, al menos 5×10^{-9} M, al menos 1×10^{-10} M, al menos 2×10^{-10} M, al menos 3×10^{-10} M, al menos 4×10^{-10} M, al menos 5×10^{-10} M o al menos 1×10^{-11} M; y/o (c) un heterodímero de IL-17A/F con una afinidad de fijación (K_{D1}) de al menos 1×10^{-8} M, al menos 5×10^{-8} M, al menos 1×10^{-9} M, al menos 2×10^{-9} M, al menos 3×10^{-9} M, al menos 4×10^{-9} M, al menos 5×10^{-9} M, al menos 6×10^{-9} M, al menos 7×10^{-9} M, al menos 9×10^{-9} M, al menos 1×10^{-10} M o al menos 5×10^{-10} M; y la entidad de fijación a IL-23p19 del anticuerpo biespecífico se fija a IL-23p19 con una afinidad de fijación (K_{D1}) de al menos 1×10^{-9} M, al menos 5×10^{-9} M, al menos 1×10^{-10} M, al menos 2×10^{-10} M, al menos 3×10^{-10} M, al menos 4×10^{-10} M, al menos 5×10^{-10}, al menos 6×10^{-10}, al menos 7×10^{-10}, al menos 8×10^{-10} o al menos 9×10^{-10}, al menos 1×10^{-11}, en donde la afinidad de fijación se mide mediante resonancia de plasmones superficiales, tales como Biacore.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la invención, la entidad de fijación a IL-17A/F del anticuerpo biespecífico neutraliza o inhibe (a) la inducción de G-CSF mediante IL-17A en las células epiteliales de las vías aéreas pequeñas (SAEC) humanas primarias con un CI_{50} de 0,5 pm o menos; (b) la inducción de G-CSF mediante IL-17F en las células epiteliales de las vías aéreas pequeñas (SAEC) humanas primarias con un CI_{50} de 2,0 nM o menos, 1,5 nM o menos, 1,4 nM o menos, 1,3 nM o menos, 1,2 nM o menos, 1,1 nM o menos, o 1,0 nM o menos; y/o (c) la inducción de G-CSF mediante IL-17A/F en las células epiteliales de las vías aéreas pequeñas (SAEC) humanas primarias con un CI_{50} de 1,3 nM o menos, 1,2 nM o menos, 1,1 nM o menos, 1,0 nM o menos, 0,9 nM o menos, 0,8 nM o menos, 0,7 nM o menos, 0,6 nM o menos, o 0,5 nM o menos.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la invención, la entidad de fijación a IL-17A/F del anticuerpo biespecífico neutraliza o inhibe (a) la inducción de IL-6 mediante IL-17A en las células de fibroblastos primarios humanos (HFFF) con un CI_{50} de 0,5 nM o menos, 0,4 nM o menos, 0,3 nM o menos, 0,2 nM o menos, 0,1 nM o menos, 0,09 nM o menos, 0,08 nM o menos, 0,07 nM o menos, 0,06 nM o menos, 0,05 nM o menos, 0,04 nM o menos, 0,03 nM o menos, 0,02 nM o menos, o 0,01 nM o menos; (b) la inducción de IL-6 mediante IL-17F en las células de fibroblastos primarios humanos (HFFF) con un CI_{50} de 30 nM o menos, 28 nM o menos, 26 nM o menos, 25 nM o menos, 22 nM o menos, 20 nM o menos, 19 nM o menos, 18 nM o menos, 17 nM o menos, 16 nM o menos, 15 nM o menos, 14 nM o menos, 13 nM o menos, 12 nM o menos, 11 nM o menos, o 10 nM o menos; y/o (c) la inducción de IL-6 mediante IL-17A/F en las células de fibroblastos primarios humanos (HFFF) con un CI_{50} de 30 nM o menos, 28 nM o menos, 26 nM o menos, 22 nM o menos, 20 nM o menos, 18 nM o menos, 17 nM o menos, 16 nM o menos, 15 nM o menos, 14 nM o menos, 13 nM o menos, 12 nM o menos, 11 nM o menos, 10 nM o menos, 9,5 nM o menos, 9,4 nM o menos, 9,3 nM o menos, 9,2 nM o menos, 9,1 nM o menos, o 9,0 nM o menos.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la invención, la entidad de fijación a IL-23p19 del anticuerpo biespecífico neutraliza o inhibe (a) la producción de IL-17A e IL-17F inducida por IL-23 en esplenocitos murinos con un CI_{50} de 0,5 nM o menos, 0,4 nM o menos, 0,3 nM o menos, 0,2 nM o menos, 0,1 nM o menos, 0,09 nM o menos, 0,08 nM o menos, 0,07 nM o menos, o 0,06 nM o menos.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la invención, la entidad de fijación a IL-23p19 del anticuerpo biespecífico neutraliza o inhibe la fosforilación de STAT3 inducida por IL-23 en los linfocitos T humanos primarios activados con un CI_{50} de 0,1 nM o menos, 0,2 nM o menos, 0,3 nM o menos, 0,4 nM o menos, 0,5 nM o menos, 0,8 nM o menos, 0,9 nM o menos, 0,01 nM o menos, 0,02 nM o menos, 0,03 nM o menos, 0,04 nM o menos, o 0,05 nM o menos.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la invención, la entidad de fijación a IL-17A/F del anticuerpo biespecífico, tal como biAbFabL (véase la Figura 2), se fija a (a) un homodímero de IL-17A con una afinidad de fijación (K_{D1}) de al menos 1 x 10^{-9} M, al menos 5 x 10^{-9} M, al menos 1 x 10^{-10} M, al menos 5 x 10^{-10} M, al menos 8 x 10^{-10} M or al menos al menos 1 x 10^{-11} M; (b) un homodímero de IL-17F con una afinidad de fijación (K_{D1}) de al menos 1 x 10^{-9} M, al menos 5 x 10^{-9} M, al menos 1 x 10^{-10} M, al menos 2 x 10^{-10} M, al menos 3 x 10^{-10} M, al menos 4 x 10^{-10} M, al menos 5 x 10^{-10} M o al menos 1 x 10^{-11} M; y/o (c) un heterodímero de IL-17A/F con una afinidad de fijación (K_{D1}) de al menos 1 x 10^{-8} M, al menos 5 x 10^{-8} M, al menos 1 x 10^{-9} M, al menos 2 x 10^{-9} M, al menos 3 x 10^{-9} M, al menos 4 x 10^{-9} M, al menos 5 x 10^{-9} M, al menos 6 x 10^{-9} M, al menos 7 x 10^{-9} M, al menos 9 x 10^{-9} M, al menos 1 x 10^{-10} M o al menos 5 x 10^{-10} M. Opcionalmente, la entidad de fijación a IL-23p19 del anticuerpo biespecífico se fija a IL-23p19 con una afinidad de fijación (K_{D1}) de al menos 1 x 10^{-9} M, al menos 5 x 10^{-9} M, al menos 1 x 10^{-10} M, al menos 2 x 10^{-10} M, al menos 3 x 10^{-10} M, al menos 4 x 10^{-10} M, al menos 5 x 10^{-10}, al menos 6 x 10^{-10}, al menos 7 x 10^{-10}, al menos 8 x 10^{-10} o al menos 9 x 10^{-10}, al menos 1 x 10^{-11}, en donde la afinidad de fijación se mide mediante resonancia de plasmones superficiales, tales como Biacore. Opcionalmente, la entidad de fijación a IL-17A/F del anticuerpo biespecífico neutraliza o inhibe (a) la inducción de G-CSF mediante IL-17A en las células epiteliales de las vías aéreas pequeñas (SAEC) humanas primarias con un CI_{50} de 0,5 pm o menos; (b) la inducción de G-CSF mediante IL-17F en las células epiteliales de las vías aéreas pequeñas (SAEC) humanas primarias con un CI_{50} de 2,0 nM o menos, 1,5 nM o menos, 1,4 nM o menos, 1,3 nM o menos, 1,2 nM o menos, 1,1 nM o menos, o 1,0 nM o menos; y/o (c) la inducción de G-CSF mediante IL-17A/F en las células epiteliales de las vías aéreas pequeñas (SAEC) humanas primarias con un CI_{50} de 1,3 nM o menos, 1,2 nM o menos, 1,1 nM o menos, 1,0 nM o menos, 0,9 nM o menos, 0,8 nM o menos, 0,7 nM o menos, 0,6 nM o menos, o 0,5 nM o menos. Opcionalmente, la entidad de fijación a IL-17A/F del anticuerpo biespecífico neutraliza o inhibe (a) la inducción de IL-6 mediante IL-17A en las células de fibroblastos primarios humanos (HFFF) con un CI_{50} de 0,5 nM o menos, 0,4 nM o menos, 0,3 nM o menos, 0,2 nM o menos, 0,1 nM o menos, 0,09 nM o menos, 0,08 nM o menos, 0,07 nM o menos, 0,06 nM o menos, 0,05 nM o menos, 0,04 nM o menos, 0,03 nM o menos, 0,02 nM o menos, o 0,01 nM o menos; (b) la inducción de IL-6 mediante IL-17F en las células de fibroblastos primarios humanos (HFFF) con un CI_{50} de 30 nM o menos, 28 nM o menos, 26 nM o menos, 25 nM o menos, 22 nM o menos, 20 nM o menos, 19 nM o menos, 18 nM o menos, 17 nM o menos, 16 nM o menos, 15 nM o menos, 14 nM o menos, 13 nM o menos, 12 nM o menos, 11 nM o menos, o 10 nM o menos; y/o (c) la inducción de IL-6 mediante IL-17A/F en las células de fibroblastos primarios humanos (HFFF) con un CI_{50} de 30 nM o menos, 28 nM o menos, 26 nM o menos, 22 nM o menos, 20 nM o menos, 18 nM o menos, 17 nM o menos, 16 nM o menos, 15 nM o menos, 14 nM o menos, 13 nM o menos, 12 nM o menos, 11 nM o menos, 10 nM o menos, 9,5 nM o menos, 9,4 nM o menos, 9,3 nM o menos, 9,2 nM o menos, 9,1 nM o menos, o 9,0 nM o menos. Opcionalmente, la entidad de fijación a IL-23p19 del anticuerpo biespecífico neutraliza o inhibe la fosforilación de STAT3 inducida por IL-23 en los linfocitos T humanos primarios activados con un CI_{50} de 0,1 nM o menos, 0,2 nM o menos, 0,3 nM o menos, 0,4 nM o menos, 0,5 nM o menos, 0,8 nM o menos, 0,9 nM o menos, 0,01 nM o menos, 0,02 nM o menos, 0,03 nM o menos, 0,04 nM o menos, o 0,05 nM o menos.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la divulgación, el anticuerpo biespecífico comprende un par de cadenas pesadas que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28 y un par de cadenas ligeras que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:17 en la presente se denomina "biAb1", “bAb1” o “23/17bAb1”. Un anticuerpo biespecífico que comprende un par de cadenas pesadas, cada una de las cuales comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:18, y un par de cadenas ligeras, cada una de las cuales comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:17, en la presente se denomina "biAb2", “bAb2” o

“23/17bAb2”. Un anticuerpo biespecífico que comprende un par de cadenas pesadas, cada una de las cuales comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:74, y un par de cadenas ligeras, cada una de las cuales comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:17, en la presente se denomina "biAb3", “bAb3” o “23/17bAb3”. Un anticuerpo biespecífico que comprende un par de cadenas pesadas, cada una de las cuales comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29, y un par de cadenas ligeras, cada una de las cuales comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:17, en la presente se denomina "biAb3", “bAb3” o “23/17bAb3”.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la divulgación, el anticuerpo biespecífico comprende un par de cadenas pesadas, cada una de las cuales comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:77, y un par de cadenas ligeras, cada una de las cuales comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:79, en la presente se denomina “taFab1”.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la invención, el anticuerpo biespecífico que comprende una cadena pesada de IL-23 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63, una cadena pesada de IL-17A/F que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 y un par de cadenas ligeras, cada una de las cuales comprende la secuencia de SEQ ID NO:17, en la presente se denomina “hetero1”. En otra forma de realización, el anticuerpo biespecífico que comprende una cadena pesada de IL-23 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61, una cadena pesada de IL-17A/F que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:81 y un par de cadenas ligeras, cada una de las cuales comprende la secuencia de SEQ ID NO:17, en la presente se denomina “hetero2”.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la divulgación, el anticuerpo biespecífico en el formato VCVFc (véase la Figura 5) tiene un par de cadenas pesadas, en donde cada una comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:88 y un par de cadenas ligeras, en donde cada una comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:90, o un par de cadenas pesadas, en donde cada una comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:92 y un par de cadenas ligeras, en donde cada una comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:94, o un par de cadenas pesadas, en donde cada una comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:96 y un par de cadenas ligeras, en donde cada una comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:90, o un par de cadenas pesadas, en donde cada una comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:98 y un par de cadenas ligeras, en donde cada una comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:94, o un par de cadenas pesadas, en donde cada una comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:100 y un par de cadenas ligeras, en donde cada una comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:102, o un par de cadenas pesadas, en donde cada una comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:104 y un par de cadenas ligeras, en donde cada una comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:106, o un par de cadenas pesadas, en donde cada una comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:112 y un par de cadenas ligeras, en donde cada una comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:114, o un par de cadenas pesadas, en donde cada una comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:116 y un par de cadenas ligeras, en donde cada una comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:118.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la divulgación, un anticuerpo monoclonal aislado o un fragmento de fijación al antígeno de este que se fija específicamente a IL-17A (SEQ ID NO:2) e IL-17F (SEQ ID NO:4) comprende un dominio variable de la cadena pesada y un dominio variable de la cadena ligera, en donde el dominio variable de la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos de SEQ ID NO:13 y un dominio variable de la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos de SEQ ID NO:9. Opcionalmente, el anticuerpo monoclonal comprende una región constante humana, por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. La región constante humana IgG4 puede tener una mutación serina a prolina en la posición 241 de acuerdo con Kabat. Opcionalmente, la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos de SEQ ID NO:16, 18, 28, 29 o 74. Opcionalmente, la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos de SEQ ID NO:17. Opcionalmente, la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos de SEQ ID NO:16, 18, 28, 29 o 74, y la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos de SEQ ID NO:17. Opcionalmente, un anticuerpo biespecífico comprende el anticuerpo monoclonal.

Las regiones constantes de la cadena pesada y de la cadena ligera incluyen IgG1.1 (SEQ ID NO:11, que puede ser codificada por SEQ ID NO:82), IgG1.1f sin lisina del terminal C (SEQ ID NO:127), IgG1.1f con una lisina del terminal C (SEQ ID NO:128), región constante kappa humana (SEQ ID NO:10, que puede ser codificada por SEQ ID NO:83), o IgG4.1 (SEQ ID NO:8). El dominio constante de la cadena pesada de IgG4 puede incluir una variante de IgG4 de tipo silvestre que tiene una mutación en la región bisagra, S228P (sistema de numeración del índice de la UE) o S241P (sistema de numeración Kabat). El cambio de serina en 241 (Kabat) a prolina (que se encuentra en esa posición en IgG1 e IgG2) en una cadena pesada quimérica de ratón/humana genera la producción de un anticuerpo homogéneo y elimina la heterogeneidad. Además, la variante de IgG4 tiene una vida media sérica considerablemente extendida y muestra una mejor distribución del tejido en comparación con la IgG4 quimérica original. Angal et al., Molecular Immunology, 30(1):105-108 (1993); Schuurman et al., Molecular Immunology, 38:1-8 (2001); Lewis et al., Molecular Immunology, 46:3488-3494 (2009).

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la divulgación, un anticuerpo monoclonal aislado o un fragmento de fijación al antígeno de este que se fija específicamente a IL-23p19 (SEQ ID NO:6) comprende un dominio variable de la cadena pesada y un dominio variable de la cadena ligera, en donde el dominio variable de la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos de SEQ ID NO:7, y en donde el dominio variable de la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos de SEQ ID NO:9. Opcionalmente, el anticuerpo monoclonal comprende una región constante humana, por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. Opcionalmente, la región constante humana IgG4 tiene una mutación serina a prolina en la posición 241 de acuerdo con Kabat. Opcionalmente, la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos de SEQ ID NO:16, 18, 28, 29 o 74. Opcionalmente, la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos de SEQ ID NO:17. Opcionalmente, la cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos de SEQ ID NO:16, 18, 28, 29 o 74, y la cadena ligera comprende los residuos de aminoácidos de SEQ ID NO:17. Opcionalmente, un anticuerpo biespecífico comprende el anticuerpo monoclonal.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la divulgación, el anticuerpo, el anticuerpo biespecífico o el fragmento de fijación al antígeno de este se fijan específicamente a IL-23p19, en donde el anticuerpo o el fragmento de fijación al antígeno de este se fijan a un epítopo discontinuo en IL-23p19 que comprende un primer epítopo y un segundo epítopo, en donde el primer epítopo consiste en al menos un aminoácido de los residuos de aminoácidos 33-59 de SEQ ID NO:6 y el segundo epítopo consiste en al menos un aminoácido de los residuos de aminoácidos 89-125 de SEQ ID NO:6. Opcionalmente, el anticuerpo, el anticuerpo biespecífico o un fragmento de fijación al antígeno de este se fijan al menos al residuo de aminoácido 54 de SEQ ID NO:6 del primer epítopo. Opcionalmente, el anticuerpo, el anticuerpo biespecífico o un fragmento de fijación al antígeno de este se fijan al menos al residuo de aminoácido 55 de SEQ ID NO:6 del primer epítopo. Opcionalmente, el anticuerpo, el anticuerpo biespecífico o un fragmento de fijación al antígeno de este se fijan al menos a los residuos de aminoácidos 54 y 55 de SEQ ID NO:6 del primer epítopo. Opcionalmente, el anticuerpo, el anticuerpo biespecífico o un fragmento de fijación al antígeno de este se fijan al menos al residuo de aminoácido 116 de SEQ ID NO:6 del segundo epítopo. Opcionalmente, el anticuerpo, el anticuerpo biespecífico o un fragmento de fijación al antígeno de este se fijan al menos a los residuos de aminoácidos 54 y 55 de SEQ ID NO:6 del primer epítopo, y al menos al residuo de aminoácido 116 de SEQ ID NO:6 del segundo epítopo.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la divulgación, el anticuerpo, el anticuerpo biespecífico o un fragmento de fijación al antígeno de este se fijan específicamente a IL-23p19, en donde el anticuerpo o el fragmento de fijación al antígeno se fijan a un epítopo discontinuo en IL-23p19 que comprende un primer epítopo y un segundo epítopo, en donde el anticuerpo o el fragmento de fijación al antígeno se fijan al menos a los residuos de aminoácidos 54 y 55 de SEQ ID NO:6 del primer epítopo, y al menos al residuo de aminoácido 116 de SEQ ID NO:6 del segundo epítopo.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la invención, una entidad de fijación a IL-17A/F se fija específicamente a IL-17A (homodímero de IL-17A/IL-17A y heterodímero de IL-17A/IL-17F) en el epítopo que comprende al menos el residuo de aminoácido 108 (Tyr) de SEQ ID NO:2, en donde la entidad de fijación a IL-17A/F es un anticuerpo monoclonal o un fragmento de fijación al antígeno de este. Opcionalmente, el epítopo en IL-17A se determina mediante mutagénesis de alanina y/o cristalografía de rayos X. El epítopo en el cual la entidad de fijación a IL-17A/F se fija a IL-17A puede ser un epítopo continuo o discontinuo.

En otra forma de realización de los aspectos anteriores de la invención, el anticuerpo monoclonal de reacción cruzada con IL-17A/F o un fragmento de fijación al antígeno de este se fija a IL-17A en un epítopo que comprende al menos el residuo de aminoácido 108 (Tyr) de SEQ ID NO:2. Opcionalmente, el epítopo en IL-17A se determina mediante mutagénesis de alanina y/o cristalografía de rayos X. El epítopo en el cual el anticuerpo monoclonal de reacción cruzada con IL-17A/F o un fragmento de fijación al antígeno de este se fijan a IL-17A puede ser un epítopo continuo o discontinuo.

Los anticuerpos biespecíficos de la invención se pueden usar solos o como inmunoconjugados con un agente citotóxico. En algunas formas de realización, el agente es un agente quimioterapéutico. En algunas formas de realización, el agente es un radioisótopo, que incluye, entre otros, plomo-212, bismuto-212, astatina-211, yodo-131, escandio-47, renio-186, renio-188, itrio-90, yodo-123, yodo-125, bromo-77, indio-111 y núclidos que se pueden someter a fisión, tales como boro-10 o una actinida. En otras formas de realización, el agente es una toxina o un fármaco citotóxico, que incluye, entre otros, ricina, abrina, enterotoxina A de *Pseudomonas* modificada, exotoxina de *Pseudomonas*, calicheamicina, adriamicina, 5-fluorouracilo, toxina difteria y similares. En la literatura se conocen los métodos de conjugación de los anticuerpos con esos agentes e incluyen la conjugación directa e indirecta.

Las moléculas detectables adecuadas pueden unirse directa o indirectamente a los anticuerpos de la presente invención. moléculas detectables adecuadas incluyen radionúclidos, enzimas, sustratos, cofactores, inhibidores, marcadores fluorescentes, marcadores quimioluminiscentes, partículas magnéticas y similares. Para la unión indirecta de una molécula detectable o citotóxica, la molécula detectable o citotóxica se puede conjugar con un miembro de un par complementario/anticomplementario, en donde el otro miembro se fija a la porción de anticuerpo o polipéptido de fijación. Para estos fines, la biotina/estreptavidina es un ejemplo de un par complementario/anticomplementario.

Los anticuerpos biespecíficos de la invención también incluyen derivados que se modifican, por ejemplo, por la unión covalente de cualquier tipo de molécula al anticuerpo, de modo que esa unión covalente no evite que el anticuerpo se fije a su epítopo. Los ejemplos de derivados adecuados incluyen, entre otros, anticuerpos fucosilados, anticuerpos glucosilados, anticuerpos acetilados, anticuerpos pegilados, anticuerpos fosforilados y anticuerpos amidados. Los anticuerpos y sus derivados de la invención pueden derivatizarse por sí mismos mediante grupos de protección/bloqueo conocidos, escisión proteolítica, enlaces con un ligando celular u otras proteínas, y similares. En algunas formas de realización de la invención, al menos una cadena pesada del anticuerpo es fucosilada. En algunas formas de realización, la fucosilación está ligada a N. En algunas formas de realización preferidas, al menos una cadena pesada del anticuerpo comprende un oligosacárido fucosilado ligado a N.

Los anticuerpos biespecíficos de la invención incluyen variantes que tienen sustituciones, eliminaciones, adiciones o reemplazos de aminoácidos simples o múltiples que conservan las propiedades biológicas (por ejemplo, bloquear la fijación de IL-17A o IL-17F y/o IL-23 a sus respectivos receptores, inhibir la actividad biológica de IL-17A, IL-17F e IL-23) de los anticuerpos de la invención. La persona del oficio de nivel medio puede producir variantes que tienen sustituciones, eliminaciones, adiciones o reemplazos de aminoácidos simples o múltiples. Estas variantes pueden incluir, entre otras: (a) variantes en las que uno o más residuos de aminoácidos se sustituyen con aminoácidos conservados o no conservados, (b) variantes en las que se agregan uno o más aminoácidos al polipéptido o se eliminan de él, (c) variantes en las que uno o más aminoácidos incluyen un grupo sustituyente, y (d) variantes en las que el polipéptido se fusiona con otro péptido o polipéptido, tal como un socio de fusión, una etiqueta de proteína u otra porción química, que pueden conferir al polipéptido propiedades útiles, tales como un epítopo para un anticuerpo, una secuencia de polihistidina, una porción de biotina y similares. Los anticuerpos de la invención pueden incluir variantes en las que los residuos de aminoácidos de una especie se sustituyen con el residuo correspondiente en otra especie, ya sea en las posiciones conservadas o no conservadas. En otra forma de realización, los residuos de aminoácidos en las posiciones no conservadas se sustituyen con residuos conservados o no conservados. La persona del oficio de nivel medio conoce las técnicas para obtener estas variantes, que incluyen técnicas genéticas (supresiones, eliminaciones, mutaciones, etc.), químicas y enzimáticas.

La invención también incluye ácidos nucleicos aislados que codifican los anticuerpos biespecíficos de la invención, que incluyen, por ejemplo, la cadena ligera, la región variable de la cadena ligera, la región constante de la cadena ligera, la cadena pesada, la región variable de la cadena pesada, la región constante de la cadena pesada, ligadores y todos los componentes y las combinaciones de estos de los anticuerpos biespecíficos descritos en la presente. Los ácidos nucleicos de la invención incluyen ácidos nucleicos que tienen al menos 80 %, con mayor preferencia, al menos alrededor de 90 %, con mayor preferencia, al menos alrededor de 95 % y, con máxima preferencia, al menos alrededor de 98 % de homología con los ácidos nucleicos de la invención. Las expresiones "porcentaje de similitud", "porcentaje de identidad" y "porcentaje de homología", cuando se refieren a una secuencia particular, se usan como lo indica el programa de software GCG® de la Universidad de Wisconsin. Los ácidos nucleicos de la invención también incluyen ácidos nucleicos complementarios. En algunos casos, las secuencias serán totalmente complementarias (sin errores de apareamiento) cuando estén alineadas. En otros casos, puede haber hasta alrededor de 20 % de errores de apareamiento en las secuencias. En algunas formas de realización de la invención se proveen ácidos nucleicos que codifican una cadena pesada y una cadena ligera de un anticuerpo de la invención.

Los ácidos nucleicos de la invención se pueden clonar en un vector, tal como un plásmido, cósmido, bácmido, fago, cromosoma artificial (BAC, YAC) o virus, en el cual se puede insertar otra secuencia genética o elemento (ADN o ARN), a fin de producir la replicación de la secuencia o del elemento unidos. En algunas formas de realización, el vector de expresión contiene un segmento promotor constitutivamente activo (tal como secuencias de CMV, SV40, factor de alargamiento o LTR) o una secuencia del promotor inducible, tal como el vector pIND inducible por esteroides (Invitrogen), en donde se puede regular la expresión del ácido nucleico. Los vectores de expresión de la invención también pueden comprender secuencias reguladoras, por ejemplo, un sitio interno de entrada al ribosoma. El vector de expresión se puede introducir en una célula, por ejemplo, mediante transfección.

Por eso, en otra forma de realización, la presente invención provee un vector de expresión como se define en las reivindicaciones que comprende los siguientes elementos ligados operativamente: un promotor de la transcripción; una molécula de ácido nucleico que codifica la cadena pesada de un anticuerpo biespecífico de la invención como se define en las reivindicaciones; y un terminador de la transcripción. En otra forma de realización, la presente invención provee un vector de expresión como se define en las reivindicaciones que comprende los siguientes elementos ligados operativamente: un promotor de la transcripción; una molécula de ácido nucleico que codifica la cadena ligera de un anticuerpo biespecífico de la invención como se define en las reivindicaciones; y un terminador de la transcripción. También se proveen células huésped recombinantes que comprenden dichos vectores y expresan las cadenas pesadas y livianas.

En otra forma de realización, la presente invención provee un vector de expresión como se define en las reivindicaciones que comprende los siguientes elementos ligados operativamente: un promotor de la transcripción; una primera molécula de ácido nucleico que codifica la cadena pesada de un anticuerpo biespecífico de la invención como se define en las reivindicaciones; una segunda molécula de ácido nucleico que codifica la cadena ligera de un anticuerpo biespecífico, de la invención como se define en las reivindicaciones; y un terminador de la transcripción. En una forma de realización de la divulgación, la presente invención provee un vector de expresión que comprende

los siguientes elementos ligados operativamente: un primer promotor de la transcripción; una primera molécula de ácido nucleico que codifica la cadena pesada de un anticuerpo biespecífico de la invención; un primer terminador de la transcripción; un segundo promotor de la transcripción; una segunda molécula de ácido nucleico que codifica la cadena ligera de un anticuerpo biespecífic, de la invención; y un segundo terminador de la transcripción. También se proveen células huésped recombinantes que comprenden dichos vectores y expresan las cadenas pesadas y livianas como se define en las reivindicaciones.

Se pueden usar células productoras de anticuerpos que contienen un ácido nucleico que codifica la cadena pesada y un ácido nucleico que codifica la cadena ligera de los anticuerpos biespecíficos, los anticuerpos o los fragmentos de fijación al antígeno de la invención para producir los anticuerpos biespecíficos, los anticuerpos o los fragmentos de fijación al antígeno de acuerdo con las técnicas conocidas en el estado de la técnica. En una forma de realización, la presente invención provee un método para producir un anticuerpo biespecífico, un anticuerpo o un fragmento de fijación al antígeno de la invención, que comprende cultivar una célula huésped recombinante que expresa la cadena pesada y la cadena ligera como se define en las reivindicaciones y aislar el anticuerpo biespecífico producido por la célula.

La célula huésped recombinante puede ser una célula procariótica, por ejemplo, una célula de *E. coli*, o una célula eucariótica, por ejemplo, una célula de mamífero o una célula de levadura. Las células de levadura incluyen células de *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe* y *Pichia pastoris*. Las células de mamíferos incluyen células VERO, células HeLa, células de ovario de hámster chino (CHO), células W138, células de riñón de hámster bebé (BHK), células COS-7, células MDCK, línea celular de riñón embrionario humano 293, líneas celulares de riñón de perro normal, líneas celulares de riñón de gato normal, células de riñón de mono, células de riñón de mono verde africano, células COS, células G8 de mioblastos de ratón no oncógenos, líneas celulares de fibroblastos, líneas celulares de mieloma, células NIH/3T3 de ratón, células LMTK31, células de Sertoli de ratón, células del carcinoma del cuello uterino humano, células de hígado de ratas búfalo, células de pulmón humano, células de hígado humano, células de tumores de mama de ratón, células TRI, células MRC 5 y células FS4. Las células productoras de anticuerpos de la invención también incluyen cualquier línea celular de expresión de insecto conocida, tal como las células de *Spodoptera frugiperda*. En una forma de realización preferida, las células son células de mamíferos. En otra forma de realización preferida, las células de mamíferos son células CHO.

Preferentemente, las células productoras de anticuerpos están sustancialmente libres de competidores de fijación a IL-17A, IL-17F e IL-23. En formas de realización preferidas, las células productoras de anticuerpos comprenden menos de alrededor de 10 %, preferentemente, menos de alrededor de 5 %, con mayor preferencia, menos de alrededor de 1 %, con mayor preferencia, menos de alrededor de 0,5 %, con mayor preferencia, menos de alrededor de 0,1 % y, con máxima preferencia, 0 % en peso de competidores de fijación a IL-17A, IL-17F o IL-23. En algunas formas de realización, los anticuerpos producidos por las células productoras de anticuerpos están sustancialmente libres de competidores de IL-17A, IL-17F e IL-23. En formas de realización preferidas, los anticuerpos producidos por las células productoras de anticuerpos comprenden menos de alrededor de 10 %, preferentemente, menos de alrededor de 5 %, con mayor preferencia, menos de alrededor de 1 %, con mayor preferencia, menos de alrededor de 0,5 %, con mayor preferencia, menos de alrededor de 0,1 % y, con máxima preferencia, 0 % en peso de competidores de fijación a IL-17 e IL-23.

En el estado de la técnica se conocen métodos de purificación de anticuerpos. En algunas formas de realización de la invención, los métodos para la purificación de anticuerpos incluyen filtración, cromatografía de columna de afinidad, cromatografía de intercambio catiónico, cromatografía de intercambio aniónico y concentración. La etapa de filtración comprende, preferentemente, ultrafiltración y, con mayor preferencia, ultrafiltración y diafiltración. La filtración se realiza, preferentemente, al menos alrededor de 5-50 veces, con mayor preferencia, de 10 a 30 veces y, con máxima preferencia, de 14 a 27 veces. La cromatografía de columna de afinidad se puede realizar, por ejemplo, usando cromatografía de afinidad PROSEP® (Millipore, Billerica, Mass.). En una forma de realización preferida, la etapa de cromatografía de afinidad comprende cromatografía en columna PROSEP®-vA. El eluato se puede lavar en un detergente solvente. La cromatografía de intercambio catiónico puede incluir, por ejemplo, cromatografía de intercambio catiónico SP-Sepharose. La cromatografía de intercambio aniónico puede incluir, por ejemplo, intercambio aniónico de flujo rápido Q-Sepharose. Preferentemente, la etapa de intercambio aniónico no es de fijación, lo que permite la eliminación de contaminantes, que incluyen ADN y BSA. Preferentemente, el producto de anticuerpo se nanofiltra, por ejemplo, usando un nanofiltro Pall DV 20. El producto de anticuerpo se puede concentrar, por ejemplo, usando ultrafiltración y diafiltración. El método también puede comprender una etapa de cromatografía de exclusión por tamaño para retirar los agregados.

Los anticuerpos biespecíficos, los anticuerpos o los fragmentos de fijación al antígeno también se pueden producir mediante otros métodos conocidos en el estado de la técnica, por ejemplo, mediante acoplamiento químico de anticuerpos y fragmentos de anticuerpos.

Los anticuerpos biespecíficos de la presente invención son útiles, por ejemplo, para la inhibición de citocinas proinflamatorias, tales como IL-17A, IL-17F e IL-23/p19. Los anticuerpos se pueden usar para reducir, limitar, neutralizar o bloquear los efectos proinflamatorios del homodímero de IL-17A, el homodímero de IL-17F y/o el heterodímero de IL-17A/F. Asimismo, los anticuerpos se pueden usar para reducir, limitar, neutralizar o bloquear los

efectos procancerosos del homodímero de IL-17A, del homodímero de IL-17F o del heterodímero de IL-17A/F. En esos casos, la porción anti-IL-23p19 del anticuerpo se usa para reducir, limitar, neutralizar o bloquear la producción de nuevos linfocitos T que producirían IL-17A y/o IL-17F, incluidos los homodímeros y heterodímeros. Los anticuerpos biespecíficos, los anticuerpos o los fragmentos de fijación al antígeno descritos en la presente se pueden usar para tratar trastornos inflamatorios y enfermedades autoinmunitarias, tales como esclerosis múltiple, (por ejemplo, esclerosis múltiple con recidiva-remisión, esclerosis múltiple progresiva secundaria, esclerosis múltiple progresiva primaria y esclerosis múltiple progresiva con recidiva), fibrosis quística, enfermedad intestinal inflamatoria, psoriasis, esclerosis sistémica, lupus eritematoso sistémico, nefritis lúpica, nefropatía por IgA, enfermedad renal diabética, enfermedad por cambios mínimos (nefrosis lipoidea), glomerulosclerosis focal y segmentaria (GESF), fibrosis sistémica nefrogénica (FSN), dermopatía fibrosante nefrogénica, hepatitis colestásica fibrosante, fascitis eosinofílica (síndrome de Shulman), escleromixedema (mucinosis popular), esclerodermia, liquen escleroso y atrófico, síndrome de POEM (síndrome de Crow-Fukase, enfermedad de Takatsuki o síndrome de PEP), síndrome nefrótico, enfermedad del injerto contra el huésped (GVHD), enfermedad del injerto contra el huésped (GVHD) (de un trasplante, tal como de sangre, médula ósea, riñón, páncreas, hígado, hígado ortotópico, pulmón, corazón, intestino, intestino delgado, intestino grueso, timo, células madre de aloinjerto, aloinjerto de menor intensidad, hueso, tendón, córnea, piel, válvulas cardíacas, venas, arterias, vasos sanguíneos, estómago y testículo), vasculitis asociada a anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos (ANCA) (AAV), arteritis de células gigantes y enfermedad osteolítica inducida por mieloma múltiple. Los anticuerpos biespecíficos, los anticuerpos o los fragmentos de fijación al antígeno descritos en la presente también se pueden usar para tratar el cáncer, lo que incluye angiogénesis.

Los anticuerpos biespecíficos de la presente invención inhiben la actividad de IL-17A y/o IL-17F e IL-23 (mediante la subunidad p19) y, por lo tanto, inhiben la producción, el mantenimiento y la actividad de linfocitos T (Th17) productores de IL-17, IL-17A e IL-17F nuevos y existentes. La invención también se refiere al uso de los anticuerpos biespecíficos, los anticuerpos o los fragmentos de fijación al antígeno de la presente invención para el tratamiento de enfermedades inflamatorias caracterizadas por la presencia de niveles elevados de IL-17A, IL-17F y/o IL-23, y para el tratamiento de tipos de cáncer caracterizados por la presencia de niveles elevados de IL- 17A, IL-17F y/o IL-23.

Los anticuerpos biespecíficos de la presente invención pueden bloquear, inhibir, reducir, antagonizar o neutralizar la actividad de IL-17A, IL-17F (lo que incluye homodímeros y heterodímeros) e IL-23/p19 y, por eso, son más convenientes que otras terapias que solo se dirigen a una o dos de estas tres citocinas.

Por lo tanto, los anticuerpos son útiles para:

(1) Bloquear, inhibir, reducir, antagonizar o neutralizar la señalización mediante IL-17A o IL-17F e IL-23 para el tratamiento de cáncer, inflamación aguda y enfermedades inflamatorias crónicas, tales como enfermedad intestinal inflamatoria (IBD), enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, síndrome del colon irritable (IBS), fibrosis quística, colitis crónica, síndrome de Sjögren, esplenomegalia, inflamación en enfermedad renal crónica (CKD), psoriasis, artritis psoriásica, artritis reumatoide y otras enfermedades asociadas a la inducción de la respuesta de fase aguda.

(2) Bloquear, inhibir, reducir, antagonizar o neutralizar la señalización mediante IL-17A, IL-17F o IL-23 para el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias, tales como diabetes mellitus insulinodependiente (IDDM), esclerosis múltiple (MS) (por ejemplo, esclerosis múltiple con recidiva-remisión, esclerosis múltiple progresiva secundaria, esclerosis múltiple progresiva primaria y esclerosis múltiple progresiva con recidiva), lupus eritematoso sistémico (SLE), miastenia grave, artritis reumatoide, síndrome de Sjögren, IBS e IBD para prevenir o inhibir la señalización en las células inmunitarias (por ejemplo, linfocitos, monocitos, leucocitos) por medio de sus receptores (por ejemplo, IL-23Rα, IL-12Rβ1, IL-17RA e IL-17RC). El bloqueo, la inhibición, la reducción o la antagonización de la señalización mediante IL-23Rα, IL-12Rβ1, IL-17RA e IL-17RC, usando los anticuerpos de la presente invención, también son beneficiosos contra enfermedades del páncreas, del riñón y de las células pituitarias y neuronales y pueden ser útiles para tratar IDDM, diabetes mellitus no insulinodependiente (NIDDM), pancreatitis y carcinoma pancreático.

Por ejemplo, los anticuerpos biespecíficos de la presente invención son útiles para el tratamiento terapéutico de enfermedades inflamatorias, en particular, como antagonistas de IL-17A, IL-17F e IL-23/p19, y para el tratamiento de enfermedades inflamatorias, tales como esclerosis múltiple (MS) (por ejemplo, esclerosis múltiple con recidiva-remisión, esclerosis múltiple progresiva secundaria, esclerosis múltiple progresiva primaria y esclerosis múltiple progresiva con recidiva), enfermedad intestinal inflamatoria (IBD) y cáncer. Estos antagonistas son capaces de fijar, bloquear, inhibir, reducir, antagonizar o neutralizar IL-17A, IL-17F, sus homodímeros y heterodímeros, e IL-23 (mediante p19) (ya sea en forma individual o conjunta) para el tratamiento de dermatitis atópica y por contacto, esclerosis sistémica, lupus eritematoso sistémico (SLE), vasculitis asociada a anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos (ANCA) (AAV), arteritis de células gigantes, esclerosis múltiple (MS) (por ejemplo, esclerosis múltiple con recidiva-remisión, esclerosis múltiple progresiva secundaria, esclerosis múltiple progresiva primaria y esclerosis múltiple progresiva con recidiva), colitis, endotoxinemia, artritis, artritis reumatoide (RA), síndrome de Sjögren, artritis psoriásica, enfermedad respiratoria adulta (ARD), choque séptico, insuficiencia multiorgánica, lesiones pulmonares inflamatorias, tales como fibrosis pulmonar idiopática, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), hiperreactividad de las vías aéreas, bronquitis crónica, asma alérgica, psoriasis, eccema, IBS y enfermedad intestinal inflamatoria (IBD), tal como colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn, infección por *Helicobacter pylori*, nefritis lúpica,

nefropatía por IgA, enfermedad renal diabética, enfermedad por cambios mínimos (nefrosis lipoidea), glomerulosclerosis focal y segmentaria (GESF), fibrosis sistémica nefrogénica (FSN), dermopatía fibrosante nefrogénica, hepatitis colestásica fibrosante, fascitis eosinofílica (síndrome de Shulman), escleromixedema (mucinosis popular), esclerodermia, liquen escleroso y atrófico, síndrome de POEM (síndrome de Crow-Fukase, enfermedad de Takatsuki o síndrome de PEP), síndrome nefrótico, rechazo al trasplante, enfermedad del injerto contra el huésped (GVHD), enfermedad del injerto contra el huésped (GVHD) (de un trasplante, tal como de sangre, médula ósea, riñón, páncreas, hígado, hígado ortotópico, pulmón, corazón, intestino, intestino delgado, intestino grueso, timo, células madre de aloinjerto, aloinjerto de menor intensidad, hueso, tendón, córnea, piel, válvulas cardíacas, venas, arterias, vasos sanguíneos, estómago y testículo), adhesiones y/o abscesos intraabdominales causados por inflamación peritoneal (por ejemplo, por infecciones, lesiones, etc.), síndrome nefrótico, fibrosis quística (Tan, H. L. et al., *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *184*(2):252-258 (2011)), enfermedad osteolítica (por ejemplo, enfermedad osteolítica inducida por mieloma múltiple) (Sotomayor, E. M., *Blood*, *116*(18):3380-3382 (2010)), rechazo al aloinjerto de órganos, artritis inducida por la pared celular estreptocócica (SCW), osteoartritis, gingivitis/periodontitis, queratitis herpética estromal, reestenosis, enfermedad de Kawasaki, degeneración macular relacionada con la edad (AMD; por ejemplo, AMD húmeda y AMD seca) (Wei, Lai et al., *Cell Reports*, *2*:1151-1158 (29 de noviembre de 2012), enfermedades renales inmunitarias, fibrosis hepática (Meng, F. et al., *Gastroenterology*, *143*:765-776 (2012), fibrosis pulmonar (Meng, Fanli et al., *Gastroenterology*, *143*:765-776 (2012), enfermedades hepatobiliares, miocarditis (Ding, H. S., *Mol. Biol. Rep.*, 39(7):7473-7478 (14 de febrero de 2012); Valente, A. J. et al., *Cellular Signalling*, 24:560-568 (2012)), fibrosis cardíaca (Valente, A. J. et al., *Cellular Signalling*, 24:560-568 (2012)), reestructuración cardíaca adversa (Valente, A. J. et al., *Cellular Signalling*, 24:560-568 (2012)), ateroesclerosis (Ding, H.S., *Mol. Biol. Rep.*, 39(7):7473-7478 (Feb. 14, 2012), lesión cardíaca por isquemia/revascularización (Ding, H.-S., *Mol. Biol. Rep.*, 39(7):7473-7478 (14 de febrero de 2012), insuficiencia cardíaca (Ding, H.-S., *Mol. Biol. Rep.*, *39*(7):7473-7478 (14 de febrero de 2012) y cáncer/enfermedades neoplásicas que se caracterizan por la expresión de IL-17 y/o IL-23, lo que incluye, entre otros, cáncer de próstata, cáncer renal, cáncer de colon, cáncer de ovarios y cáncer de cuello uterino y leucemias (Tartour et al, 59:3698 (1999); Kato et al*., Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 282:735 (2001); Steiner et al*., Prostate*, 56:171 (2003); Langowksi et al*., Nature*, 10 de mayo [publicación electrónica antes de la impresión], (2006)).

Por ejemplo, los anticuerpos biespecíficos de la presente invención son útiles, por ejemplo, como antagonistas de IL-17A, IL-17F e IL-23/p19, para el tratamiento terapéutico de enfermedades inflamatorias, en particular, para el tratamiento del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA, que es una enfermedad viral con un componente autoinmunitario), alopecia areata, espondilitis anquilosante, síndrome antifosfolipídico, enfermedad autoinmunitaria de Addison, anemia hemolítica autoinmunitaria, hepatitis autoinmunitaria, enfermedad autoinmunitaria del oído interno (AIED), síndrome linfoproliferativo autoinmunitario (ALPS), púrpura trombocitopénica autoinmunitaria (ATP), enfermedad de Behcet, miocardiopatía, dermatitis hepetiforme celíaca; síndrome de fatiga crónica y disfunción inmunitaria (CFIDS), polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIPD), penfigoide cicatricial, enfermedad de la aglutinina fría, síndrome de CREST, enfermedad de Degos, dermatomiositis juvenil, lupus discoide (por ejemplo, lupus eritematoso discoide en la infancia, lupus eritematoso discoide generalizado y lupus eritematoso discoide localizado), lupus eritematoso de sabañones, síndrome de superposición de liquen plano con lupus eritematoso, paniculitis lúpica asociada a lupus eritematoso, lupus eritematoso tumidus, lupus eritematoso cutáneo verrucoso, lupus eritematoso sistémico, lupus eritematoso cutáneo subagudo, lupus eritematoso cutáneo agudo, crioglobulinemia mixta esencial, fibromialgia-fibromiositis, enfermedad de Graves, síndrome de Guillain-Barré, tiroiditis de Hashimoto, fibrosis pulmonar idiopática, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), nefropatía por IgA, diabetes mellitus insulinodependiente, artritis crónica juvenil (enfermedad de Still), artritis reumatoide juvenil, artritis reumatoide (RA), enfermedad de Meniere, enfermedad del tejido conectivo mixto, esclerosis múltiple (MS) (por ejemplo, esclerosis múltiple con recidiva-remisión, esclerosis múltiple progresiva secundaria, esclerosis múltiple progresiva primaria y esclerosis múltiple progresiva con recidiva), miastenia grave, anemia perniciosa, poliarteritis nodosa, policondritis, síndromes poliglandulares, polimialgia reumática, polimiositis y dermatomiositis, agammaglobulinemia primaria, cirroris biliar primaria, eccema, psoriasis, artritis psoriásica, fenómeno de Raynaud, síndrome de Reiter, enfermedad respiratoria adulta (ARD), fiebre reumática, artritis, sarcoidosis, esclerodermia (por ejemplo, esclerosis sistémica progresiva (PSS), también conocida como esclerosis sistémica (SS)), síndrome de Sjögren, síndrome de la persona rígida, lupus eritematoso sistémico (SLE), vasculitis asociada a anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos (ANCA) (AAV), arteritis de células gigantes, arteritis de Takayasu, arteritis temporal/arteritis de células gigantes, endotoxia, sepsis o choque séptico, síndrome de choque tóxico, insuficiencia multiorgánica, lesión pulmonar inflamatoria, tal como fibrosis pulmonar idiopática, colitis, enfermedad intestinal inflamatoria (IBD), tal como colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn, síndrome del colon irritable (IBS), uveítis, vitiligo, granulomatosis de Wegener, enfermedad de Alzheimer, alergia atópica, alergia, asma, arma bronquial, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), hiperreactividad de las vías aéreas, asma alérgica, glomerulonefritis, anemias hemolíticas, infección por *Helicobacter pylori*, adhesiones y/o abscesos intraabdominales causados por inflamación peritoneal (por ejemplo, por infecciones, lesiones, etc.), síndrome nefrótico, polineuropatía desmielinizante idiopática, síndrome de Guillain-Barré, rechazo al aloinjerto de órganos, nefritis lúpica, nefropatía por IgA, enfermedad renal diabética, enfermedad por cambios mínimos (nefrosis lipoideas), glomerulosclerosis focal y segmentaria (GESF), fibrosis sistémica nefrogénica (FSN), dermopatía fibrosante nefrogénica, hepatitis colestásica fibrosante, fascitis eosinofílica (síndrome de Shulman), escleromixedema (mucinosis popular), esclerodermia, liquen escleroso y atrófico, síndrome de POEM (síndrome de Crow-Fukase, enfermedad de Takatsuki o síndrome de PEP), síndrome nefrótico, enfermedad del injerto contra el huésped (GVHD), enfermedad del injerto contra el huésped (GVHD) (de

un trasplante, tal como de sangre, médula ósea, riñón, páncreas, hígado, hígado ortotópico, pulmón, corazón, intestino, intestino delgado, intestino grueso, timo, células madre de aloinjerto, aloinjerto de menor intensidad, hueso, tendón, córnea, piel, válvulas cardíacas, venas, arterias, vasos sanguíneos, estómago y testículo), enfermedad osteolítica (por ejemplo, enfermedad osteolítica inducida por mieloma múltiple), fibrosis quística, degeneración mascular relacionada con la edad (AMD; por ejemplo, AMD húmeda y AMD seca), fibrosis hepática, fibrosis pulmonar, ateroesclerosis, lesión cardíaca por isquemia/revascularización, insuficiencia cardíaca, miocarditis, fibrosis cardíaca, reestructuración cardíaca adversa, retinopatía diabética y lesión pulmonar inducida por la ventilación mecánica.

En consecuencia, en una forma de realización, la presente invención provee un método para inhibir una o más citocinas proinflamatorias, por ejemplo, IL-17A, IL-17F e IL-23, en un mamífero que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo biespecífico, un anticuerpo o un fragmento de fijación al antígeno a un mamífero que necesita el tratamiento. En una forma de realización preferida, el mamífero es un ser humano. El método se puede usar para tratar un trastorno caracterizado por la expresión elevada de IL-17A, IL-17F o IL-23. El anticuerpo biespecífico, el anticuerpo o el fragmento de fijación al antígeno se pueden administrar con otro agente farmacéutico, ya sea en la misma formulación o en forma separada.

En otra forma de realización, la presente invención provee un método para tratar un trastorno inmunitario en un mamífero que lo necesita, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un polipéptido IL-17A/F, un agonista o un antagonista de este (tal como una entidad de fijación a IL-17A/F que incluye un anticuerpo de reactividad cruzada con IL-17A/F). En un aspecto preferido, el trastorno inmunitario se selecciona del grupo que consiste en: lupus eritematoso sistémico (SLE), artritis reumatoide (RA), osteoartritis, artritis crónica juvenil, espondiloartropatías, esclerosis sistémica, miopatías inflamatorias idiopáticas, síndrome de Sjögren, vasculitis sistémica, sarcoidosis, anemia hemolítica autoinmunitaria, trombocitopenia autoinmunitaria, tiroiditis, diabetes mellitus, enfermedad renal inmunitaria, enfermedades desmielinizantes de los sistemas nerviosos central y periférico, tales como esclerosis múltiple (MS) (por ejemplo, esclerosis múltiple con recidiva-remisión, esclerosis múltiple progresiva secundaria, esclerosis múltiple progresiva primaria y esclerosis múltiple progresiva con recidiva), polineuropatía desmielinizante idiopática o síndrome de Guillain-Barré, y polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, enfermedades hepatobiliares, tales como hepatitis activa crónica autoinmunitaria infecciosa, cirrosis biliar primaria, hepatitis granulomatosa y colangitis esclerosante, enfermedad intestinal inflamatoria (IBD), enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, enteropatía sensible al gluten y enfermedad de Whipple, enfermedades autoinmunitarias o inmunitarias de la piel, que incluyen enfermedades ampoilosas de la piel, eritema multiforme y dermatitis por contacto, vasculitis asociada a anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos (ANCA) (AAV), arteritis de células gigantes, psoriasis, artritis psoriásica, enfermedades alérgicas, tales como asma, rinitis alérgica, dermatitis atópica, hipersensibilidad a los alimentos y urticaria, enfermedades inmunológicas del pulmón, tales como neumonía eosinofílica, fibrosis pulmonar idiopática y neumonitis por hipersensibilidad, nefritis lúpica, nefropatía por IgA, enfermedad renal diabética, enfermedad por cambios mínimos (nefrosis lipoidea), glomerulosclerosis focal y segmentaria (GESF), fibrosis sistémica nefrogénica (FSN), dermopatía fibrosante nefrogénica, hepatitis colestásica fibrosante, fascitis eosinofílica (síndrome de Shulman), escleromixedema (mucinosis popular), esclerodermia, liquen escleroso y atrófico, síndrome de POEM (síndrome de Crow-Fukase, enfermedad de Takatsuki o síndrome de PEP), síndrome nefrótico, enfermedad del injerto contra el huésped (GVHD), enfermedad del injerto contra el huésped (GVHD) (de un trasplante, tal como de sangre, médula ósea, riñón, páncreas, hígado, hígado ortotópico, pulmón, corazón, intestino, intestino delgado, intestino grueso, timo, células madre de aloinjerto, aloinjerto de menor intensidad, hueso, tendón, córnea, piel, válvulas cardíacas, venas, arterias, vasos sanguíneos, estómago y testículo), enfermedad osteolítica (por ejemplo, enfermedad osteolítica inducida por mieloma múltiple), fibrosis quística, degeneración mascular relacionada con la edad (AMD; por ejemplo, AMD húmeda y AMD seca), fibrosis hepática, fibrosis pulmonar, ateroesclerosis, lesión cardíaca por isquemia/revascularización, insuficiencia cardíaca, miocarditis, fibrosis cardíaca, reestructuración cardíaca adversa, enfermedades asociadas al trasplante, lo que incluye rechazo al injerto y enfermedad del injerto contra el huésped.

En otra forma de realización, la presente invención provee un método para inhibir la inflamación en un mamífero que lo necesita, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo biespecífico, un anticuerpo o un fragmento de fijación al antígeno de la invención a un mamífero que necesita el tratamiento. En una forma de realización preferida, el mamífero es un ser humano. La inflamación puede asociarse a una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en esclerosis múltiple (MS) (por ejemplo, esclerosis múltiple con recidiva-remisión, esclerosis múltiple progresiva secundaria, esclerosis múltiple progresiva primaria y esclerosis múltiple progresiva con recidiva), inflamación crónica, síndrome de Sjögren, diabetes autoinmunitaria, artritis reumatoide (RA) y otras afecciones artríticas, asma, esclerosis sistémica, dermatitis atópica, vasculitis asociada a anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos (ANCA) (AAV), arteritis de células gigantes, lupus eritematoso sistémico (SLE), enfermedad de Degos, dermatomiositis juvenil, lupus discoide (por ejemplo, lupus eritematoso discoide en la infancia, lupus eritematoso discoide generalizado y lupus eritematoso discoide localizado), lupus eritematoso de sabañones, síndrome de superposición de liquen plano con lupus eritematoso, paniculitis lúpica asociada a lupus eritematoso, lupus eritematoso tumidus, lupus eritematoso cutáneo verrucoso, lupus eritematoso sistémico, lupus eritematoso cutáneo subagudo, lupus eritematoso cutáneo agudo, crioglobulinemia mixta esencial, fibromialgia-fibromiositis, enfermedad de Graves, enfermedad osteolítica (por ejemplo, enfermedad osteolítica inducida por mieloma múltiple), fibrosis quística, degeneración mascular relacionada con la edad (AMD; por ejemplo, AMD

húmeda y AMD seca), fibrosis hepática, fibrosis pulmonar, ateroesclerosis, lesión cardíaca por isquemia/revascularización, insuficiencia cardíaca, miocarditis, fibrosis cardíaca, reestructuración cardíaca adversa, síndrome de Guillain-Barré, tiroiditis de Hashimoto, psoriasis, artritis psoriásica, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, síndrome del colon irritable (IBS), enfermedad intestinal inflamatoria (IBD), nefritis lúpica, nefropatía por IgA, enfermedad renal diabética, enfermedad por cambios mínimos (nefrosis lipoidea), glomerulosclerosis focal y segmentaria (GESF), fibrosis sistémica nefrogénica (FSN), dermopatía fibrosante nefrogénica, hepatitis colestásica fibrosante, fascitis eosinofílica (síndrome de Shulman), escleromixedema (mucinosis popular), esclerodermia, liquen escleroso y atrófico, síndrome de POEM (síndrome de Crow-Fukase, enfermedad de Takatsuki o síndrome de PEP), síndrome nefrótico, enfermedad del injerto contra el huésped (GVHD), enfermedad del injerto contra el huésped (GVHD) (de un trasplante, tal como de sangre, médula ósea, riñón, páncreas, hígado, hígado ortotópico, pulmón, corazón, intestino, intestino delgado, intestino grueso, timo, células madre de aloinjerto, aloinjerto de menor intensidad, hueso, tendón, córnea, piel, válvulas cardíacas, venas, arterias, vasos sanguíneos, estómago y testículo). El anticuerpo biespecífico, el anticuerpo o el fragmento de fijación al antígeno se pueden administrar con otro agente farmacéutico, por ejemplo, un agente antiinflamatorio, ya sea en la misma formulación o en forma separada.

En otra forma de realización, la presente invención provee una composición que comprende un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo biespecífico, como se describe en la presente, y un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico. Se puede formular una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo biespecífico, de la invención de acuerdo con los métodos conocidos para preparar composiciones farmacéuticamente útiles, mediante los cuales las proteínas terapéuticas se combinan en una mezcla con un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico. Se considera que una composición es un “portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico” si el paciente receptor puede tolerar su administración. La solución salina amortiguada con fosfato estéril es un ejemplo de un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico. Otros portadores adecuados son conocidos por las personas del oficio de nivel medio. Véase, por ejemplo, Gennaro (ed.), *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 19.ª edición (Mack Publishing Company 1995).

Para uso farmacéutico, se formula un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo biespecífico, de la presente invención para la administración parenteral, en particular intravenosa o subcutánea, de acuerdo con los métodos convencionales. La administración intravenosa puede ser mediante inyección de bolo, liberación controlada, por ejemplo, usando minibombas u otra tecnología adecuada, o mediante infusión durante un período habitual de una a varias horas. En general, las formulaciones farmacéuticas incluyen un anticuerpo, por ejemplo un anticuerpo biespecífico, de la invención en combinación con un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico, tal como solución salina, solución salina amortiguada, dextrosa al 5 % en agua o similares. Las formulaciones también pueden incluir uno o más excipientes, conservantes, solubilizantes, agentes amortiguadores, albúmina para prevenir la pérdida de proteínas en las superficies del vial, etc. Cuando se usa esa terapia de combinación, los anticuerpos, que incluyen anticuerpos biespecíficos, se pueden combinar en una sola formulación o se pueden administrar en formulaciones separadas. Los métodos de formulación son conocidos en el estado de la técnica y se describen, por ejemplo, en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton PA, 1990, que se incorpora en la presente por referencia. En general, las dosis terapéuticas varían de 0,1 a 100 mg/kg en peso del paciente por día, preferentemente, de 0,5 a 20 mg/kg por día, y la dosis exacta la determina por el médico de acuerdo con los estándares aceptados, teniendo en cuenta la naturaleza y la gravedad de la afección que se desea tratar, las particularidades del paciente, etc. La determinación de la dosis se encuentra dentro del ámbito de la persona del oficio de nivel medio. Es más frecuente que los anticuerpos se administren durante una semana o menos, a menudo durante un período de 1 a 3 días. En general, la dosis de los anticuerpos administrados varía según determinados factores, como la edad, el peso, la altura, el sexo, la afección médica general y los antecedentes patológicos del paciente. Con frecuencia, es conveniente proporcionar al receptor una dosis de anticuerpos que se encuentre en el rango de alrededor de 1 pg/kg a 10 mg/kg (cantidad de agente/peso corporal del paciente), aunque se puede administrar una dosis más baja o más alta según las circunstancias.

La administración de un anticuerpo, por ejemplo un anticuerpo biespecífico, de la invención a un sujeto puede ser intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intramuscular, subcutánea, intrapleural, intratecal, por perfusión a través de un catéter regional o mediante inyección intralesional directa. Cuando se administran anticuerpos terapéuticos mediante inyección, la administración puede ser mediante infusión continua, o mediante un solo bolo o múltiples bolos.

Otras vías de administración incluyen oral, mucosa, pulmonar y transcutánea. El suministro oral es adecuado para las microesferas de poliéster, las microesferas de zeína, las microesferas proteinoides, las microesferas de policianoacrilato y los sistemas lipídicos (véase, por ejemplo, DiBase et al., “Oral Delivery of Microencapsulated Proteins,” en *Protein Delivery: Physical Systems*, pp. 255-288, Plenum Press (1997)). La viabilidad del suministro intranasal se ejemplifica mediante un modo de administración de la insulina (véase, por ejemplo, Hinchcliffe et al., *Adv. Drug Deliv. Rev.,* 35:199 (1999)). Los anticuerpos de la invención que comprenden partículas secas o líquidas se pueden preparar e inhalar con la ayuda de dispersadores de polvo seco, generadores de aerosol líquido o nebulizadores (por ejemplo, Pettit et al., *TIBTECH 16*:343 (1998); Patton *et al., Adv. Drug Deliv. Rev.,* 35:235 (1999)). Este método se ilustra mediante el sistema de control de la diabetes AERX®, que es un inhalador electrónico manual que suministra insulina aerosolizada a los pulmones. Ciertos estudios han demostrado el

suministro de proteínas que tienen un tamaño de 48.000 kDa a través de la piel en concentraciones terapéuticas con la ayuda de ultrasonido de baja frecuencia, lo que ilustra la viabilidad de la administración transcutánea (Mitragotri *et al., Science 269*:850 (1995)). El suministro transdérmico mediante electroporación provee otro medio para administrar una molécula que tiene actividad de fijación a IL-17 e IL-23/p19 (Potts *et al., Pharm. Biotechnol.,* 10:213 (1997)).

Para fines terapéuticos, las composiciones que comprenden un anticuerpo biespecífico de la invención y un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico se administran al paciente en una cantidad terapéuticamente eficaz. Se considera que la combinación de un anticuerpo, por ejemplo un anticuerpo biespecífico, de la presente invención y un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico se administra en una “cantidad terapéuticamente eficaz” si la cantidad administrada es importante en términos fisiológicos. Un agente es importante en términos fisiológicos si su presencia genera un cambio detectable en la fisiología de un paciente receptor. Por ejemplo, un agente que se usa para tratar la inflamación es importante en términos fisiológicos si su presencia alivia la reacción inflamatoria. La eficacia del tratamiento se puede evaluar de varias maneras. En una forma de realización, la eficacia del tratamiento se determina mediante la reducción de la inflamación. En otras formas de realización, la eficacia del tratamiento se determina mediante la inhibición de la inflamación. Aún en otras formas de realización, la eficacia de la terapia se mide mediante una mejora del paciente, que incluye signos como aumento de peso, recuperación de la fuerza, disminución del dolor, progreso e indicaciones subjetivas del paciente de un mejor estado de salud.

Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo biespecífico, de la invención se puede suministrar en forma líquida, en un aerosol o en forma sólida. Las formas líquidas se ilustran mediante soluciones inyectables y suspensiones orales. Las formas sólidas de ejemplo incluyen cápsulas, comprimidos y formas de liberación controlada. Esta última forma se ilustra mediante bombas miniosmóticas e implantes (Bremer *et al., Pharm. Biotechnol.,* 10:239 (1997); Ranade, "Implants in Drug Delivery", en Ranade et al., eds., *Drug Delivery Systems*, pp. 95-123, CRC Press (1995); Bremer et al., "Protein Delivery with Infusion Pumps", en Sanders et al., ed., *Protein Delivery: Physical Systems*, pp. 239-254, Plenum Press (1997); Yewey et al., "Delivery of Proteins from a Controlled Release Injectable Implant", en Sanders et al., ed., *Protein Delivery: Physical Systems*, pp. 93-117, Plenum Press (1997)).

Los liposomas proporcionan un medio para administrar polipéptidos terapéuticos a un sujeto por vía intravenosa, intraperitoneal, intratecal, intramuscular, subcutánea, oral, intranasal o por inhalación. Los liposomas son vesículas microscópicas que consisten en una o más bicapas lipídicas que rodean los compartimentos acuosos (véase, en general, Bakker-Woudenberg *et al., Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.,* 12(Suppl. 1):S61 (1993), Kim, *Drugs,* 46:618 (1993) y Ranade, "Site-Specific Drug Delivery Using Liposomes as Carriers", en Ranade et al., ed., *Drug Delivery Systems*, pp. 3-24, CRC Press (1995)). Los liposomas tienen una composición similar a las membranas celulares y, en consecuencia, se pueden administrar de manera segura y son biodegradables. En función del método de preparación, los liposomas pueden ser unilamelares o multilamelares, y el tamaño de los liposomas puede variar, con diámetros que miden de 0,02 µm a más de 10 µm. Se puede encapsular varios agentes en los liposomas: división de los agentes hidrófobos en las bicapas y división de los agentes hidrófilos en el espacio acuoso interno (véase, por ejemplo, Machy et al*., Liposomes in Cell Biology and Pharmacology,* John Libbey (1987), y Ostro et al*., American J. Hosp. Pharm.,* 46:1576 (1989)). Además, es posible controlar la disponibilidad terapéutica del agente encapsulado cambiando el tamaño de los liposomas, la cantidad de bicapas, la composición lipídica y las características superficiales y de carga de los liposomas.

Los liposomas pueden absorber prácticamente cualquier tipo de célula y luego liberar lentamente el agente encapsulado. De manera alternativa, un liposoma absorbido puede ser incorporado en las células que son fagocíticas mediante endocitosis. Después de la endocitosis se produce la degradación intralisosómica de los lípidos liposómicos y la liberación de los agentes encapsulados (Scherphof *et al., Ann. N.Y. Acad. Sci.,* 446:368 (1985)). Después de la administración intravenosa, los liposomas pequeños (de 0,1 a 1,0 µm) son absorbidos por las células del sistema reticuloendotelial, ubicado principalmente en el hígado y en el bazo, mientras que los liposomas que superan los 3,0 m se depositan en los pulmones. La absorción preferencial de liposomas más pequeños por parte de las células del sistema reticuloendotelial se ha usado para suministrar quimioagentes terapéuticos a los macrófagos y a los tumores hepáticos.

El sistema reticuloendotelial puede ser eludido por varios métodos, que incluyen la saturación con grandes dosis de partículas liposómicas o la inactivación selectiva de macrófagos por medios farmacológicos (Claassen *et al., Biochim. Biophys. Acta,* 802:428 (1984)). Además, se ha demostrado que la incorporación de fosfolípidos derivatizados de glucolípidos o polietilenglicol en las membranas liposómicas da como resultado una absorción considerablemente menor por parte del sistema reticuloendotelial (Allen *et al., Biochim. Biophys. Acta 1068:133* (1991); Allen *et al., Biochim. Biophys. Acta,* 1150:9 (1993)).

También se pueden preparar liposomas para dirigirlos a células u órganos particulares cambiando la composición fosfolipídica o insertando receptores o ligandos en los liposomas. Por ejemplo, se han usado liposomas, preparados con un alto contenido de un tensioactivo no iónico, para dirigirlos al hígado (Hayakawa et al., patente japonesa N.° 04-244,018; Kato *et al., Biol. Pharm. Bull.*, 16:960 (1993). Estas formulaciones se prepararon mediante la mezcla de fosfatidilcolina de soja, α-tocoferol y aceite de ricino hidrogenado y etoxilado (HCO-60) en metanol, la concentración

de la mezcla al vacío y la reconstitución de la mezcla con agua. También se ha demostrado el direccionamiento de una formulación liposómica de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) con una mezcla de esterilglucósido derivado de la soja (SG) y colesterol (Ch) al hígado (Shimizu *et al., Biol. Pharm. Bull.*, 20:881 (1997).

De manera alternativa, varios ligandos de direccionamiento se pueden fijar a la superficie del liposoma, tales como anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, hidratos de carbono, vitaminas y proteínas de transporte. Por ejemplo, los liposomas se pueden modificar con derivados galactolipídicos ramificados para dirigirlos a los receptores de asialoglucoproteína (galactosa), que se expresan exclusivamente en la superficie de las células hepáticas (Kato et al., *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.,* 14:287 (1997); Murahashi et al*., Biol. Pharm. Bull.*, 20:259 (1997). De modo similar, Wu *et al., Hepatology 27:772 (1998),* demostraron que la rotulación de liposomas con asialofetuin produjo una vida media más corta de los liposomas en plasma y mejoró considerablemente la absorción del liposoma rotulado con asialofetuin por parte de los hepatocitos. Por otra parte, la acumulación hepática de liposomas que comprenden derivados galactolipídicos ramificados se puede inhibir mediante la inyección previa de asialofetuin (Murahashi *et al., Biol. Pharm. Bull.*, 20:259 (1997). Los liposomas de albúmina de suero humano poliaconitilados proporcionan otro enfoque para dirigir los liposomas a las células hepáticas (Kamps *et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA,* 94:11681 (1997)). Además, Geho*, et al.* patente estadounidense N.° 4.603.044, describen un sistema de suministro de vesículas liposómicas dirigido a hepatocitos, que tiene especificidad para los receptores hepatobiliares asociados a las células metabólicas especializadas del hígado.

En un enfoque más general para el direccionamiento a los tejidos, se rotulan previamente células diana con anticuerpos biotinilados específicos de un ligando expresado por la célula diana (Harasym *et al., Adv. Drug Deliv. Rev.,* 32:99 (1998)). Después de la eliminación de los anticuerpos libres en plasma, se administran liposomas conjugados con estreptavidina. En otro enfoque, los anticuerpos de direccionamiento se unen directamente a los liposomas (Harasym *et al., Adv. Drug Deliv. Rev.,* 32:99 (1998)).

Los anticuerpos se pueden encapsular en el interior de los liposomas usando técnicas estándares de microencapsulación de proteínas (véase, por ejemplo, Anderson et al., Infect. *Immun.,* 31:1099 (1981), Anderson et al*., Cancer Res.,* 50:1853 (1990) y Cohen et al*., Biochim. Biophys. Acta,* 1063:95 (1991), Alving et al. "Preparation and Use of Liposomes in Immunological Studies", en Gregoriadis, ed., *Liposome Technology,* 2.ª edición, Vol. III, p. 317, CRC Press (1993), Wassef et al*., Meth. Enzymol.,* 149:124 (1987)). Como se indicó anteriormente, los liposomas terapéuticamente útiles pueden contener varios componentes. Por ejemplo, los liposomas pueden comprender derivados lipídicos de poli(etilenglicol) (Allen *et al., Biochim. Biophys. Acta,* 1150:9 (1993)).

Se han diseñado microesferas de polímeros degradables para mantener niveles sistémicos elevados de proteínas terapéuticas. Las microesferas se preparan de polímeros degradables, tales como poli(láctido-co-glicólido) (PLG), polianhídridos, poli(orto ésteres), polímeros de acetato de etilvinilo no biodegradables, en los que las proteínas quedan atrapadas en el polímero (Gombotz et al., *Bioconjugate Chem*., 6:332 (1995); Ranade, "Role of Polymers in Drug Delivery", en Ranade et al., eds., *Drug Delivery Systems*, pp. 51-93, CRC Press (1995); Roskos et al., "Degradable Controlled Release Systems Useful for Protein Delivery", en Sanders et al., eds., *Protein Delivery: Physical Systems*, pp. 45-92, Plenum Press (1997); Bartus et al*., Science,* 281:1161 (1998); Putney et al., *Nature Biotechnology,* 16:153 (1998); Putney, *Curr. Opin. Chem. Biol.,* 2:548 (1998)). Se pueden proporcionar también vehículos de nanoesferas recubiertas con polietilenglicol (PEG) para la administración intravenosa de proteínas terapéuticas (véase, por ejemplo, Gref *et al., Pharm. Biotechnol.,* 10:167 (1996).

La formulación también puede contener más de un compuesto activo necesario para la afección particular que se trate, preferentemente, aquellos que tienen actividades complementarias que no se perjudican entre sí. De manera alternativa o adicional, la composición puede comprender un agente que mejora su función, por ejemplo, un agente citotóxico, una citocina, un quimioagente terapéutico o un agente inhibidor del crecimiento. Estas moléculas están presentes de manera combinada en cantidades que son eficaces para la finalidad prevista.

En una forma de realización, un anticuerpo biespecífico, de la invención se administra en una terapia combinada, es decir, combinado con otros agentes, por ejemplo, agentes terapéuticos, que son útiles para tratar afecciones o trastornos patológicos, tales como trastornos autoinmunitarios y enfermedades inflamatorias. En este contexto, el término "combinado" significa que los agentes se administran prácticamente de manera contemporánea, ya sea en forma simultánea o secuencial. Si se administran de manera secuencial, cuando comienza la administración del segundo compuesto, el primero de los dos compuestos aún es preferentemente detectable en concentraciones eficaces en el sitio de tratamiento.

Por ejemplo, la terapia combinada puede incluir uno o más anticuerpos biespecíficos, de la invención coformulados y/o coadministrados con uno o más agentes terapéuticos adicionales, por ejemplo, uno o más inhibidores de citocina y del factor de crecimiento, inmunosupresores, antiinflamatorios, inhibidores metabólicos, inhibidores enzimáticos y/o agentes citotóxicos o citostáticos, como se describe en mayor detalle más adelante. Además, se pueden usar uno o más anticuerpos, por ejemplo, anticuerpos biespecíficos, descritos en la presente combinados con dos o más de los agentes terapéuticos descritos en la presente. Ventajosamente, las terapias combinadas pueden utilizar dosis más bajas de los agentes terapéuticos administrados para así evitar las posibles toxicidades o complicaciones asociadas a las diversas monoterapias.

Los agentes terapéuticos preferidos que se usan en combinación con un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo biespecífico, de la invención son los agentes que interfieren en las diferentes etapas de la reacción inflamatoria. En una forma de realización, uno o más anticuerpos, por ejemplo, anticuerpos biespecíficos, descritos en la presente se pueden coformular y/o coadministrar con uno o más agentes adicionales, tales como otros antagonistas de citocina o del factor del crecimiento (por ejemplo, receptores solubles, inhibidores peptídicos, moléculas pequeñas, fusiones de ligandos); o anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos que se fijan a otras dianas (por ejemplo, anticuerpos que se fijan a otras citocinas o factores del crecimiento, sus receptores u otras moléculas de la superficie celular); y citocinas antiinflamatorias o agonistas de estas. Los ejemplos de los agentes que se pueden usar en combinación con los anticuerpos descritos en la presente incluyen, entre otros, antagonistas de una o más interleucinas (IL) o sus receptores, por ejemplo, antagonistas de IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12, IL-13, IL-15, IL-16, IL-18, IL-20, IL-21, IL-22 e IL-31; antagonistas de citocinas o factores del crecimiento o sus receptores, tales como factor de necrosis tumoral (TNF), LT, EMAP-II, GM-CSF, FGF y PDGF. Los anticuerpos de la invención también se pueden combinar con inhibidores, por ejemplo, anticuerpos, de las moléculas de superficie celular, tales como CD2, CD3, CD4, CD8, CD20 (por ejemplo, el inhibidor de CD20 rituximab (RITUXAN®)), CD25, CD28, CD30, CD40, CD45, CD69, CD80 (B7.1), CD86 (B7.2), CD90 o sus ligandos, que incluyen CD154 (gp39 o CD40L) o LFA-1/ICAM-1 y VLA-4/VCAM-1 (Yusuf-Makagiansar et al. *Med. Res. Rev.*, 22:146-167 (2002)). Los antagonistas preferidos que se pueden usar en combinación con uno o más anticuerpos, por ejemplo anticuerpos biespecíficos, descritos en la presente incluyen antagonistas de IL-1, IL-6, IL-12, TNF-alfa, IL-15, IL-18, IL-20, IL-22 e IL-31.

Los ejemplos de esos agentes incluyen antagonistas de IL-12, tales como anticuerpos quiméricos, humanizados, humanos o generados *in vitro* (o fragmentos de fijación al antígeno de estos) que se fijan a IL-12 (preferentemente, IL-12 humana), por ejemplo, los anticuerpo descritos en WO 00/56772; los inhibidores del receptor de IL-12, por ejemplo, anticuerpos del receptor de IL-12 humana; y fragmentos solubles del receptor de IL-12, por ejemplo, receptor de IL-12 humana. Los ejemplos de antagonistas de IL-15 incluyen anticuerpos (o fragmentos de fijación al antígeno de estos) de IL-15 o su receptor, por ejemplo, anticuerpos quiméricos, humanizados, humanos o generados *in vitro* de la IL-15 humana o su receptor, fragmentos solubles del receptor de IL-15 y proteínas de fijación a IL-15. Los ejemplos de antagonistas de IL-18 incluyen anticuerpos, por ejemplo, anticuerpos quiméricos, humanizados, humanos o generados *in vitro* (o fragmentos de fijación al antígeno de estos) de IL-18 humana, fragmentos solubles del receptor de IL-18 y proteínas de fijación a IL-18 (IL-18BP). Los ejemplos de antagonistas de IL-1 incluyen inhibidores de la enzima conversora de interleucina 1 (ICE), tales como Vx740, antagonistas de IL-1, por ejemplo, IL-1 RA (anikinra, KINERET®, Amgen), sIL1RII (Immunex) y anticuerpos del receptor anti-IL-1 (o fragmentos de fijación al antígeno de estos).

Los ejemplos de antagonistas de TNF incluyen anticuerpos quiméricos, humanizados, humanos o generados *in vitro* (o fragmentos de fijación al antígeno de estos) de TNF (por ejemplo, TNF-alfa humano), tales como (HUMIRA®,, D2E7, anticuerpo de TNF-alfa humano), CDP-571/CDP-870/BAY-10-3356 (anticuerpo anti-TNF-alfa humanizado; Celltech/Pharmacia), cA2 (anticuerpo anti-TNF-alfa quimérico; REMICADE®, Centocor); fragmentos de anticuerpos anti-TNF (por ejemplo, CPD870); fragmentos solubles de los receptores de TNF, por ejemplo, receptores de TNF humano p55 o p75 o derivados de estos, por ejemplo, TNFR-IgG de 75 kd (proteína de fusión del receptor de TNF-IgG de 75 kD, ENBREL®; Immunex), p55 kdTNFR-IgG (proteína de fusión del receptor de TNF-IgG de 55 kD ((Lenercept)); antagonistas enzimáticos, por ejemplo, inhibidores de la enzima conversora de TNF-alfa (TACE) (por ejemplo, un derivado de ácido alfa-sulfonilhidroxámico y un inhibidor TACE de N-hidroxiformamida GW 3333, -005 o -022); y TNF-bp/s-TNFR (proteína de fijación a TNF soluble). Los antagonistas de TNF preferidos son fragmentos solubles de los receptores de TNF, por ejemplo, receptores de TNF humano p55 o p75 o derivados de estos, por ejemplo, 75 kdTNFR-IgG, e inhibidores de la enzima conversora de TNF-alfa (TACE).

En otras formas de realización, uno o más anticuerpos, por ejemplo, anticuerpos biespecíficos, descritos en la presente se pueden administrar combinados con uno o más de los siguientes: antagonistas de IL-13, por ejemplo, receptores de IL-13 solubles (sIL-13) y/o anticuerpos contra IL-13; antagonistas de IL-2, por ejemplo, DAB 486-IL-2 y/o DAB 389-IL-2 (proteínas de fusión a IL-2, Seragen) y/o anticuerpos de IL-2R, por ejemplo, anti-Tac (anti-IL-2R humanizada, Protein Design Labs). Otra combinación incluye uno o más anticuerpos, por ejemplo, anticuerpos biespecíficos, de la invención, moléculas pequeñas antagonistas y/o anticuerpos inhibidores combinados con inhibidores anti-CD4 no reductores (DEC-CE9.1/SB 210396; anticuerpo anti-CD4 primatizado no reductor; IDEC/SmithKline). Aún otras combinaciones preferidas incluyen antagonistas de la vía coestimuladora CD80 (B7.1) o CD86 (B7.2), que incluyen anticuerpos, receptores solubles o ligandos antagonistas, así como ligandos de glucoproteína p-selectina (PSGL), citocinas antiinflamatorias, por ejemplo, IL-4 (DNAX/Schering); IL-10 (SCH 52000; IL-10 recombinante DNAX/Schering); IL-13 y TGF-beta, y agonistas de estos (por ejemplo, anticuerpos agonistas).

En otras formas de realización, uno o más anticuerpos anticuerpos biespecíficos, de la invención se pueden coformular y/o coadministrar con uno o más fármacos antiinflamatorios, inmunosupresores, o inhibidores metabólicos o enzimáticos. Los ejemplos de fármacos o inhibidores que se pueden usar combinados con los anticuerpos descritos en la presente incluyen, entre otros, uno o más de los siguientes: fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID), por ejemplo, ibuprofeno, tenidap, naproxeno, meloxicam, piroxicam, diclofenac e indometacina; sulfasalazina; corticoesteroides, tales como prednisolona; fármacos antiinflamatorios supresores de citocina (CSAID); inhibidores de la biosíntesis de nucleótidos, por ejemplo, inhibidores de la biosíntesis de purina,

antagonistas de folato (por ejemplo, metotrexato (ácido N-[4-[[(2,4-diamino-6-pteridinil)metil]metilamino] benzoil]-L-glutámico); e inhibidores de la biosíntesis de pirimidina, por ejemplo, inhibidores de dihidroorotato deshidrogenasa (DHODH) . Los agentes terapéuticos preferidos para usar combinados con uno o más anticuerpos, por ejemplo anticuerpos biespecíficos, de la invención incluyen NSAID, CSAID, inhibidores de DHODH (por ejemplo, leflunomida) y antagonistas de folato (por ejemplo, metotrexato).

Los ejemplos de inhibidores adicionales incluyen uno o más de los siguientes corticoesteroides (por vía oral, por inhalación o por inyección local); inmunosupresores, por ejemplo, ciclosporin, tacrolimus (FK-506); e inhibidores de mTOR, por ejemplo, sirolimus (rapamicina --RAPAMUNE® o derivados de rapamicina, por ejemplo, derivados de rapamicina soluble (por ejemplo, derivados de éster de rapamicina, por ejemplo, CCI-779); agentes que interfieren en la señalización mediante las citocinas proinflamatorias, tales como TNF-alfa o IL-1 (por ejemplo, inhibidores de IRAK, NIK, IKK, p38 o MAP quinasa); inhibidores de COX2, por ejemplo, celecoxib, rofecoxib y variantes de estos; inhibidores de fosfodiesterasa, por ejemplo, R973401 (inhibidor de fosfodiesterasa tipo IV); inhibidores de fosfolipasa, por ejemplo, inhibidores de fosfolipasa citosólica 2 (cPLA2) (por ejemplo, análogos de trifluorometilcetona); inhibidores del factor de crecimiento celular del endotelio vascular o receptor del factor de crecimiento, por ejemplo, inhibidor de VEGF y/o inhibidor de VEGF-R; e inhibidores de la angiogénesis. Los agentes terapéuticos preferidos para usar combinados con los anticuerpos de la invención son inmunosupresores, por ejemplo, ciclosporina, tacrolimus (FK-506); inhibidores de mTOR, por ejemplo, sirolimus (rapamicina) o derivados de rapamicina, por ejemplo, derivados de rapamicina soluble (por ejemplo, derivados de éster de rapamicina, por ejemplo, CCI-779); inhibidores de COX2, por ejemplo, celecoxib y sus variantes; e inhibidores de fosfolipasa, por ejemplo, inhibidores de fosfolipasa citosólica 2 (cPLA2), por ejemplo, análogos de trifluorometilcetona.

Otros ejemplos de agentes terapéuticos que se pueden combinar con un anticuerpo biespecífico, de la invención incluyen uno o más de los siguientes: 6-mercaptopurinas (6-MP); azatioprina sulfasalazina; mesalazina; olsalazina; cloroquina/hidroxicloroquina (PLAQUENIL®); pencilamina; aurotiomalato (intramuscular y oral); azatioprina; colchicina; agonistas del adrenorreceptor beta-2 (salbutamol, terbutalina, salmeteral); xantinas (teofilina, aminofilina); cromoglicato; nedocromil; ketotifeno; ipratropio y oxitropio; micofenolato mofetil; agonistas de adenosina; agentes antitrombóticos; inhibidores del complemento; y agentes adrenérgicos.

Los ejemplos no limitantes de agentes para tratar o prevenir trastornos artríticos (por ejemplo, artritis reumatoide, artritis inflamatoria, artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil, osteoartritis y artritis soriásica) con los que se puede combinar un anticuerpo, por ejemplo un anticuerpo biespecífico, de la invención incluyen uno o más de los siguientes: antagonistas de IL-12 como se describen en la presente; NSAID; CSAID; antagonistas de TNF, por ejemplo, TNF-alfa, como se describen en la presente; anticuerpos anti-CD4 no reductores, como se describen en la presente; antagonistas de IL-2, como se describen en la presente; citocinas antiinflamatorias, por ejemplo, IL-4, IL-10, IL-13 y TGF-alfa, o agonistas de estos; IL-1 o antagonistas del receptor de IL-1, como se describen en la presente; inhibidores de fosfodiesterasa, como se describen en la presente; inhibidores de Cox-2, como se describen en la presente; iloprost: metotrexato; talidomida y fármacos relacionados con talidomida (por ejemplo, Celgen); leflunomida; inhibidor de la activación de plasminógeno, por ejemplo, ácido tranexámico; inhibidor de citocina, por ejemplo, T-614; prostaglandina E1; azatioprina; un inhibidor de la enzima conversora de interleucina 1 (ICE); inhibidor de zap-70 y/o 1ck (inhibidor de tirosina quinasa zap-70 o 1ck); un inhibidor del factor de crecimiento celular del endotelio vascular o receptor del factor de crecimiento celular del endotelio vascular, como se describe en la presente; un inhibidor de la angiogénesis, como se describe en la presente; fármacos antiinflamatorios corticoesteroides (por ejemplo, SB203580); inhibidores de TNF-convertasa; inhibidores de IL-11; IL-13; IL-17; oro; penicilamina; cloroquina; hidroxicloroquina; clorambucilo; ciclofosfamida; ciclosporina; irradiación linfoide total; globulina antitimocito; toxinas de CD5; colágeno y péptidos administrados por vía oral; lobenzarit disódico; agentes reguladores de la citocina (CRA) HP228 y HP466 (Houghten Pharmaceuticals, Inc.); oligodesoxinucleótidos de fosforotioato antisentido ICAM-1 (ISIS 2302; Isis Pharmaceuticals, Inc.); receptor del complemento soluble 1 (TP 10; T Cell Sciences, Inc.); prednisona; orgoteína; polisulfato de glucosaminoglucano; minociclina (MINOCIN®); anticuerpos anti-IL2R; lípidos marinos y botánicos (ácidos grasos de pescado y semillas de plantas); auranofin; fenilbutazona; ácido meclofenámico; ácido flufenámico; globulina inmunitaria intravenosa; cileutón; ácido micofenólico (RS-61443); tacrolimus (FK-506); sirolimus (rapamicina); amiprilosa (terafectina); cladribina (2-clorodseoxiadenosina); y azaribina. Las combinaciones preferidas incluyen uno o más anticuerpos, por ejemplo anticuerpos biespecíficos, de la invención combinados con metotrexato o leflunomida, y en casos de artritis reumatoide moderada o grave, ciclosporina.

Los ejemplos preferidos de inhibidores para usar combinados con uno o más anticuerpos, por ejemplo anticuerpos biespecíficos, de la invención para tratar trastornos artríticos incluyen antagonistas de TNF (por ejemplo, anticuerpos quiméricos, humanizados, humanos o generados *in vitro*, o fragmentos de fijación al antígeno de estos, que se fijan a TNF; fragmentos solubles de un receptor de TNF, por ejemplo, receptor de TNF humano p55 o p75 o sus derivados, por ejemplo, TNFR-IgG de 75 kd (proteína de fusión del receptor de TNF-IgG de 75 kD, ENBREL®), proteína de fusión del receptor de TNF-IgG de p55 kD; antagonistas enzimáticos de TNF, por ejemplo, inhibidores de la enzima conversora de TNF-alfa (TACE); antagonistas de IL-12, IL-15, IL-18, IL-22; agentes reductores de linfocitos T y linfocitos B (por ejemplo, anticuerpos anti-CD4 o anti-CD22); inhibidores de molécula pequeña, por ejemplo, metotrexato y leflunomida; sirolimus (rapamicina) y sus análogos, por ejemplo, CCI-779; inhibidores de cox-2 y cPLA2; NSAID; inhibidores de p38, inhibidores de TPL-2, Mk-2 y NFκB; RAGE o RAGE soluble; inhibidores de P-

selectina o PSGL-1 (por ejemplo, inhibidores de molécula pequeña, anticuerpos de estos, por ejemplo, anticuerpos de P-selectina); agonistas del receptor de estrógeno beta (ERB) o antagonistas de ERB-NFκB. Otros agentes terapéuticos más preferidos que se pueden coadministrar y/o coformular con uno o más anticuerpos, por ejemplo, anticuerpos biespecíficos, de la invención incluyen uno o más de los siguientes: un fragmento soluble de un receptor de TNF, por ejemplo, receptor de TNF humano p55 o p75 o sus derivados, por ejemplo, TNFR-IgG de 75 kd (proteína de fusión del receptor TNF-IgG de 75 kD, ENBREL®); metotrexato, leflunomida, o sirolimus (rapamicina) o un análogo de este, por ejemplo, CCI-779.

Los ejemplos no limitantes de agentes para tratar o prevenir esclerosis múltiple (por ejemplo, esclerosis múltiple con recidiva-remisión, esclerosis múltiple progresiva secundaria, esclerosis múltiple progresiva primaria y esclerosis múltiple progresiva con recidiva), con uno o más anticuerpos, por ejemplo, anticuerpos biespecíficos, de la invención que se pueden combinar incluyen los siguientes: interferones, por ejemplo, interferón alfa 1a (por ejemplo, AVONEX®, Biogen) e interferón 1b (BETASERON® Chiron/Berlex); copolímero 1 (Cop-1; COPAXONE® Teva Pharmaceutical Industries, Inc.); dimetilfumarato (por ejemplo, BG-12; Biogen); oxígeno hiperbárico; inmunoglobulina intravenosa; cladribine; antagonistas de TNF, como se describen en la presente; corticoesteroides; prednisolona; metilprednisolona; azatioprina; ciclofosfamida; ciclosporina; ciclosporina A, metotrexato; 4-aminopiridina; y tizanidina. Otros antagonistas que se pueden usar combinados con anticuerpos de la invención incluyen anticuerpos o antagonistas de otras citocinas o factores del crecimiento humanos, por ejemplo, TNF, LT, IL-1, IL-2, IL-6, EL-7, IL-8, IL-12 IL-15, IL-16, IL-18, EMAP-11, GM-CSF, FGF y PDGF. Los anticuerpos descritos en la presente se pueden combinar con los anticuerpos de las moléculas de superficie celular, tales como CD2, CD3, CD4, CD8, CD25, CD28, CD30, CD40, CD45, CD69, CD80, CD86, CD90 o sus ligandos. También se pueden combinar uno o más anticuerpos, por ejemplo, anticuerpos biespecíficos, de la invención con agentes, tales como metotrexato, ciclosporina, FK506, rapamicina, micofenolato mofetil, leflunomida, NSAID, por ejemplo, ibuprofeno, corticoesteroides, tales como prednisolona, inhibidores de fosfodiesterasa, agonistas de adenosina, agentes antitrombóticos, inhibidores del complemento, agentes adrenérgicos, agentes que interfieren en la señalización mediante las citocinas proinflamatorias, como se describe en la presente, inhibidores de la enzima conversora de IL-1b (por ejemplo, Vx740), anti-P7, PSGL, inhibidores de TACE, inhibidores de la señalización de linfocitos T, tales como inhibidores de quinasa, inhibidores de metaloproteinasa, sulfasalazina, azatioprina, 6-mercaptopurinas, inhibidores enzimáticos conversores de angiotensina, receptores de citocina soluble y sus derivados, como se describen en la presente, y citocinas antiinflamatorias (por ejemplo, IL-4, IL-10, IL-13 y TGF).

Los ejemplos preferidos de agentes terapéuticos para esclerosis múltiple (por ejemplo, esclerosis múltiple con recidiva-remisión, esclerosis múltiple progresiva secundaria, esclerosis múltiple progresiva primaria y esclerosis múltiple progresiva con recidiva) con los que se pueden combinar los anticuerpos de la invención incluyen dimetilfumarato (por ejemplo, BG-12; Biogen), interferón beta, por ejemplo, IFN-beta-1a e IFN-beta-1b; COPAXONE®, corticoesteroides, inhibidores de IL-1, inhibidores de TNF, anticuerpos del ligando CD40 y CD80, antagonistas de IL-12.

Los ejemplos no limitantes de agentes para tratar o prevenir una enfermedad intestinal inflamatoria (por ejemplo, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa) con los que se puede combinar un anticuerpo, por ejemplo un anticuerpo biespecífico, de la invención incluyen los siguientes: budenósida; factor del crecimiento epidérmico; corticoesteroides; ciclosporina; sulfasalazina; aminosalicilatos; 6-mercaptopurina; azatioprina; metronidazol; inhibidores de lipoxigenasa; mesalamina; olsalacina; balsalazida; antioxidantes; inhibidores de tromboxano; antagonistas del receptor de IL-1; anticuerpos monoclonales anti-IL-1; anticuerpos monoclonales anti-IL-6 (por ejemplo, anticuerpos del receptor anti-IL-6 y anticuerpos anti-IL-6); factores del crecimiento; inhibidores de elastasa; compuestos de piridinil-imidazol; antagonistas de TNF, como se describen en la presente; citocinas IL-4, IL-10, IL-13 y/o TGFβ o sus agonistas (por ejemplo, anticuerpos agonistas); IL-11; profármacos de prednisolona, dexametasona o budesónida conjugados con glucuronida o dextrano; oligodesoxinucleótidos de fosforotioato antisentido ICAM-1 (ISIS 2302; Isis Pharmaceuticals, Inc.); receptor del complemento soluble 1 (TP10; T Cell Sciences, Inc.); mesalazina de liberación lenta; metotrexato; antagonistas del factor activador de plaquetas (PAF); ciprofloxacina; y lignocaína.

Los ejemplos no limitantes de agentes para tratar o prevenir psoriasis con los que se puede combinar un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo biespecífico, de la invención incluyen los siguientes: corticoesteroides; vitamina D_3 y sus análogos; retinoides (por ejemplo, Soriatane); metotrexato; ciclosporina, 6-tioguanina; Accutane; hidrea; hidroxiurea; sulfasalazina; micofenolato mofetil; azatioprina; tacrolimus; ésteres de ácido fumárico; compuestos biológicos, tales como AMEVIVE®, ENBREL®, HUMIRA®, Raptiva y REMICADE®, Ustekinmab y XP-828L; fototerapia; y fotoquimioterapia (por ejemplo, fototerapia con rayos UV y psoralen combinada).

Los ejemplos no limitantes de agentes para tratar o prevenir enfermedades respiratorias/de las vías aéreas inflamatorias (por ejemplo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma) con los que se puede combinar un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo biespecífico, de la invención incluyen los siguientes: agonistas del adrenoceptor beta2 (por ejemplo, salbutamol (albuterol USAN), levalbuterol, terbutalina, bitolterol); agonistas del adrenoceptor beta2 de acción prolongada (por ejemplo, salmeterol, formoterol, bambuterol); agonistas adrenérgicos (por ejemplo, epinefrina para inhalación y comprimidos de efedrina); medicaciones anticolinérgicas (por ejemplo, bromuro de ipratropio); combinaciones de esteroides para inhalación y broncodilatadores de acción prolongada (por ejemplo, fluticasona/salmeterol (Advair en los Estados Unidos y Seretide en el Reino Unido)) o

budenósida/formoterol (Symbicort)); glucocorticoides para inhalación (por ejemplo, ciclesonida, beclometasona, budenósida, flunisólida, fluticasona, mometasona, triamcinolona); modificadores de leucotrieno (por ejemplo, montelukast, zafirlukast, pranlukast y zileuton); estabilizadores de mastocitos (por ejemplo, cromoglicato (cromolyn) y nedocromil); antimuscarínicos/anticolinérgicos (por ejemplo, ipratropium, oxitropium, tiotropium); metilxantinas (por ejemplo, teofilina, aminofilina); antihistamínicos; bloqueadores de IgE (por ejemplo, Omalizumab); antagonistas muscarínicos M3 (anticolinérgicos) (por ejemplo, ipratropium, tiotropium); cromonas (por ejemplo, cromoglicato, nedocromil); zantinas (por ejemplo, teofilina); y antagonistas de TNF (por ejemplo, infliximab, adalimumab y etanercept).

En una forma de realización, un anticuerpo biespecífico, de la invención se puede usar en combinación con uno o más anticuerpos dirigidos a otras dianas que participan en la regulación de la respuesta inmunitaria, por ejemplo, en el rechazo al trasplante.

Los ejemplos no limitantes de agentes para tratar o prevenir las respuestas inmunitarias con los que se puede combinar un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo biespecífico, de la invención incluyen los siguientes: anticuerpos de otras moléculas de la superficie celular, que incluyen, entre otras, CD25 (receptor α de interleucina 2), CD11a (LFA-1), CD54 (ICAM-1), CD4, CD45, CD28/CTLA4 (CD80 (B7.1), por ejemplo, CTLA4 Ig -abatacept (ORENCIA®)), ICOSL, ICOS y/o CD86 (B7.2). Aún en otra forma de realización, un anticuerpo de la invención se usa en combinación con uno o más agentes inmunosupresores generales, tales como ciclosporina A o FK506.

En otras formas de realización, los anticuerpos se usan como adyuvantes de vacuna contra trastornos autoinmunitarios, enfermedades inflamatorias, etc. Los adyuvantes para el tratamiento de estos tipos de trastornos son adecuados para usar en combinación con una amplia variedad de antígenos de autoantígenos dirigidos, es decir, autoantígenos, que participan en la autoinmunidad, por ejemplo, proteína básica de mielina; autoantígenos inflamatorios, por ejemplo, proteína del péptido amiloide, o antígenos de trasplantes, por ejemplo, aloantígenos. El antígeno puede comprender péptidos o polipéptidos derivados de proteínas, así como fragmentos de cualquiera de los siguientes: sacáridos, proteínas, polinucleótidos u oligonucleótidos, autoantígenos, proteína del péptido amiloide, antígenos de trasplantes, alérgenos u otros componentes macromoleculares. En algunos casos, se incluye más de un antígeno en la composición antigénica.

Por ejemplo, las vacunas deseables para moderar las respuestas a los alérgenos en un huésped vertebrado, que contienen las combinaciones adyuvantes de la presente invención, incluyen las que contienen un alérgeno o un fragmento de este. Algunos ejemplos de tales alérgenos se describen en la patente estadounidense N.° 5.830.877 y en la publicación PCT N.° WO 99/51259, que se incorporan en su totalidad en la presente por referencia e incluyen polen, venenos de insectos, caspa de animales, esporas fúngicas y fármacos (tales como penicilina). Las vacunas interfieren en la producción de anticuerpos IgE, una causa conocida de las reacciones alérgicas. En otro ejemplo, las vacunas deseables para prevenir o tratar enfermedades caracterizadas por la sedimentación de amiloides en un huésped vertebrado, que contienen las combinaciones adyuvantes de la presente invención, incluyen las que contienen porciones de la proteína del péptido amiloide (APP). Esta enfermedad se denomina de diversas maneras, como enfermedad de Alzheimer, amiloidosis o enfermedad amiloidogénica. Por ello, las vacunas de la presente incluyen las combinaciones adyuvantes de esta invención más el péptido Aβ, así como fragmentos del péptido Aβ y anticuerpos del péptido Aβ o fragmentos de estos.

En otra forma de realización, las composiciones farmacéuticas se pueden suministrar como un kit que comprende un recipiente que contiene un anticuerpo, un anticuerpo biespecífico o un fragmento de fijación al antígeno de la invención. Los anticuerpos, por ejemplo, los anticuerpos biespecíficos, de la invención se pueden proporcionar en forma de una solución inyectable para una sola dosis o para múltiples dosis, o como un polvo estéril que se reconstituirá antes de la inyección. Como alternativa, el kit puede incluir un dispersador de polvo seco, un generador de aerosol líquido o un nebulizador para la administración del anticuerpo, por ejemplo, de anticuerpo biespecífico. El kit también puede comprender información escrita con indicaciones de uso de la composición farmacéutica. Además, la información puede incluir una declaración de que la composición de anticuerpos está contraindicada en pacientes con hipersensibilidad a IL-17 e IL-23.

En otra forma de realización, la invención provee un artículo de fabricación, que comprende: (a) una composición de materia que comprende un anticuerpo, un anticuerpo biespecífico o un fragmento de fijación al antígeno, como se describen en la presente; (b) un recipiente que contiene esa composición; y (c) una etiqueta adherida al recipiente o un prospecto incluido en el recipiente que hace referencia al uso del anticuerpo para el tratamiento de una enfermedad inmunitaria.

En otro aspecto, la composición comprende otro ingrediente activo que puede ser, por ejemplo, otro anticuerpo o un agente antiinflamatorio, citotóxico o quimioterapéutico. Preferentemente, la composición es estéril.

Los anticuerpos, anticuerpos biespecíficos y fragmentos de fijación al antígeno, como se describen en la presente, son útiles para preparar medicinas y medicamentos para el tratamiento de enfermedades inmunitarias e inflamatorias que incluyen, por ejemplo, esclerosis múltiple (MS) (por ejemplo, esclerosis múltiple con recidiva-remisión, esclerosis múltiple progresiva secundaria, esclerosis múltiple progresiva primaria y esclerosis múltiple

progresiva con recidiva), síndrome del colon irritable (IBS), enfermedad intestinal inflamatoria (IBD), tal como colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn, dermatitis atópica, dermatitis por contacto, esclerosis sistémica, lupus eritematoso sistémico (SLE), vasculitis asociada a anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos (ANCA) (AAV), arteritis de células gigantes, esclerosis múltiple (MS), colitis, endotoxinemia, artritis, artritis reumatoide (RA), osteoartritis, síndrome de Sjögren, psoriasis, artritis psoriásica, enfermedad respiratoria adulta (ARD), choque séptico, insuficiencia multiorgánica, lesiones pulmonares inflamatorias, tales como fibrosis pulmonar idiopática, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), hiperreactividad de las vías respiratorias, bronquitis crónica, asma alérgica, eczema, infección por *Helicobacter pylori*, adhesiones y/o abscesos intraabdominales causados por inflamación peritoneal (por ejemplo, por infecciones, lesiones, etc.), síndrome nefrótico, polineuropatía desmielinizante idiopática, síndrome de Guillain-Barré, rechazo al aloinjerto de órganos, enfermedad del injerto contra el huésped (GVHD), nefritis lúpica, nefropatía por IgA, enfermedad renal diabética, enfermedad por cambios mínimos (nefrosis lipoidea), glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GESF), fibrosis sistémica nefrogénica (FSN), dermopatía fibrosante nefrogénica, hepatitis colestásica fibrosante, fascitis eosinofílica (síndrome de Shulman), escleromixedema (mucinosis popular), esclerodermia, liquen escleroso y atrófico, síndrome de POEM (síndrome de Crow-Fukase, enfermedad de Takatsuki o síndrome de PEP), síndrome nefrótico, enfermedad del injerto contra el huésped (GVHD), enfermedad del injerto contra el huésped (GVHD) (de un trasplante, tal como de sangre, médula ósea, riñón, páncreas, hígado, hígado ortotópico, pulmón, corazón, intestino, intestino delgado, intestino grueso, timo, células madre de aloinjerto, aloinjerto de menor intensidad, hueso, tendón, córnea, piel, válvulas cardíacas, venas, arterias, vasos sanguíneos, estómago y testículo), enfermedad osteolítica (por ejemplo, enfermedad osteolítica inducida por mieloma múltiple), fibrosis quística, degeneración mascular relacionada con la edad (AMD; por ejemplo, AMD húmeda y AMD seca), fibrosis hepática, fibrosis pulmonar, ateroesclerosis, lesión cardíaca por isquemia/revascularización, insuficiencia cardíaca, miocarditis, fibrosis cardíaca, reestructuración cardíaca adversa, rechazo al trasplante, artritis inducida por la pared celular estreptocócica (SCW), gingivitis/periodontitis, queratitis herpética estromal, reestenosis por enteropatía sensible al gluten, enfermedad de Kawasaki y enfermedades renales inmunitarias. En un aspecto específico, las medicinas y los medicamentos comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo biespecífico, anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de la invención con un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico. En una forma de realización, la mezcla es estéril.

La descripción detallada anterior y los ejemplos se han proporcionado por motivos de claridad de la comprensión únicamente. No debe interpretarse que surgen limitaciones innecesarias de ella. La invención no se limita a los detalles exactos que se muestran y describen, ya que las variaciones evidentes para las personas del oficio de nivel medio estarán incluidas en la invención definida por las reivindicaciones.

Ejemplo 1

Humanización de un anticuerpo especifico dual IL-17A/F antihumano murino

Selección de clones de hibridoma e identificación de la región variable

Las proteínas humanas recombinantes IL-17A, IL-17A/F e IL-17F se produjeron usando un sistema de expresión transitorio HEK293 de ZymoGenetics Inc., a Bristol-Myers Squibb Company (Seattle, WA, EE. UU.). Los ratones BALB/c (Charles River Laboratories, Wilmington, MA) se inmunizaron y recibieron una dosis de refuerzo con IL-17F humana recombinante conjugada con BSA, y luego se inmunizaron con IL-17A humana recombinante conjugada con BSA. Los ratones cuyos sueros contenían la más alta actividad de fijación a los anticuerpos anti-IL-17F y anti-IL-17A recibieron un refuerzo final de IL-17F previo a la fusión. Cuatro días más tarde, los esplenocitos y las células de los nódulos linfáticos se fusionaron con las células del mieloma Ag8.653 para generar hibridomas productores de anticuerpos. Los sobrenadantes del cultivo de hibridomas se barrieron para determinar la fijación de IL-17F e IL-17A mediante ELISA de placas y la neutralización de IL-17F e IL-17A en el ensayo celular IL-17A/F. Las células hibridomas correspondientes a la muestra de sobrenadante que se fijaron a IL-17F e IL-17A y las neutralizaron se clonaron a fin de aislar un hibridoma monoclonal, 339.15.3.5 (denominado 339.15) que producía el anticuerpo monoclonal neutralizante de interés. El hibridoma 339.15 se isotipificó con el kit de isotipificación de anticuerpos monoclonales de ratón ISOSTRIP® (Roche, Indianapolis, IN, EE. UU.), y el ARN se aisló con el kit QIAGEN® RNeasy (Qiagen, Valencia, CA, EE. UU.). Las regiones variables se clonaron con el kit de amplificación de cADN RACE de SMART (Clontech, Mountain View, CA, EE. UU.) que utiliza la tecnología 5' RACE y cebadores 3' específicos de genes diseñados para las secuencias de las regiones constantes de ratón. Las secuencias de la región variable pesada y liviana se clonaron con el kit de clonación para secuenciación TOPO® TA (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE. UU.). Las secuencias génicas se verificaron mediante la comparación de la secuencia con la secuenciación de los aminoácidos del terminal N realizada en un anticuerpo purificado del hibridoma 339.15.

Las secuencias de la región variable se clonaron de 339.15.3.5, 339.15.5.3 y 339.15.3.6, y se demostró que contenían exactamente las mimas secuencias de la región variable. La secuencia de 339.15.3.5 se usó para la humanización posterior, y el clon de hibridoma 339.15.3.6 se depositó el 7 de noviembre de 2006 en la autoridad depositaria de patentes American Type Tissue Culture Collection (ATCC; 10801 University Blvd, Manassas, VA 20110-2209) como depósitos originales conforme al Tratado de Budapest, y se le otorgó la designación de depósito de patente ATCC® PTA-7988. El clon del hibridoma 339.15.3.6 (designación de depósito de patente ATCC® PTA-7988) y 339.15.5.3 (designación de depósito de patente ATCC® PTA-7987) también se describen, por ejemplo, en

las patentes estadounidenses N.° 7.790.163, 7.910.703 y 8.333.968.

Modelación molecular de secuencias de las regiones variables IL-17A/F antihumanas humanizadas y quiméricas

Todos los modelos de las regiones variables se construyeron y visualizaron con el software MOE, versión 2008 (Chemical Computing Group, Montreal, Canadá).

Diseño de anticuerpos humanizados IL-17A/F antihumanos

Las regiones determinantes de la complementariedad (CDR) murinas se injertaron en secuencias del marco de la línea germinal humana. Las secuencias se compararon con las secuencias de aminoácidos de la línea germinal en V-Base (MRC, Center for Protein Engineering, Reino Unido). Se seleccionó un gen de la línea germinal para la región pesada variable, VH1-03. Se seleccionaron varios genes de la línea germinal para la región liviana variable; VKVI A26, VKI A20, VKVI A14, VKIII L6 y VKI L14. La familia génica de la línea germinal VKVI mostró la más alta homología con la secuencia murina; sin embargo, al ser una familia de la línea germinal poco representativa en el repertorio de anticuerpos humanos, también se consideraron otras familias de la línea germinal con alta homología. Las regiones CDR murinas definidas por el método Kabat se injertaron en las regiones marco humanas definidas por el método Kabat para las cadenas pesadas y livianas.

Construcción, expresión y purificación de anticuerpos anti-IL-17A/F humanizados

Las secuencias de las regiones variables humanizadas se encargaron a GeneART, Inc. (GeneART, Inc. Burlingame, CA, EE. UU.). Las secuencias de las regiones variables humanizadas y murinas se fusionaron con la región constante humana kappa (SEQ ID NO:10) o IgG1.1 (SEQ ID NO:11), una variante sin células efectoras de la IgG1 de tipo silvestre con mutaciones que provocan la reducción de la fijación del receptor Fc γ I y la capacidad de fijarse al complemento (Gross et al., *Immunity*, 15:289-302 (2001)), usando PCR de extensión superpuesta (Horton et al., *Gene*, 77:61-68 (1989)) y/o clonación de enzimas de restricción en pTT5, un vector de expresión transitoria HEK293-6E (NCR Biotechnology Research Institute, Ottawa, ON, CAN). Todos los constructos se expresaron usando la secuencia de señales mod2610 (ATGCGGCGGAGAGGCTGGTCCTGGATCTTCCTGTTTCTGCTGAGCGGAACAGCCGGCGTGCTGAGC, SEQ ID NO:30), aunque se puede usar cualquier secuencia de ácidos nucleicos que codifique la secuencia de aminoácidos MRRRGWSWIFLFLLSGTAGVLS (SEQ ID NO:31). Las células de suspensión HEK293-6E se transfectaron con los constructos de expresión usando un reactivo de polietilenimina y se cultivaron en un medio F17 (Invitrogen, Grand Island, NY, EE. UU.) con la adición de 5 mM de L-glutamina y 25 µg/ml de G418. Después de 24 horas, se agregó 1/40 volumen de Tryptone NI al 20 % (Organotechnie SAS, La Courneuve, FR). Aproximadamente 120 horas después de la transfección, se recolectó el medio condicionado y se hizo pasar a través de un filtro de 0,2 µm. La proteína se purificó del medio condicionado filtrado usando una combinación de cromatografía por afinidad Mab Select SuRe™ (GE Healthcare, Piscataway, NJ, EE. UU.) y cromatografía de exclusión por tamaño SUPERDEX® 200 (GE Healthcare, Piscataway, NJ, EE. UU.). El contenido se calculó mediante la absorbancia a UV-A280 nm, y la calidad se evaluó mediante cromatografía de líquidos de alta resolución, de exclusión por tamaño y analítica, SDS PAGE y transferencia Western.

Actividad del bioensayo del panel de humanización IL-17A/F antihumano; ensayo del indicador de luciferasa NIH/3T3/KZ170 NF-κB para medir la actividad de IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas mediante la inducción de NF-κB

Una línea celular de fibroblastos murina (NIH/3T3, ATCC® #CRL-1658) se transfectó de manera estable con un indicador de luciferasa NF-κB denominado KZ170 y se clonó. Las células del clon 1 NIH/3T3/KZ170 se sembraron a razón de 10.000 células/cavidad en un medio de placas (DMEM más 3 % de FBS, 1 mM de piruvato de sodio, 2 mM de L-glutamina (HyClone Laboratories, South Logan, UT)) en placas de luciferasa de 96 cavidades de fondo sólido y color blanco opaco (Corning Incorporated, Corning, NY) y se incubaron durante la noche a 37 °C con 5 % de CO^2. Al día siguiente, se realizaron diluciones en serie de IL-17A, IL-17A/F o IL-17F humanas recombinantes (ZymoGenetics, A Bristol-Myers Squibb Company, Seattle, WA, EE. UU.) se realizaron en un medio de ensayo (DMEM más 0,5 % de BSA, 1 mM de piruvato de sodio, 2 mM de L-glutamina, 10 mM de HEPES (HyClone Laboratories, South Logan, UT)), se agregaron a las placas que contenían las células y se incubaron juntas a 37 °C con 5 % de CO_2 durante 4 horas. Además, el ensayo se usó para medir la neutralización de la actividad de IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas. Una concentración máxima media (CE_{50}, concentración eficaz al 50 %) de IL-17A, IL-17A/F o IL-17F humanas se combinó con diluciones en serie de anticuerpos IL-17A/F antihumanos descritos en la presente en un medio de ensayo, se agregaron a las placas que contenían las células y se incubaron juntas a 37 °C con 5 % de CO_2 durante 4 horas. Después de la incubación, se retiró el medio, y las células se lisaron antes de ser leídas en el luminómetro de Berthold Centro XS^3 (Berthold Technologies, Wildbad, Alemania) usando sustrato flash (Promega Corporation, Madison, WI) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El aumento de la intensidad de fluorescencia media (mediante la activación del indicador de luciferasa NF-κB) fue un indicio de la interacción entre el receptor de IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas y el ligando. La disminución de la intensidad de la fluorescencia media fue un indicio de la neutralización de la interacción entre el receptor de IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas y el ligando. Los valores de CI_{50} (concentración inhibidora al 50 %) se calcularon con el software GraphPad Prism®4 (GraphPad Software, Inc., San Diego CA) para cada anticuerpo IL-17A/F antihumano.

Actividad del bioensayo del panel quimérico e injertado con CDR de humanización de IL-17A/F antihumana; resultados del ensayo del indicador de luciferasa NIH/3T3/KZ170 NF-κB

Las IL-17A, IL-17A/F e IL-17F inducen la activación del indicador de luciferasa NF-κB en una manera dependiente de la dosis con una concentración de CE_{50} que, según se determinó, fue 0,15 nM para IL-17A, 0,50 nM para IL-17A/F y 0,50 nM para IL-17F. Las Tablas 1 y 2 representan los datos CI_{50} de ejemplo para los anticuerpos anti-IL-17A/F descritos en la presente.

Tabla 1

Nombre	**VH** MVC# SEQ ID NO:	**VL** MVC# SEQ ID NO:	**IL-17A** CI_{50} **nM**	**IL-17A/F** CI_{50} **nM**	**IL-17F** CI_{50} **nM**
339.15 quimérico	**Ms VH VR370** MVC823 SEQ ID NO:32	**Ms VL VR371** MVC824 SEQ ID NO:34	11	0,30	0,26
339-07	**VR370e3 VH1-03** MVC840 SEQ ID NO:36	**Ms VL** MVC824 SEQ ID NO:34	>600	31	5,5
339-08	**Ms VH VR370** MVC823 SEQ ID NO:32	**VR371e3 VKVI A26** MVC841 SEQ ID NO:38	1.5	0,96	0,81
339-02	**Ms VH VR370** MVC823 SEQ ID NO:32	**VR371e2 VKI A20** MVC717 SEQ ID NO:40	1,1	0,80	0,79
339-01	**Ms VH VR370** MVC823 SEQ ID NO:32	**VR371e1 VKVI A14** MVC716 SEQ ID NO:42	9,6	0,26	0,20
339-09	**Ms VH VR370** MVC823 SEQ ID NO:32	**VR371e4 VKIII L6** MVC842 SEQ ID NO:44	7,2	0,20	0,21
339-32	**Ms VH VR370** MVC823 SEQ ID NO:32	**VR371e10 VKI L14** MVC856 SEQ ID NO:46	7,0	1,5	0,35
339-33	**VR370e3 VH1-03** MVC840 SEQ ID NO:36	**VR371e3 VKVI A26** MVC841 SEQ ID NO:38	>600	9,7	1,7
339-126	**VR370e3 VH1-03** MVC840 SEQ ID NO:36	**VR371e2 VKI A20** MVC717 SEQ ID NO:40	>600	24	1,6

Tabla de la actividad del bioensayo del panel injertado con CDR de humanización de IL-17A/F antihumana con retromutación de marco: Resultados del ensayo del indicador de luciferasa NIH/3T3/KZ170 NF-κB

Tabla 2

Nombre	**VH** MVC# SEQ ID NO:	**VL** MVC# SEQ ID NO:	CI_{50} **nM de IL-17A**	CI_{50} **nM de IL-17A/F**	CI_{50} **nM de IL-17F**
339-35	**VR370e4 NKSH** MVC850 SEQ ID NO:48	**VR371e3 VKVI A26** MVC841 SEQ ID NO:38	>600	2,4	0,64

339-71	**VR370e41 KALV** MVC869 SEQ ID NO:50	**VR371e3 VKVI A26** MVC841 SEQ ID NO:38	16	0,37	0,20
339-37	**VR370e6 SF** MVC852 SEQ ID NO:52	**VR371e3 VKVI A26** MVC841 SEQ ID NO:38	>600	20	3,5
339-38	**VR370e7 NKSH KALV** MVC853 SEQ ID NO:54	**VR371e3 VKVI A26** MVC841 SEQ ID NO:38	8,2	0,27	0,27
339-39	**VR370e8 NKSH KALV SF** MVC854 SEQ ID NO:56	**VR371e3 VKVI A26** MVC841 SEQ ID NO:38	7,6	0,23	0,25
339-127	**VR370e4 NKSH** MVC850 SEQ ID NO:48	**VR371e2 VKI A20** MVC717 SEQ ID NO:40	190	3,4	0,50
339-128	**VR370e41 KALV** MVC869 SEQ ID NO:50	**VR371e2 VKI A20** MVC717 SEQ ID NO:40	5,1	0,41	0,25
339-105	**VR370e6 SF** MVC852 SEQ ID NO:52	**VR371e2 VKI A20** MVC717 SEQ ID NO:40	>600	23	2,6
339-125	**VR370e7 NKSH KALV** MVC853 SEQ ID NO:54	**VR371e2 VKI A20** MVC717 SEQ ID NO:40	1,5	0,81	0,83
339-104	**VR370e8 NKSH KALV SF** MVC854 SEQ ID NO:56	**VR371e2 VKI A20** MVC717 SEQ ID NO:40	1,5	0,83	0,83
339-134	**VR370e96 NK KALV** MVC978 SEQ ID NO:58	**VR371e2 VKI A20** MVC717 SEQ ID NO:40	1,4	0,26	0,24

Actividad Biacore del panel de humanización IL-17A/F antihumana; medición de la afinidad de fijación a IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas mediante resonancia de plasmones superficiales (Biacore)

Los anticuerpos monoclonales IL-17A/F antihumanos humanizados se evaluaron para determinar su afinidad de fijación a IL-17A humana, IL-17A/F humana e IL-17F humana usando resonancia de plasmones superficiales.

Las constantes de velocidad cinética y las constantes de disociación en equilibrio se midieron para determinar la interacción entre los anticuerpos IL-17A/F antihumanos humanizados y las IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas mediante resonancia de plasmones superficiales. La constante de velocidad de asociación (k_a ($M^{-1}s^{-1}$)) es un valor que refleja la velocidad de la formación del complejo antígeno-anticuerpo. La constante de velocidad de disociación (k_d (s^{-1})) es un valor que refleja la estabilidad de este complejo. Al dividir la constante de velocidad de disociación por la constante de velocidad de asociación (k_d/k_a), se obtiene la constante de disociación en equilibrio (K_D (M)). Este valor describe la afinidad de fijación de la interacción. Los anticuerpos con K_D similares pueden tener constantes de velocidades de asociación y disociación que varían ampliamente. En consecuencia, la medición de k_a y k_d de los anticuerpos ayuda a describir de manera más precisa la afinidad de la interacción entre el anticuerpo y el antígeno.

Los estudios de afinidad y cinética de fijación se realizaron en un sistema BIACORE® T100 (GE Healthcare, Piscataway, NJ). Los métodos para BIACORE® T100 se programaron con el software de control BIACORE® T100, v 2.0. Para estos experimentos, los anticuerpos IL-17A/F antihumanos humanizados se capturaron en un chip sensor CM4 mediante un anticuerpo Fc-gamma IgG antihumano de cabra (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) o un anticuerpo Fc-gamma IgG antirratón de cabra (Jackson ImmunoResearch). Los experimentos de fijación a las moléculas de IL-17 se realizaron a 25 °C en un amortiguador de 10 mM de HEPES, 150 mM de NaCl, 3 mM de EDTA, 0,05 % de tensioactivo P20 (GE Healthcare) y 1 mg/ml de albúmina de suero bovino a pH 7,4.

El anticuerpo de captura, Fc-gamma IgG antihumano de cabra, se diluyó a una concentración de 20 µg/ml en 10 mM de acetato de sodio a pH 5,0 y luego se inmovilizó de manera covalente a las cuatro celdas de flujo de un chip sensor CM4 usando química de acoplamiento de amina (EDC:NHS). Después de la inmovilización del anticuerpo, los sitios activos restantes en la celda de flujo se bloquearon con etanolamina 1 M. La densidad obtenida del anticuerpo de captura fue de aproximadamente 5000 RU. Los anticuerpos IL-17A/F antihumanos humanizados se capturaron en las celdas de flujo 2, 3 o 4 del chip CM4 a una densidad en el rango de 60-150 RU. La captura de los anticuerpos de prueba en la superficie inmovilizada se realizó a una velocidad de flujo de 10 µl/min. El instrumento BIACORE® mide la masa de proteína unida a la superficie del chip sensor y, por ello, se verificó la captura del anticuerpo de prueba para cada ciclo. Las diluciones en serie de IL-17A, IL-17A/F o IL-17F humanas (ZymoGenetics, A Bristol-Myers, Squibb Company, Seattle, WA, EE. UU.) se prepararon de 100 nM – 0,032 nM (1:5 diluciones en serie). Las diluciones en serie se inyectaron sobre la superficie y se fijaron específicamente al anticuerpo de prueba capturado en el chip sensor. Las inyecciones por duplicado de cada concentración de antígeno se realizaron con un tiempo de asociación de 7 minutos y un tiempo de disociación de 15 minutos. Los estudios de fijación cinética se realizaron con una velocidad de flujo de 50 µl/min. Entre los ciclos, la celda de flujo se lavó con 20 mM de ácido clorhídrico para regenerar la superficie. Esta etapa de lavado removió tanto el anticuerpo de prueba capturado como cualquier antígeno fijado de la superficie del anticuerpo inmovilizado. El anticuerpo de prueba luego se capturó de nuevo en el siguiente ciclo.

Los datos se recopilaron usando el software de evaluación BIACORE® T100 (versión 2.0). Los datos se procesaron restando la celda de flujo de referencia y las inyecciones blanco. Se evaluó la estabilidad inicial para garantizar que la etapa de regeneración haya proporcionado una superficie de fijación consistente durante toda la secuencia de inyecciones. Las curvas de inyección por duplicado se verificaron para determinar su reproducibilidad. En función de la fijación de las moléculas IL-17 bivalentes a un anticuerpo bivalente, se determinó que el modelo de interacción de fijación del analito bivalente era adecuado para las interacciones con las moléculas IL-17. El modelo del analito bivalente se describió previamente en West, A.P., et al., *Biochemistry*, 39:9698-9708 (2000); y West, A.P., et al, *J. Mol. Biol.*, 313:385-397 (2001). La constante de afinidad (K_{D1}) en el modelo del analito bivalente se puede calcular de la relación entre las constantes de velocidad (k_{d1}/k_{a1}) determinadas por resonancia de plasmones superficiales. Las curvas de fijación restadas de referencia se ajustaron globalmente al modelo de fijación adecuado con un Rmax múltiple y con el RI configurado en cero. Los datos se ajustaron bien a los modelos de fijación con una buena concordancia entre las curvas de fijación experimentales y teóricas. Los errores estándares y chi^2 asociados a los ajustes fueron pocos. No hubo tendencias en los errores residuales.

Actividad Biacore del panel de humanización de IL-17A/F antihumano

Los resultados de los experimentos de fijación con IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas se indican en las Tablas 3, 4 y 5, respectivamente.

Afinidad de fijación de anticuerpos humanizados IL-17A/F antihumanos para IL-17A

Tabla 3

Nombre	**k_{a1} ($M^{-1}s^{-1}$)**	**k_{d1} (s^{-1})**	**K_{D1} (M)**
Ratón 339,15	4.E+06	7.E-03	2.E-09
339-02 SEQ ID NO:32 SEQ ID NO:40	2.E+06	6.E-03	3.E-09
Quiméricos 339,15 SEQ ID NO:32 SEQ ID NO:34	3.E+06	1.E-02	4.E-09
339-38 SEQ ID NO:54 SEQ ID NO:38	4.E+06	5.E-03	1.E-9
339-125 SEQ ID NO:54 SEQ ID NO:40	2.E+06	3.E-03	1.E-9
339-134 SEQ ID NO:58 SEQ ID NO:40	2.E+06	3.E-03	1.E-9

Afinidad de fijación de anticuerpos humanizados anti-IL-17A/F para IL-17A/F

Tabla 4

Nombre	**k_{a1} ($M^{-1}s^{-1}$)**	**k_{d1} (s^{-1})**	**K_{D1} (M)**
339,15 de ratón	1.E+06	2.E-04	2.E-10
339-02 SEQ ID NO:32 SEQ ID NO:40	No determinado		
339,15 quimérico SEQ ID NO:32 SEQ ID NO:33	No determinado		
339-38 SEQ ID NO:54 SEQ ID NO:40	1.E+06	4.E-04	4.E-10
339-125 SEQ ID NO:54 SEQ ID NO:40	2.E+06	6.E-04	3.E-10
339-134 SEQ ID NO:58 SEQ ID NO:40	2.E+06	5.E-04	2.E-10

Afinidad de fijación de anticuerpos humanizados anti-IL-17A/F para IL-17F

Tabla 5

Nombre	**k_{a1} ($M^{-1}s^{-1}$)**	**k_{d1} (s^{-1})**	**K_{D1} (M)**
Ratón 339,15	2.E+06	1.E-04	5.E-11
339-02 SEQ ID NO:32 SEQ ID NO:40	1.E+06	5.E-04	4E-10
339,15 quiméricos SEQ ID NO:32 SEQ ID NO:34	1.E+06	5.E-04	4E-10
339-38 SEQ ID NO:54 SEQ ID NO:40	2.E+06	6.E-04	3.E-10
339-125 SEQ ID NO:54 SEQ ID NO:40	2.E+06	2.E-04	1.E-10
339-134 SEQ ID NO:58 SEQ ID NO:40	2.E+06	2.E-04	1.E-10

Ejemplo 2

Selección de anticuerpos 7B7 y generación de hibridomas

Método de agrupamiento en intervalos (binning) de epítopos mediante tecnología de resonancia de plasmones superficiales (Biacore) a grupos de anticuerpos en función de sus propiedades de fijación y bloqueo, como se muestra en la Figura 11.

Los anticuerpos se agruparon y seleccionaron según su capacidad para:

1. Fijarse específicamente al subdominio p19 solo de IL-23;
2. Bloquear específicamente solo el receptor de IL-23 (IL-23R) y no bloquear el receptor de IL-12 (IL-12R); y
3. No competir con ningún anticuerpo que pudiera fijarse específicamente al subdominio p40 de IL-23

Se seleccionaron materiales, tales como anticuerpos con selectividad previamente conocida de los subdominios p19 o p40 de IL-23, IL-23R o IL-12R, para recubrirlos en un chip BIACORE® CM5. La densidad del recubrimiento varió entre 500 y 8000 unidades de resonancia (RU). Los anticuerpos agrupados en intervalos se titularon en serie (1:2 o 1:3) a 8 concentraciones, desde las concentraciones de inicio en un rango de 10 a 100 µg/ml en una placa ELISA de 96 cavidades. A cada cavidad, se agregaron 10 nM de antígeno IL-23. Los anticuerpos en la placa formaron un complejo con antígeno y alcanzaron el equilibrio durante la noche a 4 °C. Los complejos se inyectaron en el chip CM5 a una velocidad de flujo de 20 µL/min durante dos minutos. Se observó la señal, como unidad de resonancia (RU) de fijación, al finalizar los dos minutos. El complejo anticuerpo-antígeno pudo competir o no competir con el material recubierto en el chip. Si el anticuerpo en complejo con el antígeno compitió con el material en el chip, con una concentración creciente del anticuerpo, la RU de fijación disminuyó, y si no compitió, la RU de fijación aumentó. Sobre la base de esta observación, todos los anticuerpos anti-IL23 se agruparon en intervalos de acuerdo con su selectividad de fijación y capacidad de competir.

Los ratones transgénicos HCo12 J/K de HUMAB® de las colonias Medarex en Milpitas, CA se inmunizaron con IL-23-his humana recombinante en el adyuvante RIBI.

El suero de los ratones inmunizados se evaluó para determinar la expresión de anticuerpos específicos IL-23 mediante ELISA dual indirecto modificado. En síntesis, las placas de microtitulación (COSTAR®, fondo plano, 96 cavidades, #9018) se recubrieron con proteína anti-his de ratón a 2,5 µg/ml en PBS, 50 l/cavidad, se incubaron a 4 °C durante la noche y luego se bloquearon con 1 % de BSA en PBS. Se agregó HuIL-23 a 2,5 µg/ml o HuIL-12 a las placas para la captura a razón de 50 µl/cavidad y se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora. Las placas se lavaron con PBS Tween, y se agregaron diluciones de suero y se incubaron durante 1 hora. Las placas se lavaron con PBS-Tween y se incubaron con cadena pesada gamma antihumana de cabra conjugada con HRP (Jackson ImmunoResearch Cat. 109-036-098) durante 1 hora. Después de 3x lavados, las placas se desarrollaron con sustrato ABTS (Moss, CAT #ABTS-1000), y el OD se analizó a 415 nm. Los datos se analizaron y expresaron como título de suero, que se define como la más alta dilución de suero que da como resultado una señal positiva de antígeno de al menos dos veces el fondo. Se seleccionó el ratón 215094 para la generación de hibridomas en función de los títulos relativamente altos en IL-23 con una menor reactividad cruzada con IL-12, en comparación con otros ratones del cohorte (véase la Tabla 6).

Tabla 6. Títulos de suero

ID de ratón	Genotipo	Hu IL23-his	Hu IL12-his
215088	HCo12:01[J/K]	>109, 350	>109, 350
215090	HCo12:01[J/K]	>109, 350	>109, 350
215092	HCo12:01[J/K]	>109, 350	>109, 350
215094	HCo12:01[J/K]	>109, 350	12, 150
215096	HCo12:01[J/K]	>109, 350	36, 450
215098	HCo12:01[J/K]	36, 450	1, 350
215089	HCo12:01[J/K]	>109, 350	1, 350
215091	HCo12:01[J/K]	>109, 350	>109, 350
215093	HCo12:01[J/K]	>109, 350	4.050
215095	HCo12:01[J/K]	>109, 350	>109, 350
215097	HCo12:01[J/K]	>109, 350	>109, 350
215099	HCo12:01[J/K]	12150	12, 150

El genotipo de ratón 215094 se proporciona a continuación en la Tabla 7.

Tabla 7. Genotipo de ratón 215094

ID de ratón	Sexo	Fecha de nacimiento	Genotipo
215094	M	10/11/2009	HCo12(15087)+^;JHD++;JKD++;KCo5(9272)+^;

Se usó el bazo del ratón 215094 para generar hibridomas con células de mieloma de ratón (ATCC CRL-1580) mediante electrofusión en campo eléctrico usando un dispositivo de electroporación de fusión celular de cámara grande CytoPulse en un procedimiento denominado fusión 2378.

Los medios condicionados de los hibridomas resultantes primero se cribaron para determinar la expresión de IgG γ/κ humana en un ensayo automatizado estándar y luego se realizó ELISA para la fijación a IL-23 con un ELISA de cribado inverso en IL-12 para identificar clones específicos, como se describió previamente. Los criterios de selección de hibridomas para la evaluación fueron muestras con un OD mayor de 1,5 en placas huIL23 y menor de 0,15 en huIL12.

La fusión 2378 generó un total de 827 hibridomas positivos IgG humanos de los cuales 128 fueron específicos de IL-23. El hibridoma 7B7 se seleccionó para realizar más ensayos en función de su fuerte fijación a IL-23 y la ausencia de reactividad cruzada con IL-12, en comparación con los anticuerpos de control positivos anti-p19 y anti-p40; en la Figura 7, se indica un ejemplo de hibridomas que incluyen 7B7 seleccionados mediante ELISA. El isotipo del subclón 7B7.D4 se confirmó como IgG1 humana, kappa mediante ELISA.

El medio condicionado con hibridomas de todos los MAb específicos de IL-23p-19 se cribó para determinar la actividad neutralizante de IL-23 en un ensayo celular. Se demostró que Kit225, un línea de linfocitos T humanos establecida de un paciente con leucemia linfocítica crónica de linfocitos T, responde a IL-23 con una fosforilación de STAT3 dependiente de la dosis (pSTAT3). Se usó IL-23 humana a CE_{50} con y sin la adición de medio condicionado con hibridomas o un anticuerpo anti-p19 neutralizante de control para estimular células durante 15 minutos. Las células se lisaron, y la inhibición de la fosforilación de STAT3 dependiente de IL-23 se evaluó mediante ELISA (Cell Signaling Technology, PATHSCAN® Cat #7300), en donde un menor O.D. indica una reducción de los niveles de pSTAT3. El hibridoma 7B7 se seleccionó para la subclonación y caracterización adicional en función de la potente neutralización de la señalización de IL-23 observada en el ensayo Kit225, que se muestra en la Figura 8.

Mediante el uso de ensayos similares a los descritos con anterioridad, se demostró la fijación selectiva de IL-23 y la neutralización de la señalización de IL-23 para el subclon 7B7 1413.2378.7B7.D4.H2, que luego se utilizó para la secuenciación (el dominio variable de la cadena pesada IL-23p19 7B7 se muestra en SEQ ID NO:7, y el dominio variable de la cadena ligera se muestra en SEQ ID NO:9).

Ejemplo 3

Generación de anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos

Construcción y expresión de moléculas biespecíficas IL-23/IL-17A/F antihumanas de mamífero

Se sintetizaron genes parciales o totales en GeneART, Inc (GeneART, Inc. Burlingame, CA, EE. UU.) o GenScript (GenScript, Piscataway, NJ, EE. UU.) y se insertaron en pTT5, un vector de expresión transitorio HEK293-6E (NCR Biotechnology Research Institute, Ottawa, ON, Canadá) mediante clonación de enzimas de restricción. MVC1059 (SEQ ID NO:62) y MVC1061 (SEQ ID NO:60) se encargaron como constructos completos de GenScript (GenScript, Piscataway, NJ, EE. UU.). Todos los constructos se expresaron usando la secuencia de señales mod2610 (SEQ ID NO:30). biAbFabL es un anticuerpo biespecífico que contiene un anticuerpo completo con una unidad Fab del terminal C del segundo brazo del anticuerpo biespecífico unido mediante un ligador (por ejemplo, 10mer G_4S) y utiliza una cadena ligera común (véase la Figura 2). taFab es un anticuerpo biespecífico que contiene un anticuerpo completo con una unidad Fab del terminal N del segundo brazo del anticuerpo biespecífico unido mediante un ligador, tal como $(Gly_4Ser_1)_x$, en donde x es 1, 2 o 3, y el ligador de SEQ ID NO:12. Al igual que sucede con la porción de la cadena pesada, hay dos cadenas ligeras para cada brazo del anticuerpo biespecífico unido mediante un ligador, tal como $(Gly_4Ser_1)_x$, en donde x es 1, 2 o 3, y el ligador de SEQ ID NO:12 (véase la Figura 3). El Fc heterodimérico es un anticuerpo biespecífico que se asemeja a un anticuerpo tradicional y, sin embargo, contiene dos cadenas pesadas diferentes que se asocian a través de una asociación de complementariedad electrostática en la región C_{H3}. El Fc heterodimérico utiliza una cadena ligera común (véase la Figura 4). Las regiones constantes de la cadena pesada y de la cadena ligera incluyen IgG1.1 (SEQ ID NO:11, que puede ser codificada por SEQ ID NO:82), IgG1.1f sin lisina del terminal C (SEQ ID NO:127), IgG1.1f con una lisina del terminal C (SEQ ID NO:128), región constante kappa humana (SEQ ID NO:10, que puede ser codificada por SEQ ID NO:83), o IgG4.1 (SEQ ID NO:8). El dominio constante de la cadena pesada de IgG4 puede ser una variante de IgG4 de tipo silvestre que tiene una mutación en la región bisagra, S228P (sistema de numeración del índice de la UE) o S241P (sistema de numeración Kabat). El cambio de serina en 241 (Kabat) a prolina (que se encuentra en esa posición en IgG1 e IgG2) en una cadena pesada quimérica de ratón/humana genera la producción de un anticuerpo homogéneo y elimina la heterogeneidad. Además, la variante de IgG4 tiene una vida media sérica considerablemente extendida y muestra una mejor distribución del tejido en comparación con la IgG4 quimérica original. Angal et al., Molecular Immunology, 30(1):105-108 (1993); Schuurman et al., Molecular Immunology, 38:1-8 (2001); Lewis et al., Molecular Immunology, 46:3488-3494 (2009).

La transformación de las células huéspedes de *E. coli* electrocompetentes (DH10B) se realizó con 1 µl de la preparación de ADN de levadura y 20 µl de células de *E. coli*. Las células se electropulsaron a 2,0 kV, 25 µF y 400 ohm. Después de la electroporación, se agregaron 600 µl de SOC (2 % de BACTO® Tryptone (Difco, Detroit, MI), 0,5 % de extracto de levadura (Difco), 10 mM de NaCl, 2,5 mM de KCl, 10 mM de $MgCl_2$, 10 mM de $MgSO_4$, 20 mM de glucosa), y las células se colocaron en placas en 50 µl y 550 µl alícuotas en dos placas LB AMP (cultivo LB (Lennox), 1,8 % de BACTO® Agar (Difco), 100 mg/l de ampicilina).

Cinco colonias de cada constructo se sometieron a análisis de secuencia. Se seleccionó un clon que contenía la secuencia correcta. Se realizó secuenciación de ADN usando ABI PRISM® BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA). Las reacciones de secuenciación se purificaron con cartuchos de filtración de gel Edge BioSystems Preforma Centriflex (Gaithersburg, MD) y se corrieron en un analizador de ADN de Applied Biosystems 3730 (Applied Biosystems, Foster City, CA). Los datos de las secuencias resultantes se

agruparon y se editaron con el software SEQUENCHER® v4.6 (GeneCodes Corporation, Ann Arbor, MI.). Se seleccionó un clon que contenía la secuencia correcta, y se aisló ADN plasmídico a gran escala usando un kit disponible en el comercio (QIAGEN® Plasmid Mega Kit, Qiagen, Valencia, CA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Las células de suspensión HEK293-6E se transfectaron con los constructos de expresión usando un reactivo de polietilenimina y se cultivaron en un medio F17 (Invitrogen, Grand Island, NY, EE. UU.) con la adición de 5 mM de L-glutamina y 25 µg/ml de G418. Después de 24 horas, se agregó 1/40 volumen de Tryptone NI al 20 % (Organotechnie SAS, La Courneuve, FR). Aproximadamente 120 horas después de la transfección, se recolectó el medio condicionado y se hizo pasar a través de un filtro de 0,2 µm. La proteína se purificó del medio condicionado filtrado usando una combinación de cromatografía por afinidad Mab Select SuRe™ (GE Healthcare, Piscataway, NJ, EE. UU.) y cromatografía de exclusión por tamaño SUPERDEX® 200 (GE Healthcare, Piscataway, NJ, EE. UU.). El contenido se calculó mediante la absorbancia a UV-A280 nm, y la calidad se evaluó mediante cromatografía de líquidos de alta resolución, de exclusión por tamaño y analítica, SDS PAGE y transferencia Western.

Composición de anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos

Un anticuerpo completo y sus componentes modulares se representan en la Figura 1. El formato de biAbFabL se representa en la Figura 2. El formato de taFab se representa en la Figura 3. El formato de Fc heterodimérico se representa en la Figura 4. El formato de VCVFc se representa en la Figura 5. El formato de VCDFc se representa en la Figura 6.

Actividad del bioensayo de anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos; ensayo del indicador de luciferasa NIH/3T3/KZ170 NF-κB para medir la actividad de IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas mediante la inducción de NF-κB

El material y los métodos de este ensayo se describieron en el Ejemplo 1.

Actividad del bioensayo de anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos; ensayo fosfo-STAT3 de transfectantes Baf3/huIL-23Rα/huIL-12Rβ1 para medir la actividad de IL-23 humana mediante la inducción de fosfo-STAT3

Una línea celular derivada de la médula ósea murina (Baf3) se transfectó de manera estable con IL-23Rα humana e IL-12Rβ1 humana, y se clonó. Las células del clon 6 Baf3/huIL-23Rα/huIL-12Rβ1 se lavaron tres veces con un medio de ensayo (RPMI 1640 más 10 % de suero bovino fetal, 2 mM de L-glutamina, 1 mM de piruvato de sodio (HyClone Laboratories, South Logan, UT), y 2 µM de β-mercaptoetanol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)) antes de colocarlas en placas a razón de 50.000 células/cavidad en placas de cultivo tisular de fondo redondo de 96 cavidades. Se realizaron diluciones en serie de IL-23 humana recombinante (ZymoGenetics, A Bristol-Myers Squibb Company, Seattle WA, EE. UU.) en un medio de ensayo, se agregaron a las placas que contenían las células y se incubaron juntas a 37 °C con 5 % de CO_2 durante 15 minutos. El ensayo también se usó para medir la neutralización de la actividad de IL-23. Una concentración máxima media (CE_{50}, concentración eficaz al 50 %) de IL-23 se combinó con diluciones en serie de anticuerpos IL-23/IL-17A/F antihumanos descritos en la presente y se incubaron juntos a 37 °C con 5 % de CO_2 durante 15 minutos en un medio de ensayo antes de agregarlos a las células. Después de la incubación previa, se agregaron los tratamientos a las placas que contenían las células y se incubaron juntas a 37 °C con 5 % de CO_2 durante 15 minutos. Después de la incubación, las células se lavaron con un amortiguador de lavado helado y se colocaron sobre hielo para detener la reacción de acuerdo con las instrucciones del fabricante (BIO-PLEX® Cell Lysis Kit, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). Luego las células se centrifugaron a 2000 rpm, a 4 °C durante 5 minutos antes de desechar el medio. Se agregaron 50 µl/cavidad de amortiguador de lisis a cada cavidad; los lisados se agitaron con la pipeta hacia arriba y hacia abajo cinco veces mientras estaban en hielo y se agitaron en un agitador de placas durante 20 minutos a 300 rpm y 4 °C. Las placas se centrifugaron a 3200 rpm, a 4 °C durante 20 minutos. Los sobrenadantes se recolectaron y se transfirieron a una nueva placa de microtitulación para el almacenamiento a -80 °C.

Las microesferas de captura (BIO-PLEX® Phospho-STAT3 Assay, Bio-Rad Laboratories) se combinaron con 50 µl de 1:1 de lisados diluidos y se agregaron a una placa de filtro de 96 cavidades de acuerdo con las instrucciones del fabricante (BIO-PLEX® Phosphoprotein Detection Kit, Bio-Rad Laboratories). La placa recubierta con papel de aluminio se incubó durante la noche a temperatura ambiente mientras se agitaba a 300 rpm. La placa se transfirió a un aparato de microtitulación al vacío y se lavó tres veces con amortiguador de lavado. Después de la adición de 25 µl/cavidad de anticuerpo de detección, la placa recubierta con papel de aluminio se incubó a temperatura ambiente durante 30 minutos mientas se agitaba a 300 rpm. La placa se filtró y se lavó tres veces con amortiguador de lavado. Se agregó estreptavidina-PE (50 µl/cavidad), y la placa recubierta con papel de aluminio se incubó a temperatura ambiente durante 15 minutos mientas se agitaba a 300 rpm. La placa se filtró y se lavó tres veces con amortiguador de resuspensión de microesferas. Después del lavado final, las microesferas se volvieron a suspender en 125 µl/cavidad de amortiguador de suspensión de microesferas, se agitó durante 30 segundos y se leyó en un lector de matriz (BIO-PLEX® 100, Bio-Rad Laboratories) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los datos se analizaron con el software analítico (BIO-PLEX® Manager 4.1, Bio-Rad Laboratories). El aumento del nivel del factor

de transcripción STAT3 fosforilado presente en los lisados es un indicio de la interacción entre el receptor de IL-23 y el ligando. La disminución del nivel del factor de transcripción STAT3 fosforilado presente en los lisados es un indicio de la neutralización de la interacción entre el receptor de IL-23 y el ligando. Los valores de CI_{50} (concentración inhibidora al 50 %) se calcularon con el software GraphPad Prism®4 (GraphPad Software, Inc., San Diego CA) para cada anticuerpo IL-23/IL-17A/F antihumano.

Actividad del bioensayo de anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos; resultados del ensayo del indicador de luciferasa NIH/3T3/KZ170 NF-κB y del ensayo fosfo-STAT3 de transfectantes Baf3/huIL-23Rα/huIL-12Rβ1

Las IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas inducen la activación del indicador de luciferasa NF-κB en una manera dependiente de la dosis con una concentración CE_{50} que, según se determinó, fue 0,33 nM para IL-17A, 1 nM para IL-17A/F y 1 nM para IL-17F, e IL-23 induce la fosforilación de STAT3 en una manera dependiente de la dosis con una concentración CE_{50} que, según se determinó, fue 0,02 nM. Los datos de CI_{50} para los anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos se muestran a continuación en la Tabla 8.

Tabla de anticuerpos biespecíficos IL-23/17A/F antihumanos

Tabla 8

Nombre	**Cadena pesada** MVC# SEQ ID NO:	**Cadena ligera** MVC# SEQ ID NO:	CI_{50} **nM de IL-17A**	CI_{50} **nM de IL-17A/F**	CI_{50} **nM de IL-17F**	CI_{50} **nM de IL-23**
339-134 mAb IgG1.1	MVC978 SEQ ID NO:64	MVC717 SEQ ID NO:66	1,3	0,27	0,24	No realizado
IL23.6 (7B7) mAb IgG1.1	MVC1003 SEQ ID NO:68	MVC1002 SEQ ID NO:17*	No realizado	No realizado	No realizado	0,014
23/17bAb1 IgG1.1	MVC1006 SEQ ID NO:28*	MVC1002 SEQ ID NO:17*	0,064	0,76	0,96	0,015
23/17bAb2 IgG1.1	MVC1007 SEQ ID NO:18*	MVC1002 SEQ ID NO:17*	0,052	0,43	0,44	0,041
23/17bAb3 IgG4.1	MVC1036 SEQ ID NO:74	MVC1002 SEQ ID NO:17*	0,022	0,20	0,23	0,012
23/17bAb4 IgG4.1	MVC1037 SEQ ID NO:29*	MVC1002 SEQ ID NO:17*	0,035	0,18	0,87	0,048
23/17taFab1 IgG1.1	MVC1008 SEQ ID NO:76	MVC 1009 SEQ ID NO:78	1,5	3,9	2,3	0,018
23/17hetero1 IgG1.1	MVC1059 SEQ ID NO:62 MVC1060 SEQ ID NO:64	MVC1002 SEQ ID NO:17*	0,34	0,78	0,33	0,060
23/17hetero2 IgG1.1	MVC1061 SEQ ID NO:60 MVC1062 SEQ ID NO:80	MVC1002 SEQ ID NO:17*	0,71	2,33	0,96	0,055
*La secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:17 puede ser codificada por la secuencia de SEQ ID NO:70; la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28 puede ser codificada por la secuencia de SEQ ID NO:71; la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:18 puede ser codificada por la secuencia de SEQ ID NO:72; la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 puede ser codificada por la secuencia de SEQ ID NO:75.						

Actividad del bioensayo de anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos; ensayo de SAEC humanas primarias para medir la actividad de IL-17A, IL-17AF e IL-17F humanas mediante la inducción de G-CSF

Las células epiteliales de las vías aéreas pequeñas humanas primarias (SAEC) se sembraron a razón de 8.000 células/cavidad en un medio de desarrollo epitelial de las vías aéreas pequeñas (SAGM) (células y medios: Lonza, Walkersville, MD) en placas de cultivo tisular de fondo plano de 96 cavidades (Corning Incorporated, Corning, NY) y se incubaron durante la noche a 37 °C con 5 % de CO_2. Al día siguiente, se realizaron diluciones en serie de IL-17A, IL-17A/F o IL-17F humanas (ZymoGenetics, A Bristol-Myers Squibb Company, Seattle WA, EE. UU.) en un medio SAGM, se agregaron a las placas que contenían las células y se incubaron juntas a 37 °C con 5 % de CO_2 durante

24 horas. Además, el ensayo se usó para medir la neutralización de la actividad de IL-17A, IL-17A/F e IL-17F. Una concentración máxima media (CE_{50}, concentración eficaz al 50 %) de IL-17A, IL-17A/F o IL-17F se combinó con diluciones en serie de anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos descritos en la presente en un medio SAGM, se agregaron a las placas que contenían las células y se incubaron juntas a 37 °C con 5 % de CO_2 durante 24 horas. Después de la incubación, los sobrenadantes se centrifugaron, se recolectaron y se congelaron a 80 °C hasta que estuvieron listos para procesarlos. Los niveles proteicos del G-CSF humano en los sobrenadantes se midieron con un ensayo ELISA de citocina de G-CSF humano basado en microesferas disponible en el comercio de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Procarta/Affymetrix, Santa Clara, CA). El aumento de los niveles de G-CSF humano en el sobrenadante fue un indicio de la interacción entre el receptor de IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas y el ligando. La disminución de los niveles de G-CSF humano en el sobrenadante fue un indicio de la neutralización de la interacción entre el receptor de IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas y el ligando. Los valores de CI_{50} (concentración inhibidora al 50 %) se calcularon con el software GraphPad Prism®4 (GraphPad Software, Inc., San Diego CA) para cada anticuerpo biespecífico IL-23/IL-17A/F antihumano.

Actividad del bioensayo de anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos; resultados del ensayo de SAEC humano primario

Las IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas inducen la producción de G-CSF humano en una manera dependiente de la dosis con una concentración CE_{50} que, según se determinó, fue 0,03 nM para IL-17A, 3 nM para IL-17A/F y 3 nM para IL-17F. Los anticuerpos biespecíficos evaluados incluyen 23/17bAb1 (SEQ ID NO:28 y SEQ ID NO:17), 23/17bAb2 (SEQ ID NO:18 y SEQ ID NO:17), 23/17bAb3 (SEQ ID NO:74 y SEQ ID NO:17), 23/17bAb4 (SEQ ID NO:29 y SEQ ID NO:17). También se evaluó el anticuerpo IL-17A/F antihumano humanizado 339-134 mAb (SEQ ID NO:65 y SEQ ID NO:67). Los datos de CI_{50} para los anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos se muestran a continuación en la Tabla 9. Estos datos indican que los anticuerpos biespecíficos anti-IL-23/IL-17A/F que inhiben la producción de IL-6 mediada por IL-17A, IL-17A/F, IL-17F humanas fueron igualmente potentes.

Actividad del bioensayo de anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos; ensayo de fibroblastos humanos primarios para medir la actividad de IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas mediante la inducción de IL-6

Una línea celular de fibroblastos humanos primarios (HFFF2, Cat #86031405, Health Protection Agency Culture Collections, Porton Down Salisbury, Reino Unido) se sembró a razón de 5.000 células/cavidad en un medio de ensayo (DMEM más 10 % de FBS y 2 mM de L-glutamina (HyClone Laboratories, South Logan, UT)) en placas de fondo plano de 96 cavidades (Corning Incorporated, Corning, NY) y se incubaron durante la noche a 37 °C con 5 % de CO_2. Al día siguiente, se realizaron diluciones en serie de IL-17A, IL-17AF o IL-17F humanas recombinantes (ZymoGenetics, A Bristol-Myers Squibb Company, Seattle WA, 98117) en un medio de ensayo, se agregaron a las placas que contenían las células y se incubaron juntas a 37 °C con 5 % de CO_2 durante 24 horas. Además, el ensayo se usó para medir la neutralización de la actividad de IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas. Una concentración máxima media (CE_{50}, concentración eficaz al 50 %) de IL-17A, IL-17A/F o IL-17F humanas se combinó con diluciones en serie de anticuerpos IL-23/IL-17A/F antihumanos descritos en la presente en un medio de ensayo, se agregaron a las placas que contenían las células y se incubaron juntas a 37 °C con 5 % de CO_2 durante 24 horas. Después de la incubación, los sobrenadantes se centrifugaron, se recolectaron y se congelaron a 80 °C hasta que estuvieron listos para procesarlos. Los niveles proteicos del IL-6 humana en los sobrenadantes se midieron con un ensayo ELISA de citocina de IL-6 humana basado en microesferas disponible en el comercio de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). El aumento de los niveles de IL-6 humana en el sobrenadante fue un indicio de la interacción entre el receptor de IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas y el ligando. La disminución de los niveles de IL-6 humana en el sobrenadante fue un indicio de la neutralización de la interacción entre el receptor de IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas y el ligando. Los valores de CI_{50} (concentración inhibidora al 50 %) se calcularon con el software GraphPad Prism®4 (GraphPad Software, Inc., San Diego CA) para cada anticuerpo biespecífico IL-23/IL-17A/F antihumano.

Actividad del bioensayo de anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos; resultados del ensayo de fibroblastos humanos primarios

Las IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas inducen la producción de IL-6 humana en una manera dependiente de la dosis con una concentración CE_{50} que, según se determinó, fue 0,08 nM para IL-17A, 25 nM para IL-17AF y 25 nM para IL-17F. Los anticuerpos biespecíficos evaluados incluyen 23/17bAb1 (SEQ ID NO:28 y SEQ ID NO:17), 23/17bAb2 (SEQ ID NO:18 y SEQ ID NO:17), 23/17bAb3 (SEQ ID NO:74 y SEQ ID NO:17), 23/17bAb4 (SEQ ID NO:29 y SEQ ID NO:17). También se evaluó el anticuerpo IL-17A/F antihumano humanizado mAb 339-134 (SEQ ID NO:64 y SEQ ID NO:66). Los datos de CI_{50} para los anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos se muestran a continuación en la Tabla 9. Estos datos indican que los anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos que inhiben la producción de IL-6 mediada por IL-17A, IL-17A/F, IL-17F humanas fueron igualmente potentes.

Actividad del bioensayo de anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos; ensayo de esplenocitos murinos para medir la actividad de IL-23 humana mediante la inducción de IL-17A e IL-17F murinas

Se preparó una sola suspensión celular de esplenocitos murinos de bazos enteros recolectados de ratones BALB/c. Después de la lisis de los glóbulos rojos con amortiguador ACK ($KHCO_3$ 0,010 M, EDTA 0,0001 M, NH_4Cl 0,150 M, pH 7,2), los esplenocitos se lavaron y se volvieron a suspender en un medio de ensayo (RPMI 1640 más 10 % de FBS, aminoácidos no esenciales, 1mM de piruvato de sodio, 2 mM de L-glutamina, 10 mM de HEPES, 100 unidades/m de Pen/Strep (HyClone Laboratories, South Logan, UT), 50 uM de 2-mercaptoetanol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) y 50 ng/ml de IL-2 humana (R&D Systems, Minneapolis, MN)). Los esplenocitos se sembraron a razón de 500.000 células por cavidad en placas de fondo redondo de 96 cavidades. Se realizaron diluciones en serie de IL-23 humana recombinante (material heterodimérico BDC 50220AN087) en un medio de ensayo, se agregaron a las placas que contenían las células y se incubaron juntas a 37 °C con 5 % de CO_2 durante 24 horas. El ensayo también se usó para medir la neutralización de la actividad de IL-23 humana. Una concentración máxima media (CE_{50}, concentración eficaz al 50 %) de IL-23 se combinó con diluciones en serie de anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos descritos en la presente y se incubaron juntos a 37 °C con 5 % de CO_2 durante 15 minutos en un medio de ensayo antes de agregarlos a las células. Después de la incubación previa, se agregaron los tratamientos a las placas que contenían las células y se incubaron juntas a 37 °C con 5 % de CO_2 durante 24 horas. Después de la incubación, los sobrenadantes se centrifugaron, se recolectaron y se congelaron a 80 °C hasta que estuvieron listos para procesarlos. Los niveles proteicos de IL-17A e IL-17F murinas en los sobrenadantes se midieron con un ensayo ELISA de IL-17A e IL-17F murinas basado en placas disponible en el comercio de acuerdo con las instrucciones del fabricante (eBiosciences, San Diego, CA). El aumento de los niveles de IL-17A e IL-17F murinas en el sobrenadante fue un indicio de la interacción entre el receptor de IL-23 y el ligando. La disminución de los niveles de IL-17A e IL-17F murinas en el sobrenadante fue un indicio de la neutralización de la interacción entre el receptor de IL-23 y el ligando. Los valores de CI_{50} (concentración inhibidora al 50 %) se calcularon con el software GraphPad Prism®4 (GraphPad Software, Inc., San Diego CA) para cada anticuerpo biespecífico IL-23/IL-17A/F antihumano.

Actividad del bioensayo de anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos; resultados del ensayo de esplenocitos murinos

La IL-23 humana indujo las IL-17A e IL-17F murinas en una manera dependiente de la dosis con una concentración CE_{50} que, según se determinó, fue 0,01 nM. Los anticuerpos biespecíficos evaluados incluyen 23/17bAb1 (SEQ ID NO:28 y SEQ ID NO:17), 23/17bAb2 (SEQ ID NO:18 y SEQ ID NO:17), 23/17bAb3 (SEQ ID NO:74 y SEQ ID NO:17), 23/17bAb4 (SEQ ID NO:29 y SEQ ID NO:17). También se evaluó el mAb (7B7) IL-23.6 antihumano (SEQ ID NO:68 y SEQ ID NO:17). Los datos de CI_{50} para los anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos se muestran a continuación en la Tabla 9. Estos datos indican que los anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos inhiben la producción de IL-17A e IL-17F murinas inducida por IL-23 humana.

Actividad del bioensayo de anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos; ensayo fosfo-STAT3 de linfocitos T humanos primarios para medir la actividad de IL-23 humana mediante la inducción de fosfo-STAT3

PBMC obtenidas mediante leucoféresis: Se seleccionaron al azar donantes humanos sanos (grupo de donantes sanos de ZymoGenetics) y se sometieron voluntariamente a la técnica de aféresis en el centro de investigación contra el cáncer FHCRC (Seattle, WA). Las PBMC obtenidas mediante leucoféresis se enviaron a ZymoGenetics en una bolsa estéril para la extracción sanguínea. Las células se vertieron en una botella de plástico estéril de 500 ml, se diluyeron hasta 400 ml con PBS a temperatura ambiente más 1 mM de EDTA (HyClone Laboratories, South Logan, UT) y se transfirieron a tubos cónicos de 250 ml. Los tubos de 250 ml se centrifugaron a 1500 rpm durante 10 minutos para convertir las células en pelets. Luego el sobrenadante celular se retiró y se desechó. Los pelets celulares se combinaron y se suspendieron en 400 ml de PBS más 1 mM de EDTA. La suspensión celular (25 ml/tubo) se revistió con FICOLL® (20 ml/tubo) en tubos cónicos de 50 ml (total de 16 tubos). Los tubos se centrifugaron a 2000 rpm durante 20 minutos a temperatura ambiente. La capa de la interfase (“capa leucocítica”) que contenía los glóbulos blancos y las plaquetas residuales se recolectó, se agrupó y se lavó de manera reiterada con PBS más 1 mM de EDTA hasta que se retiraron la mayoría de las plaquetas. Luego los glóbulos blancos se suspendieron en 100 ml de medio de criopreservación helado (70 % de RPMI 1640, 20 % de FCS, 10 % de DMSO (HyClone Laboratories)) y se distribuyeron en crioviales estériles (1 ml células/vial). Los crioviales se colocaron en un congelador a 80 °C durante 24 horas antes de transferirlos a un congelador de nitrógeno líquido. El rendimiento de los glóbulos blancos de una aféresis típica es de 0,5 – 1,0 x 10^{10} células. Las células de aféresis procesadas de esta manera contienen linfocitos T, linfocitos B, células NK, monocitos y células dendríticas.

Preparación de linfocitos T activados: Los linfocitos T deben ser activos para poder expresar el receptor de IL-12 y responder a IL-12 e IL-23. Las PBMC crioconservadas obtenidas mediante leucoféresis se descongelaron, se transfirieron a un tubo cónico estéril de 50 ml, se lavaron con 50 ml de un medio de ensayo caliente (RPMI 1640 más 10 % de FBS (HyClone Laboratories)) y se incubaron en un baño de agua a 37 °C durante 1 hora para que las células se recuperaran. Luego las células se centrifugaron, y el sobrenadante celular se desechó. El pelet celular se volvió a suspender en un medio de ensayo y se distribuyó en matraces de cultivo tisular estériles de 162 cm^2 a razón de 2 x 10^7 células por matraz en 90 ml de un medio de ensayo que contenía 5 µg/ml de PHA-M (Roche, Basel, Suiza). Las células se cultivaron a 37 °C en una incubadora húmeda durante un total de 5 días. Las células se dejaron "reposar” al cosecharlas a la tarde del día 4, al reemplazar el medio de cultivo por un medio de ensayo nuevo sin PHA y al regresarlas a la incubadora durante el resto del período de cultivo de 5 días.

Ensayo fosfo-STAT3: Los linfocitos T humanos activados se recolectaron el día 5 del cultivo, se volvieron a suspender en un medio de ensayo nuevo y se colocaron en placas a razón de 2 x 10^5 células/cavidad en placas de 96 cavidades con fondo en U. Se realizaron diluciones en serie de IL-23 humana recombinante (material heterodimérico BDC 50220AN087) en un medio de ensayo, se agregaron a las placas que contenían las células y se incubaron juntas a 37 °C con 5 % de CO_2 durante 15 minutos. El ensayo también se usó para medir la neutralización de la actividad de IL-23. Una concentración máxima media (CE_{50}, concentración eficaz al 50 %) de IL-23 se combinó con diluciones en serie de anticuerpos IL-23/IL-17AF antihumanos descritos en la presente y se incubaron juntos a 37 °C con 5 % de CO_2 durante 15 minutos en un medio de ensayo antes de agregarlos a las células. Después de la incubación previa, se agregaron los tratamientos a las placas que contenían las células y se incubaron juntas a 37 °C con 5 % de CO_2 durante 15 minutos. Después de la incubación, las células se lavaron con un amortiguador de lavado helado y se colocaron sobre hielo para detener la reacción de acuerdo con las instrucciones del fabricante (BIO-PLEX® Cell Lysis Kit, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). Luego las células se centrifugaron a 2000 rpm, a 4 °C durante 5 minutos antes de desechar el medio. Se agregaron 50 µl/cavidad de amortiguador de lisis a cada cavidad; los lisados se agitaron con la pipeta hacia arriba y hacia abajo cinco veces mientras estaban en hielo y se agitaron en un agitador de placas durante 20 minutos a 300 rpm y 4 °C. Las placas se centrifugaron a 3200 rpm, a 4 °C durante 20 minutos. Los sobrenadantes se recolectaron y se transfirieron a una nueva placa de microtitulación para el almacenamiento a -80 °C.

Las microesferas de captura (BIO-PLEX® Phospho-STAT3 Assay, Bio-Rad Laboratories) se combinaron con 50 µl de 1:1 de lisados diluidos y se agregaron a una placa de filtro de 96 cavidades de acuerdo con las instrucciones del fabricante (BIO-PLEX® Phosphoprotein Detection Kit, Bio-Rad Laboratories). La placa recubierta con papel de aluminio se incubó durante la noche a temperatura ambiente mientras se agitaba a 300 rpm. La placa se transfirió a un aparato de microtitulación al vacío y se lavó tres veces con amortiguador de lavado. Después de la adición de 25 µl/cavidad de anticuerpo de detección, la placa recubierta con papel de aluminio se incubó a temperatura ambiente durante 30 minutos mientas se agitaba a 300 rpm. La placa se filtró y se lavó tres veces con amortiguador de lavado. Se agregó estreptavidina-PE (50 µl/cavidad), y la placa recubierta con papel de aluminio se incubó a temperatura ambiente durante 15 minutos mientas se agitaba a 300 rpm. La placa se filtró y se lavó tres veces con amortiguador de resuspensión de microesferas. Después del lavado final, las microesferas se volvieron a suspender en 125 µl/cavidad de amortiguador de suspensión de microesferas, se agitó durante 30 segundos y se leyó en un lector de matriz (BIO-PLEX® 100, Bio-Rad Laboratories) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los datos se analizaron con el software analítico (BIO-PLEX® Manager 4.1, Bio-Rad Laboratories). El aumento del nivel del factor de transcripción STAT3 fosforilado presente en los lisados es un indicio de la interacción entre el receptor de IL-23 y el ligando. La disminución del nivel del factor de transcripción STAT3 fosforilado presente en los lisados es un indicio de la neutralización de la interacción entre el receptor de IL-23 y el ligando. Los valores de CI_{50} (concentración inhibidora al 50 %) se calcularon con el software GraphPad Prism®4 (GraphPad Software, Inc., San Diego CA) para cada anticuerpo biespecífico IL-23/IL-17A/F antihumano.

Actividad del bioensayo de anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos; resultados del ensayo fosfo-STAT3 de linfocitos T humanos primarios

La IL-23 humana induce la fosforilación de STAT3 en una manera dependiente de la dosis con una concentración CE_{50} que, según se determinó, fue 0,02 nM. Los anticuerpos biespecíficos evaluados incluyen 23/17bAb1 (SEQ ID NO:28 y SEQ ID NO:17), 23/17bAb2 (SEQ ID NO:18 y SEQ ID NO:17), 23/17bAb3 (SEQ ID NO:74 y SEQ ID NO:17), 23/17bAb4 (SEQ ID NO:29 y SEQ ID NO:17). También se evaluó el mAb (7B7) IL-23.6 antihumano (SEQ ID NO:68 y SEQ ID NO:17). Los datos de CI_{50} para los anticuerpos IL-23/IL-17A/F antihumanos se muestran a continuación en la Tabla 9.

Actividad del bioensayo de anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos; resultados del ensayo de SAEC humanas primarias, ensayo de fibroblastos humanos primarios, ensayo de esplenocitos murinos y fosfo-STAT3 de linfocitos T humanos primarios

Tabla 9

Perfil		**23/17bAb1 IgG1.1** SEQ ID NO:28 SEQ ID NO:17	**23/17bAb2 IgG1.1** SEQ ID NO:18 SEQ ID NO:17	**23/17bAb3 IgG4.1** SEQ ID NO:74 SEQ ID NO:17	**23/17bAb4 IgG4.1** SEQ ID NO:29 SEQ ID NO:17	**339-134 mAbIgG1.1** SEQ ID NO:64 SEQ ID NO:66	**IL23.6(7B7) mAbIgG1.1** SEQ ID NO:68 SEQ ID NO:17
Potencia celular de células epiteliales primarias humanas	IL-17A CE_{50} = 0,03 nM	< 0,5 pM	< 0,5 pM	< 0,5 pM	≤ 0,5 pM	0,5 nM	No realizado
	IL-17AF CE_{50} = 3 nM	1,4 nM	1,3 nM	0,5 nM	1,4 nM	1,3 nM	No realizado

(SAEC) CI_{50}	IL-17F CE_{50} = 3 nM	0,8 nM	1,6 nM	1,0 nM	1,3 nM	1,1 nM	No realizado
Potencia celular de células de fibroblastos primarios humanos (HFFF) CI_{50}	IL-17A CE_{50} = 0,08 nM	0,07 nM	0,07 nM	0,03 nM	0,1 nM	0,9 nM	No realizado
	IL-17AF CE_{50} = 25 nM	17 nM	12 nM	9,4 nM	9,1 nM	13 nM	No realizado
	IL-17F CE_{50} = 25 nM	19 nM	15 nM	10 nM	12 nM	15 nM	No realizado
Potencia celular del esplenocito murino CI_{50} del ensayo	IL-23 CE_{50} = 0,01 nM	0,1 nM	0,06 nM	0,1 nM	0,08 nM	No realizado	0,09 nM
Potencia celular del linfocito primario CI_{50} del ensayo	IL-23 CE_{50} = 0,02 nM	0,04 nM	0,05nM	0,04 nM	0,1 nM	No realizado	0,04 nM

Actividad de cofijación de anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos; ensayo de fibroblastos humanos primarios para medir la inhibición de IL-17A, IL-7A/F o IL-F humanas mientras se encuentran fijadas simultáneamente a IL-23 humana. Ensayo fosfo-STAT3 de linfocitos T humanos primarios para medir la inhibición de IL-23 humana mientras se encuentra fijada simultáneamente a IL-17A, IL-7A/F o IL-17F humanas.

El ensayo de fibroblastos humanos primarios se llevó a cabo en presencia de cantidades en exceso de IL-23 a 30 nM. El ensayo fosfo-STAT3 de linfocitos T humanos primarios se realizó en presencia de cantidades en exceso de IL-17A, IL-17A/F e IL-17F a 30 nM.

Resultados de la cofijación del bioensayo de anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos

Los anticuerpos biespecíficos evaluados incluyen 23/17bAb1 (SEQ ID NO:28 y SEQ ID NO:17), 23/17bAb2 (SEQ ID NO:18 y SEQ ID NO:17), 23/17bAb3 (SEQ ID NO:74 y SEQ ID NO:17), 23/17bAb4 (SEQ ID NO:29 y SEQ ID NO:17) y 23/17taFab1 (SEQ ID NO:76 y SEQ ID NO:78). Los anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos, cuando se examinaron en presencia de IL-23 humana, no interfirieron en la inhibición de IL-17A, IL-17A/F, IL-17F humanas. Los anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos, cuando se examinaron en presencia de IL-17A, IL-17A/F, IL-17F humanas, no interfirieron en la inhibición de IL-23 humana.

Medición de las afinidades de fijación de anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos a IL-17A, IL-17A/F, IL-17F humanas e IL-23 humana mediante resonancia de plasmones superficiales (Biacore)

Los anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos se evaluaron para determinar su afinidad de fijación a IL-17A humana, IL-17A/F humana, IL-17F humana e IL-23 humana usando resonancia de plasmones superficiales.

La constante de velocidad cinética y la constante de disociación en equilibrio se midieron para determinar la interacción entre los anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos y las IL-17A, IL-17A/F, IL-17F humanas e IL-23 humana mediante resonancia de plasmones superficiales. La constante de velocidad de asociación (ka (M-1s-1)) es un valor que refleja la velocidad de la formación del complejo antígeno-anticuerpo. La constante de velocidad de disociación (k_d (s^{-1})) es un valor que refleja la estabilidad de este complejo. Al dividir la constante de velocidad de disociación por la constante de velocidad de asociación (k_d/k_a), se obtiene la constante de disociación en equilibrio (K_D (M)). Este valor describe la afinidad de fijación de la interacción. Los anticuerpos con K_D similares pueden tener constantes de velocidades de asociación y disociación que varían ampliamente. En consecuencia, la medición de k_a y k_d de los anticuerpos ayuda a describir de manera más precisa la afinidad de la interacción entre el anticuerpo y el antígeno.

Los estudios de afinidad y cinética de fijación se realizaron en un sistema BIACORE® T100 (GE Healthcare, Piscataway, NJ). Los métodos para BIACORE® T100 se programaron con el software de control BIACORE® T100, v 2.0. Para estos experimentos, los anticuerpos monoclonales y biespecíficos se capturaron en un chip sensor CM4 mediante un anticuerpo Fc-gamma IgG antihumano de cabra (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA). Los

experimentos de fijación a las moléculas de IL-17 humanas se realizaron a 25 °C en un amortiguador de 10 mM de HEPES, 150 mM de NaCl, 3 mM de EDTA, 0,05 % de tensioactivo P20 (GE Healthcare) y 1 mg/ml de albúmina de suero bovino a pH 7,4. Los experimentos de fijación al heterodímero de IL-23/IL-12B se realizaron a 25 °C en un amortiguador de 10 mM de HEPES, 500 mM de NaCl, 3 mM de EDTA, 0,05 % de tensioactivo P20 (Biacore) y 1 mg/ml de albúmina de suero bovino a pH 7,4.

El anticuerpo de captura, Fc-gamma IgG antihumano de cabra, se diluyó a una concentración de 20 µg/ml en 10 mM de acetato de sodio a pH 5,0 y luego se inmovilizó de manera covalente a las cuatro celdas de flujo de un chip sensor CM4 usando química de acoplamiento de amina (EDC:NHS). Después de la inmovilización del anticuerpo, los sitios activos restantes en la celda de flujo se bloquearon con etanolamina 1 M. La densidad obtenida del anticuerpo de captura fue de aproximadamente 5000 RU. Los anticuerpos IL-23/IL-17A/F antihumanos se capturaron en las celdas de flujo 2, 3 o 4 del chip CM4 a una densidad en el rango de 60-150 RU. La captura de los anticuerpos de prueba en la superficie inmovilizada se realizó a una velocidad de flujo de 10 µl/min. El instrumento BIACORE® mide la masa de proteína unida a la superficie del chip sensor y, por ello, se verificó la captura del anticuerpo de prueba para cada ciclo. Las diluciones en serie de IL-17A, IL-17A/F o IL-17F humanas recombinantes (ZymoGenetics, A Bristol-Myers Squibb Company, Seattle, WA, EE. UU.) se prepararon de 100 nM – 0,032 nM (1:5 diluciones en serie), mientras que las diluciones en serie de IL-23 humana recombinante (ZymoGenetics, A Bristol-Myers Squibb Company, Seattle, WA, EE. UU.) se prepararon de 200 nM – 0,064 nM (1:5 diluciones en serie). Las diluciones en serie se inyectaron sobre la superficie y se fijaron específicamente al anticuerpo de prueba capturado en el chip sensor. Las inyecciones por duplicado de cada concentración de antígeno se realizaron con un tiempo de asociación de 7 minutos y un tiempo de disociación de 15 minutos. Los estudios de fijación cinética se realizaron con una velocidad de flujo de 50 µl/min. Entre los ciclos, la celda de flujo se lavó con 20 mM de ácido clorhídrico para regenerar la superficie. Esta etapa de lavado removió tanto el anticuerpo de prueba capturado como cualquier antígeno fijado de la superficie del anticuerpo inmovilizado. El anticuerpo de prueba luego se capturó de nuevo en el siguiente ciclo.

Los datos se recopilaron usando el software de evaluación BIACORE® T100 (versión 2.0). Los datos se procesaron restando la celda de flujo de referencia y las inyecciones blanco. Se evaluó la estabilidad inicial para garantizar que la etapa de regeneración haya proporcionado una superficie de fijación consistente durante toda la secuencia de inyecciones. Las curvas de inyección por duplicado se verificaron para determinar su reproducibilidad. En función de la fijación de las moléculas IL-17 bivalentes a un anticuerpo bivalente, se determinó que el modelo de interacción de fijación del analito bivalente era adecuado para las interacciones con las moléculas IL-17. En función de la fijación del heterodímero de IL-23/IL-12B a un anticuerpo bivalente, se determinó que el modelo de interacción de fijación 1:1 era adecuado para las interacciones con la molécula IL-23. Las curvas de fijación restadas de referencia se ajustaron globalmente al modelo de fijación adecuado con un Rmax múltiple y con el RI configurado en cero. Los datos se ajustaron bien a los modelos de fijación con una buena concordancia entre las curvas de fijación experimentales y teóricas. Los errores estándares y chi^2 asociados a los ajustes fueron pocos. No hubo tendencias en los errores residuales.

Actividad Biacore de anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos

Los resultados de los experimentos de fijación con IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas se muestran en las Tablas 10, 11 y 12, respectivamente. Los resultados de los experimentos de fijación con el heterodímero de IL-23/IL-12B humana se muestran en la Tabla 13.

Afinidad de fijación de los anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos con IL-17A

Tabla 10

Anticuerpo biespecífico	**k_{a1} ($M^{-1}s^{-1}$)**	**k_{d1} (s^{-1})**	**K_{D1} (M)**
23/17bAb1 IgG1.1 SEQ ID NO:28 SEQ ID NO:17	2.E+05	6.E-05	3.E-10
23/17bAb2 IgG1.1 SEQ ID NO:18 SEQ ID NO:17	5.E+05	4.E-04	8.E-10
23/17bAb3 IgG4.1 SEQ ID NO:74 SEQ ID NO:17	4.E+05	5.E-05	1.E-10

23/17bAb4 IgG4.1 SEQ ID NO:29 SEQ ID NO:17	5.E+05	3.E-04	6.E-10
23/17taFab1 IgG1.1 SEQ ID NO:76 SEQ ID NO:78	3.E+05	2.E-03	7.E-9

Afinidad de fijación de los anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos con IL-17A/F

Tabla 11

Anticuerpo biespecífico	**k_{a1} ($M^{-1}s^{-1}$)**	**k_{d1} (s^{-1})**	**K_{D1} (M)**
23/17bAb1 IgG1.1 SEQ ID NO:28 SEQ ID NO:17	2.E+05	9.E-05	4.E-10
23/17bAb2 IgG1.1 SEQ ID NO:18 SEQ ID NO:17	4.E+05	7.E-04	2.E-9
23/17bAb3 IgG4.1 SEQ ID NO:74 SEQ ID NO:17	2.E+05	2.E-04	1.E-9
23/17bAb4 IgG4.1 SEQ ID NO:29 SEQ ID NO:17	3.E+05	1.E-03	3.E-9
23/17taFab1 IgG1.1 SEQ ID NO:76 SEQ ID NO:78	1.E+05	5.E-04	5.E-9

Afinidad de fijación de los anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos con IL-17F

Tabla 12

Anticuerpo biespecífico	**k_{a1} ($M^{-1}s^{-1}$)**	**k_{d1} (s^{-1})**	**K_{D1} (M)**
23/17bAb1 IgG1.1 SEQ ID NO:28 SEQ ID NO:17	8.E+05	3.E-04	4.E-10
23/17bAb2 IgG1.1 SEQ ID NO:18 SEQ ID NO:17	3.E+06	7.E-04	2.E-10
23/17bAb3 IgG4.1 SEQ ID NO:74 SEQ ID NO:17	6.E+05	2.E-04	3.E-10
23/17bAb4 IgG4.1 SEQ ID NO:29 SEQ ID NO:17	2.E+06	7.E-04	4.E-10
23/17taFab1 IgG1.1 SEQ ID NO:76 SEQ ID NO:78	3.E+05	7.E-04	2.E-9

Afinidad de fijación de los anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos con IL23/IL-12B

Tabla 13

Anticuerpo o Anticuerpo biespecífico	k_{a1} ($M^{-1}s^{-1}$)	k_{d1} (s^{-1})	K_{D1} (M)
7B7Mab SEQ ID NO:68 SEQ ID NO: 17	3.E+05	2.E-04	7.E-10
23/17bAb1 **IgG1.1** SEQ ID NO:28 SEQ ID NO:17	4.E+05	2.E-04	5.E-10
23/17bAb2 **IgG1.1** SEQ ID NO:18 SEQ ID NO:17	2.E+05	8.E-05	4.E-10
23/17bAb3 **IgG4.1** SEQ ID NO:74 SEQ ID NO: 17	4.E+05	2.E-04	5.E-10
23/17bAb4 **IgG4.1** SEQ ID NO:29 SEQ ID NO:17	7.E+04	7.E-05	1.E-9
23/17taFab1 **IgG1.1** SEQ ID NO:76 SEQ ID NO:78	3.E+05	2.E-04	7.E-10

Cofijación simultánea de IL-17A/F e IL-23 a los anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos mediante resonancia de plasmones superficiales (Biacore)

Los anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos se evaluaron mediante resonancia de plasmones superficiales para determinar su capacidad de cofijarse de manera simultánea tanto a IL-23 como a IL-17A/F.

Para los experimentos de cofijación en la primera orientación, las moléculas IL-17 humanas se inmovilizaron de manera covalente en las celdas de flujo 2-4 de un chip sensor CM5 usando química de acoplamiento de aminas (EDC:NHS). Después de la inmovilización, los sitios activos restantes en las celdas de flujo se bloquearon con etanolamina 1 M. Las IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas (ZymoGenetics, A Bristol Myers Squibb Company, Seattle, WA, EE. UU.) se inmovilizaron en las celdas de flujo 2, 3 o 4, respectivamente. Los niveles de inmovilización de estas moléculas variaron de 4500 a 5200 RU. La celda de flujo 1 se usó como superficie de referencia. Los anticuerpos biespecíficos se diluyeron posteriormente a 25 o 50 µg/ml, fluyeron sobre la superficie y se capturaron en las celdas de flujo 2-4 del chip sensor. Después de la captura del anticuerpo biespecífico, el heterodímero de IL-23/IL-12B (ZymoGenetics, A Bristol Myers Squibb Company, Seattle, WA, EE. UU.) se diluyó a 500 nM y fluyó sobre la superficie para demostrar la cofijación. Los estudios de fijación se realizaron con una velocidad de flujo de 10 µl/min, un tiempo de asociación de 10 minutos y un tiempo de disociación de 5 minutos.

Para los experimentos de cofijación en la segunda orientación, se inmovilizó de manera covalente un anticuerpo monoclonal IL-12 antihumano de ratón (p40/p70) (BD Pharmingen, San Jose, CA) sobre las celdas de flujo 1-4 de un chip sensor CM5 usando química de acoplamiento de aminas (EDC:NHS). Después de la inmovilización, los sitios activos restantes en las celdas de flujo se bloquearon con etanolamina 1 M. El heterodímero de IL-23/IL-12B humanas (ZymoGenetics, A Bristol Myers Squibb Company, Seattle, WA, EE. UU.) se diluyó a 500 nM y se capturó sobre las celdas de flujo 1-4 mediante la subunidad IL-12B. El nivel de captura de IL-23/IL-12B fue de aproximadamente 4000 RU. Los anticuerpos biespecíficos se diluyeron posteriormente a 25 o 50 µg/ml, fluyeron sobre la superficie y se capturaron mediante la subunidad IL-23 humana en las celdas de flujo 2-4 del chip sensor. La celda de flujo 1 se usó como superficie de referencia. Después de la captura del anticuerpo biespecífico, las IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas (ZymoGenetics, A Bristol Myers Squibb Company, Seattle, WA, EE. UU.) se diluyeron a 500 nM y fluyeron sobre la superficie para demostrar la cofijación. Los estudios de fijación se realizaron con una velocidad de flujo de 10 µl/min, un tiempo de asociación de 10 minutos y un tiempo de disociación de 5 minutos.

Todos los experimentos de fijación se realizaron a 25 °C en un amortiguador de 10 mM de HEPES, 500 mM de NaCl, 3 mM de EDTA, 0,05 % de tensioactivo P20 (GE Healthcare) y 1 mg/ml de albúmina de suero bovino a pH 7,4.

Entre los ciclos, la celda de flujo se lavó con 20 mM de ácido clorhídrico para regenerar la superficie. Esta etapa de lavado removió tanto el anticuerpo de prueba capturado como cualquier antígeno fijado de la superficie del chip Los datos se recopilaron usando el software de evaluación Biacore® T100 (versión 2.0). Los datos se procesaron restando la celda de flujo de referencia y las inyecciones blanco. Se evaluó la estabilidad inicial para garantizar que la etapa de regeneración haya proporcionado una superficie de fijación consistente durante toda la secuencia de inyecciones.

Resultados de la cofijación simultánea de IL-17A/F e IL-23 a los anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos mediante resonancia de plasmones superficiales (Biacore)

Los anticuerpos biespecíficos evaluados incluyen 23/17bAb1 (SEQ ID NO:28 y SEQ ID NO:17), 23/17bAb2 (SEQ ID NO:18 y SEQ ID NO:17), 23/17bAb3 (SEQ ID NO:74 y SEQ ID NO:17), 23/17bAb4 (SEQ ID NO:29 y SEQ ID NO:17) y 23/17taFab1 (SEQ ID NO:76 y SEQ ID NO:78). Todos los anticuerpos biespecíficos se pudieron cofijar de manera simultánea a IL-23 humana y a IL-17A/F humana, lo cual demuestra que ambos brazos de los anticuerpos biespecíficos eran funcionales.

Demostración de la fijación específica de IL-17A/F a los anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos mediante resonancia de plasmones superficiales (Biacore)

Los anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos se evaluaron mediante resonancia de plasmones superficiales para determinar la falta de reactividad cruzada con IL-17B humana, IL-17C humana, IL-17D humana e IL-17E humana (ZymoGenetics, A Bristol Myers Squibb Company, Seattle, WA, EE. UU.).

Los estudios de fijación se realizaron en un Biacore® T100 (GE Healthcare, Piscataway, NJ). Los métodos se programaron con el software de control Biacore® T100, v 2.0. El anticuerpo específico Fc-gamma IgG antihumano de cabra (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) se inmovilizó de manera covalente en las celdas de flujo 1-3 de un chip sensor CM4 usando química de acoplamiento de aminas (EDC:NHS). Los anticuerpos biespecíficos purificados luego se capturaron en la celda de flujo 2 o en la celda de flujo 3 del chip sensor a una densidad de aproximadamente 150 RU. La celda de flujo 1 se usó como superficie de referencia.

Las IL-17B, IL-17C, IL-17D e IL-17E humanas (ZymoGenetics, A Bristol Myers Squibb Company, Seattle, WA, EE. UU.) se inyectaron en la superficie del anticuerpo capturado (celda de flujo 2) y la celda de flujo de referencia (celda de flujo 1) a concentraciones de 500, 100, 20 y 4 nM. Como control positivo para este conjunto de experimentos, se inyectó IL-23 humana (ZymoGenetics, A Bristol Myers Squibb Company, Seattle, WA, EE. UU.) a concentraciones de 100, 20, 4 y 0,8 nM. Los estudios de fijación se realizaron con una velocidad de flujo de 50 µl/min, un tiempo de asociación de 5 minutos y un tiempo de disociación de 5 minutos. Todos los experimentos de fijación se realizaron a 25 °C en un amortiguador de 10 mM de HEPES, 500 mM de NaCl, 3 mM de EDTA, 0,05 % de tensioactivo P20 (GE Healthcare) y 1 mg/ml de albúmina de suero bovino a pH 7,4. Entre los ciclos, la celda de flujo se lavó con 20 mM de ácido clorhídrico para regenerar la superficie. Esta etapa de lavado removió tanto el anticuerpo de prueba capturado como cualquier antígeno fijado de la superficie del chip Los datos se recopilaron usando el software de evaluación Biacore® T100 (versión 2.0). Los datos se procesaron restando la celda de flujo de referencia y las inyecciones blanco. Se evaluó la estabilidad inicial para garantizar que la etapa de regeneración haya proporcionado una superficie de fijación consistente durante toda la secuencia de inyecciones.

Resultados de la demostración de la fijación específica de IL-17A/F a los anticuerpos biespecíficos IL-23/IL-17A/F antihumanos mediante resonancia de plasmones superficiales (Biacore)

No se observó fijación de las IL-17B, IL-17C, IL-17D o IL17E humanas a los anticuerpos biespecíficos. Los anticuerpos biespecíficos evaluados incluyen 23/17bAb1 (SEQ ID NO:28 y SEQ ID NO:17), 23/17bAb2 (SEQ ID NO:18 y SEQ ID NO:17), 23/17bAb3 (SEQ ID NO:74 y SEQ ID NO:17), 23/17bAb4 (SEQ ID NO:29 y SEQ ID NO:17). Por el contrario, el control positivo IL-23 demostró una fijación dependiente de la dosis que coincidió con los estudios previos.

Ejemplo 4

Los bAb IL-23/17A/F antihumanos evitan el aumento mediado por IL-17A, F y AF humanas en concentraciones séricas de KC (CXCL1) murino en ratones

IL-17A, F y AF pudieron inducir la producción de varios factores corriente abajo que, a su vez, cumplen una función en la defensa del huésped, pero también contribuyen a la patología de las enfermedades, en especial, cuando se producen en niveles anormalmente elevados o en condiciones crónicas. Uno de estos mediadores corriente abajo es CXCL1 (también conocido como GRO-α en seres humanos o KC en ratones), una quimiocina que tiene una importante actividad quimioatrayente para neutrófilos y cumple una función en la inflamación. Se evaluó la capacidad de los anticuerpos biespecíficos (bAb) IL23/17A/F antihumanos de reducir el aumento mediado por IL-17A, F y AF de GRO-α en ratones, a fin de demostrar que los bAb serían eficaces contra las actividades inducidas por IL-17 en un entorno *in vivo* y, por ende, que los bAb serían útiles para tratar enfermedades humanas en donde IL-17A, F o AF

cumplen una función. Sin embargo, debido a que estos bAb no tienen reactividad cruzada con IL-17A, F o AF de ratón, es necesario administrar IL-17A, F o AF humanas (h) a los ratones para inducir la producción de GRO-α (o, en el caso de ratones, inducir la producción de KC, que es el análogo de murina de GRO-α) que luego se podría neutralizar en presencia de los bAb IL23/17A/F antihumanos.

Para estos experimentos, se usaron ratones BALB/c hembra (7 – 9 semanas de edad). A las 18 h, los ratones recibieron una inyección intraperitoneal (i.p.) del vehículo (PBS) o una dosis de uno de los bAb IL-23/17A/F antihumanos, como se muestra en las Tablas 14 y 15, en la columna izquierda. A las 0 h, recibieron una inyección subcutánea (s.c.) de una de las siguientes proteínas humanas recombinantes: 0,175 mg/kg de hIL-17A, 0,9 mg/kg de hIL-17F o 0,5 mg/kg de hIL-17AF. Los ratones de control recibieron una inyección s.c del vehículo (PBS) en lugar de una de las proteínas hIL-17. Dos horas más tarde, se extrajo sangre de los ratones mediante el seno retroorbital con anestesia de gas isoflurano, se recolectó el suero después de la centrifugación de la sangre y se almacenó a 80 °C hasta que se analizó para determinar las concentraciones de KC séricas mediante ELISA comercial según las instrucciones del fabricante (Quantikine Mouse CXCL1/KC Immunoassay, R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN).

Como se muestra en las Tablas 14 y 15, los ratones tratados con los bAb mostraron un aumento dependiente de la dosis de la inhibición de las concentraciones de KC (CXCL1) séricas inducidas por hIL-17A, F o AF, lo cual indica que los bAb eran eficaces para reducir las actividades mediadas por estos ligandos IL-17. CXCL1 es solo un ejemplo de una lectura biológica en respuesta a IL-17A, F o AF; existen muchas otras lecturas corriente abajo importantes que también cumplen una función en enfermedades en las que IL-17A, F o AF tienen una función que podría usarse como medición del criterio de valoración.

Tabla 14. Porcentaje de inhibición del aumento mediado por IL-17A o F humanas en concentraciones séricas de KC murino mediante bAb i.p., con respecto a las concentraciones de ratones tratados con vehículo (n = 3-4 por grupo)

	% de inhibición de los niveles KC séricos mediados por IL-17A	% de inhibición de los niveles KC séricos mediados por IL-17F
Vehículo (PBS)	0	0
1 mg/kg bAb1	81	76
5 mg/kg bAb1	90	88
12 mg/kg bAb1	100	97
1 mg/kg bAb2	91	68
5 mg/kg bAb2	93	83
12 mg/kg bAb2	84	90
1 mg/kg bAb3	78	95
5 mg/kg bAb3	94	89
12 mg/kg bAb3	93	90
1 mg/kg bAb4	94	51
5 mg/kg bAb4	87	89
12 mg/kg bAb4	94	92

Tabla 15. Porcentaje de inhibición del aumento mediado por IL-17AF humana en concentraciones séricas de KC murino (pg/ml) mediante bAb i.p., con respecto a las concentraciones de ratones tratados con vehículo (n = 4 por grupo)

	% de inhibición de los niveles KC séricos mediados por IL-17AF
Vehículo (PBS)	0
0,3 mg/kg bAb1	55
10 mg/kg bAb1	100
0,3 mg/kg bAb2	40
10 mg/kg bAb2	90
0,3 mg/kg bAb3	70
10 mg/kg bAb3	96
0,3 mg/kg bAb4	10
10 mg/kg bAb4	72

Ejemplo 5

Los bAb IL-23/17A/F antihumanos evitan el aumento mediado por IL-23 humana en concentraciones séricas de IL-17AF y F murino en ratones

IL-23 puede inducir la diferenciación de los linfocitos Th17 que, a su vez, puede generar la producción de IL-17A, IL-17F e IL-17AF. Estas citocinas participan en varias enfermedades y terapias que pueden inhibir IL-23, e IL-17A, F y AF serían eficaces para el tratamiento de estas enfermedades. Se evaluó la capacidad de los anticuerpos biespecíficos (bAb) IL23/17A/F antihumanos de reducir el aumento mediado por IL-23 en IL-17A, F y AF en ratones, a fin de demostrar que los bAb serían eficaces contra las actividades inducidas por IL-23 en un entorno *in vivo* y, por ende, que los bAb serían útiles para tratar enfermedades humanas en donde IL-23 y los linfocitos Th17 cumplen una función. Sin embargo, debido a que estos bAb no tienen reactividad cruzada con IL-23 de ratón, fue necesario administrar IL-23 humana (h) a ratones para inducir la producción de IL-17 F y AF de ratón que luego se podría neutralizar en presencia de los bAb IL23/17A/F antihumanos. Las concentraciones de IL-17A de ratón fueron demasiado bajas para medir con precisión suero en el ratón, pero se previó que las tendencias eran similares en comparación con las tendencias observadas para las IL-17F y AF séricas.

Para estos experimentos, se usaron ratones C57BL/6 hembra (7 – 9 semanas de edad). A las 10:30 am del día 1, cada uno recibió 5 microgramos de IL-2 de ratón (m) mediante una inyección intraperitoneal (i.p.). A las 8:30 am del día 2, los ratones recibieron una inyección i.p. del vehículo (PBS) o una dosis de uno de los bAb IL-23/17A/F antihumanos, como se muestra en la Tabla 16, en la columna izquierda. A las 11:00 am del día 2, cada uno de los ratones recibió 5 microgramos de mIL-2 y 10 microgramos de hIL-23, y a las 5:20 pm del día 2, los ratones recibieron 10 microgramos de mIL-2 y de hIL-23 mediante inyecciones i.p. A las 9:30 am del día 3, cada uno de los ratones recibió otros 5 microgramos de mIL-2 y 10 microgramos de hIL-23 mediante inyección i.p. A las 4:30 pm del día 3, se extrajo sangre de los ratones mediante el seno retroorbital con anestesia de gas isoflurano, se recolectó el suero después de la centrifugación de la sangre y se almacenó a -80 °C hasta que se analizó para determinar las concentraciones séricas de IL-17F y AF de ratón usando ensayos ELISA y luminex que midieron específicamente estos componentes.

Como se muestra en la Tabla 16, los ratones tratados con los bAb mostraron un aumento dependiente de la dosis de la inhibición de las concentraciones séricas inducidas por hIL-23 de 17F o AF de ratón, lo cual indica que los bAb eran eficaces para reducir las actividades mediadas por hIL-23.

Tabla 16. Porcentaje de inhibición del aumento mediado por IL-23 humana en concentraciones séricas de IL-17F o AF de ratón mediante bAb i.p., con respecto a las concentraciones de ratones tratados con vehículo (n = 3 por grupo)

	% de inhibición de los niveles de mIL-17F séricos mediados por IL-23	% de inhibición de los niveles de mIL-17AF séricos mediados por IL-23
Vehículo (PBS)	0	0
1 mg/kg bAb1	49	22
5 mg/kg bAb1	99	94
12 mg/kg bAb1	96	94
1 mg/kg bAb2	21	17
5 mg/kg bAb2	82	71
12 mg/kg bAb2	67	97
1 mg/kg bAb3	0	45
5 mg/kg bAb3	38	91
12 mg/kg bAb3	65	95
1 mg/kg bAb4	0	62
5 mg/kg bAb4	27	74
12 mg/kg bAb4	49	97

Ejemplo 6

Anticuerpos biespecíficos VCVFc

Construcción y expresión de moléculas biespecíficas VCVFc de mamífero

Se sintetizaron genes completos en GenScript (GenScript, Piscataway, NJ, EE. UU.) y se insertaron en pTT5, un vector de expresión transitorio HEK293-6E (NCR Biotechnology Research Institute, Ottawa, ON, CAN) mediante clonación de enzimas de restricción. La mayoría de los constructos se expresaron usando la secuencia de señales

mod2610 (SEQ ID NO:30). VCVFc es un anticuerpo biespecífico que contiene un anticuerpo completo con una unidad Fv del segundo brazo del anticuerpo biespecífico insertado entre la región Fab y la bisagra mediante un ligador (por ejemplo, 10mer G_4S para cada cadena, o RTVAAPS (SEQ ID NO:85) para la cadena ligera y SSASTKGPS (SEQ ID NO:86) para la cadena pesada). En la Figura 5, se muestra una ilustración de un anticuerpo biespecífico VCVFc.

Las células de suspensión HEK293-6E se transfectaron con los constructos de expresión usando un reactivo de polietilenimina y se cultivaron en un medio F17 (Invitrogen, Grand Island, NY, EE. UU.) con la adición de 5 mM de L-glutamina y 25 µg/ml de G418. Después de 24 horas, se agregó 1/40 volumen de Tryptone NI al 20 % (Organotechnie SAS, La Courneuve, FR). Aproximadamente 120 horas después de la transfección, se recolectó el medio condicionado y se hizo pasar a través de un filtro de 0,2 µm. La proteína se purificó del medio condicionado filtrado usando una combinación de cromatografía por afinidad Mab Select SuRe (GE Healthcare, Piscataway, NJ, EE. UU.) y cromatografía de exclusión por tamaño Superdex® 200 (GE Healthcare, Piscataway, NJ, EE. UU.). El contenido se calculó mediante la absorbancia a UV-A280 nm, y la calidad se evaluó mediante cromatografía de líquidos de alta resolución, de exclusión por tamaño y analítica, SDS PAGE y transferencia Western.

Actividad del bioensayo de anticuerpos biespecíficos VCVFc IL-23/IL-17A/F; ensayo del indicador de luciferasa NIH/3T3/KZ170 NF-κB para medir la actividad de IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas mediante la inducción de NF-κB

El bioensayo se realizó como se describe en el Ejemplo 1 anterior.

Actividad del bioensayo de anticuerpos biespecíficos VCVFc IL-23/IL-17A/F; ensayo fosfo-STAT3 de transfectantes Baf3/huIL-23Rα/huIL-12Rβ1 para medir la actividad de IL-23 humana mediante la inducción de fosfo-STAT3

El bioensayo se realizó como se describe en el Ejemplo 3 anterior.

Actividad del bioensayo de anticuerpos biespecíficos VCVFc PDGF-C/PDGF-D; ensayo de proliferación de fibroblastos humanos normales de pulmón (NHLF) para medir la actividad mitogénica de PDGF-C y PDGF-D humanos

Una línea celular de fibroblastos humanos normales primarios de pulmón (NHLF, CC-2512, Lonza, Walkersville, MD) se sembró a razón de 1.000 células/cavidad en un medio de crecimiento (FGM-2 Bulletkit, Lonza, Walkersville, MD) y se incubó durante la noche a 37 °C con 5 % de CO_2. Al día siguiente, el medio se retiró, y se realizaron diluciones en serie de PDGF-C y PDGF-D humanos recombinantes (ZymoGenetics) en un medio de ensayo (FBM más 0,1 % de BSA, Lonza, Walkersville, MD), se agregaron a las placas que contenían las células y se incubaron juntas a 37 °C con 5 % de CO_2 durante 48 horas. El ensayo también se usó para medir la neutralización de la actividad de PDGF-C y PDGF-D. Una concentración submáxima de PDGF-C o PDGF-D se combinó con diluciones en serie de anticuerpos PDGF-C/D o PDGFRα/β VCVFc antihumanos descritos en la presente en un medio de ensayo, se agregaron a las placas que contenían las células y se incubaron juntas a 37 °C con 5 % de CO_2 durante 48 horas. Las células se impulsaron con 1 µCi/cavidad de timidina [metil-^{3}H] (PerkinElmer, Waltham, MA) y se incubaron a 37 °C con 5 % de CO_2 durante 24 horas más. Después de la incubación, se evaluó la actividad mitogénica midiendo la cantidad de ^{3}H-timidina incorporada. El medio se retiró, y las células se tripsinizaron durante 10 minutos a 37 °C antes de cosecharlas en un cosechador FilterMate (Packard Instrument Co., Meriden, CT) y leerlas en un contador de centelleo de microplacas Topcount® (Packard Instrument Co., Meriden, CT) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El aumento de la incorporación de ^{3}H-timidina fue un indicio de la interacción entre el receptor de PDGF-C o PDGF-D y el ligando. La disminución de la incorporación de ^{3}H-timidina fue un indicio de la neutralización de la interacción entre el receptor de PDGF-C o PDGF-D y el ligando. Los valores de CI_{50} (concentración inhibidora al 50 %) se calcularon con el software GraphPad Prism 4 (GraphPad Software, Inc., San Diego CA) para cada anticuerpo biespecífico PDGF-C/PDGF-D o PDGFRα/PDGFRβ VCVFc.

Actividad del bioensayo de anticuerpos biespecíficos VCVFc IL-23/IL-17A/F; resultados del ensayo del indicador de luciferasa NIH/3T3/KZ170 NF-κB y del ensayo fosfo-STAT3 de transfectantes Baf3/huIL-23Rα/huIL-12Rβ1

Las IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas inducen la activación del indicador de luciferasa NF-κB en una manera dependiente de la dosis con una concentración CE_{50} que, según se determinó, fue 0,15 nM para IL-17A, 0,5 nM para IL-17A/F y 0,5 nM para IL-17F, e IL-23 induce la fosforilación de STAT3 en una manera dependiente de la dosis con una concentración de CE_{50} que, según se determinó, fue 0,02 nM. Los datos de CI_{50} para los anticuerpos biespecíficos VCVFc IL-23/IL-17A/F antihumanos se muestran a continuación en las Tablas 17, 18 y 19.

Tabla de anticuerpos biespecíficos VCVFc IL-23/17A/F

Tabla 17

Nombre	**Cadena pesada** MVC# SEQ ID NO:	**Cadena ligera** MVC# SEQ ID NO:	CI_{50} **nM de IL-17A**	CI_{50} **nM de IL-17A/F**	CI_{50} **nM de IL-17F**	CI_{50} **nM de IL-23**
339-134 mAb IgG1.1	MVC978 SEQ ID NO:64	MVC717 SEQ ID NO:66	3	0,9	0,4	No realizado
IL23.6 (7B7) mAb IgG1.1	MVC1003 SEQ ID NO:68	MVC1002 SEQ ID NO:17	No realizado	No realizado	No realizado	0,2
23/17VCV1 IgG1.1	MVC1020 SEQ ID NO:87	MVC1021 SEQ ID NO:89	20	3	3	0,008
23/17VCV2 IgG1.1	MVC1022 SEQ ID NO:91	MVC1023 SEQ ID NO:93	0,4	0,4	0,9	0,3

Tabla 18

Nombre	**Cadena pesada** MVC# SEQ ID NO:	**Cadena ligera** MVC# SEQ ID NO:	**IL-17A** CI_{50} **nM**	**IL-17A/F** CI_{50} **nM**	**IL-17F** CI_{50} **nM**	**IL-23** CI_{50} **nM**
339-134 mAb IgG1.1	MVC978 SEQ ID NO:64	MVC717 SEQ ID NO:66	1,2	0,23	0,28	No realizado
IL23.6 (7B7) mAb IgG1.1	MVC1003 SEQ ID NO:68	MVC1002 SEQ ID NO:17	No realizado	No realizado	No realizado	0,0030
23/17VCV3 IgG4.1	MVC1119 SEQ ID NO:95	MVC1021 SEQ ID NO:89	16	9,7	6,0	0,011
23/17VCV4 IgG4.1	MVC1120 SEQ ID NO:97	MVC1023 SEQ ID NO:93	0,20	0,34	0,20	0,47
23/17VCV5 IgG1.1	MVC1122 SEQ ID NO:99	MVC1121 SEQ ID NO:101	15	8,7	7,0	0,0038
23/17VCV6 IgG1.1	MVC1124 SEQ ID NO:103	MVC1123 SEQ ID NO:105	0,38	0,35	0,29	0,043

Tabla 19

Nombre	**Cadena pesada** MVC# SEQ ID NO:	**Cadena ligera** MVC# SEQ ID NO:	CI_{50} **nM de IL-17A**	CI_{50} **nM de IL-17A/F**	CI_{50} **nM de IL-17F**	CI_{50} **nM de IL-23**
339.15.3.6 mAb Línea del hibridoma lote E10915	N/A	N/A	9,8	0,34	0,32	No realizado
IL23.4 mAb IgG4.1 - BDC Lote PC-1413-32	SEQ ID NO:107	SEQ ID NO:109	No realizado	No realizado	No realizado	0,029
23/17VCV7 IgG1.1	MVC1108 SEQ ID NO:111	MVC1107 SEQ ID NO:113	24	13	5,9	0,053
23/17VCV8 IgG1.1	MVC1110 SEQ ID NO:115	MVC1109 SEQ ID NO:117	2,4	0,34	0,31	2,6

Actividad del bioensayo de anticuerpos biespecíficos VCVFc PDGF-C/PDGF-D y PDGFRα/PDGFβ; resultados del ensayo de proliferación de fibroblastos humanos normales de pulmón (NHLF)

PDGF-C y PDGF-D inducen la proliferación de las células NHLF en una manera dependiente de la dosis con una concentración submáxima que, según se determinó, fue 0,1 nM para PDGF-C y 6 nM para PDGF-D. La Tabla 20 y la Tabla 21 presentan datos de CI_{50} para los anticuerpos biespecíficos VCVFc PDGF-C/PDGF-D o PDGFRα/PDGFRβ descritos en la presente.

Tabla de anticuerpos biespecíficos VCVFc PDGF-C/PDGF-D

Tabla 20

Nombre	**Cadena pesada** MVC# SEQ ID NO:	**Cadena ligera** MVC# SEQ ID NO:	CI_{50} **nM de PDGFC**	CI_{50} **nM de PDGFD**
PDGFC mAb Hibridoma Lote-E2826	N/A	N/A	0,083	No realizado
PDGFD mAb Hibridoma Lote-E4342	N/A	N/A	No realizado	3,5
C/DVCV1 IgG1.1	MVC1112 SEQ ID NO:119	MVC1111 SEQ ID NO:121	0,090	20

Tabla de anticuerpos biespecíficos VCVFc PDGFRα/PDGFRβ

Tabla 21

Nombre	**Cadena pesada** MVC# SEQ ID NO:	**Cadena ligera** MVC# SEQ ID NO:	**PDGFC % de inhibición**	**PDGFD % de inhibición**
PDGFRα mAb Hibridoma Lote-C5161	N/A	N/A	100%	30%
PDGFRβ mAb Hibridoma Lote-C8938	N/A	N/A	50%	100%
α/βVCV2 IgG1.1	MVC1118 SEQ ID NO:123	MVC1117 SEQ ID NO:125	70%	100%

Actividad del bioensayo de anticuerpos biespecíficos VCVFc IL-23/IL-17A/F; ensayo de fibroblastos humanos primarios para medir la actividad de IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas mediante la inducción de IL-6

El bioensayo se pertexturizó como se describe en el Ejemplo 3 anterior.

Actividad del bioensayo de anticuerpos biespecíficos VCVFc IL-23/IL-17A/F; resultados del ensayo de fibroblastos humanos primarios

Las IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas inducen la producción de IL-6 humana en una manera dependiente de la dosis con una concentración de CE_{50} que, según se determinó, fue 0,08 nM para IL-17A, 25 nM para IL-17A/F y 25 nM para IL-17F. Anticuerpo biespecífico VCVFc IL-23/IL-17A/F antihumano 23/17VCV2 (SEQ ID NO:91 y SEQ ID NO:93). La Tabla 22 presenta datos de CI_{50} de ejemplo para el anticuerpo biespecífico VCVFc IL-23/IL-17A/F descrito en la presente.

Tabla 22

Perfil		**23/17VCV2 IgG1.1** SEQ ID NO:91 SEQ ID NO:93	**339-134 mAbIgG1.1** SEQ ID NO:64 SEQ ID NO:66	**IL23.6(7B7) mAbIgG1.1** SEQ ID NO:68 SEQ ID NO:17
Potencia celular de células de fibroblastos primarios humanos (HFFF) CI_{50}	IL-17A CE_{50} = 0,08 nM	0,3 nM	2 nM	No realizado
	IL-17AF CE_{50} = 25 nM	26 nM	22 nM	No realizado
	IL-17F CE_{50} = 25 nM	25 nM	23 nM	No realizado
Potencia celular del ensayo de linfocitos T primarios CI_{50}	IL-23 CE_{50} = 0,02 nM	0,4 nM	No realizado	0,02 nM

Actividad de cofijación de anticuerpos biespecíficos VCVFc IL-23/IL-17A/F; ensayo de fibroblastos humanos primarios para medir la inhibición de IL-17A, IL-7A/F o IL-F humanas mientras se encuentran fijadas simultáneamente a la IL-23 humana. Ensayo fosfo-STAT3 de linfocitos T humanos primarios para medir la inhibición de IL-23 humana mientras se encuentra fijada simultáneamente a IL-17A, IL-7A/F o IL-17F humanas.

El ensayo de fibroblastos humanos primarios se llevó a cabo en presencia de cantidades en exceso de IL-23 a 30 nM. El ensayo fosfo-STAT3 de linfocitos T humanos primarios se realizó en presencia de cantidades en exceso de IL-17A, IL-17A/F e IL-17F a 30 nM.

Resultados de la cofijación del bioensayo de anticuerpos biespecíficos VCVFc IL-23/IL-17A/F

El anticuerpo biespecífico 23/17VCV2 (SEQ ID NO:91 y SEQ ID NO:93), cuando se examinó en presencia de IL-23 humana, no interfirió con la inhibición de IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas. El anticuerpo biespecífico 23/17VCV2, cuando se examinó en presencia de IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas, no interfirió con la inhibición de IL-23 humana.

Medición de las afinidades de fijación de los anticuerpos biespecíficos VCVFc IL-23/IL-17A/F con IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas e IL-23 humana mediante resonancia de plasmones superficiales (Biacore)

Las actividades de fijación se determinaron como se describe en el Ejemplo 3 anterior.

Actividad Biacore de anticuerpos biespecíficos VCVFc IL-23/IL-17A/F

Los resultados de los experimentos de fijación con IL-17A, IL-17A/F e IL-17F humanas se muestran en las Tablas 23, 24 y 25, respectivamente. Los resultados de los experimentos de fijación con el heterodímero de IL-23/IL-12B humana se muestran en la Tabla 26.

Afinidad de fijación de los anticuerpos biespecíficos VCVFc IL-23/IL-17A/F con IL-17A

Tabla 23

Anticuerpo biespecífico	k_{a1} ($M^{-1}s^{-1}$)	k_{d1} (s^{-1})	K_{D1} (M)	K_{D1} (nM)
339-134 mAb IgG1.1 SEQ ID NO:64 SEQ ID NO:66	2.E+06	3.E-03	1.E-9	1,0
23/17VCV2 IgG1.1 SEQ ID NO:91 SEQ ID NO:93	3.8E+06	3.4E-03	8.9E-10	0,9
23/17VCV4 IgG4.1 SEQ ID NO:97 SEQ ID NO:93	5.4E+06	5.4E+03	1.0E+09	1,0
23/17VCV6 IgG1.1 SEQ ID NO:103 SEQ ID NO:105	4.0E+06	4.7E+03	1.2E+09	1,2

Afinidad de fijación de los anticuerpos biespecíficos VCVFc IL-23/IL-17A/F con IL-17A/F

Tabla 24

Anticuerpo biespecífico	k_{a1} ($M^{-1}s^{-1}$)	k_{d1} (s^{-1})	K_{D1} (M)	K_{D1} (nM)
339-134 mAb IgG1.1 SEQ ID NO:64 SEQ ID NO:66	2.E+06	5.E-04	2.E-10	0,2
23/17VCV2 IgG1.1 SEQ ID NO:91 SEQ ID NO:93	1.8E+06	7.1E-04	3.9E-10	0,4

23/17VCV4 IgG4.1 SEQ ID NO:97 SEQ ID NO:93	1.5E+06	7.7E+04	5.1E+10	0,5
23/17VCV6 IgG1.1 SEQ ID NO:103 SEQ ID NO:105	1.2E+06	7.9E+04	6.6E+10	0,7

Afinidad de fijación de los anticuerpos biespecíficos VCVFc IL-23/IL-17A/F con IL-17F

Tabla 25

Anticuerpo biespecífico	k_{a1} ($M^{-1}s^{-1}$)	k_{d1} (s^{-1})	K_{D1} (M)	K_{D1} (nM)
339-134 mAb IgG1.1 SEQ ID NO:64 SEQ ID NO:66	2.E+06	2.E-04	1.E-10	0,1
23/17VCV2 IgG1.1 SEQ ID NO:91 SEQ ID NO:93	2.4E+06	5.1E-04	2.1E-10	0,2
23/17VCV4 IgG4.1 SEQ ID NO:97 SEQ ID NO:93	2.2E+06	3.5E+04	1.6E+10	0,2
23/17VCV6 IgG1.1 SEQ ID NO:103 SEQ ID NO:105	3.4E+06	1.2E+04	3.5E+11	0,04

Afinidad de fijación de los anticuerpos biespecíficos VCVFc IL-23/IL-17A/F con IL23/IL-12B

Tabla 26

Anticuerpo o Anticuerpo biespecífico	k_{a1} ($M^{-1}s^{-1}$)	k_{d1} (s^{-1})	K_{D1} (M)	K_{D1} (nM)
7B7Mab SEQ ID NO:68 SEQ ID NO:17	3.E+05	2.E-04	7.E-10	0,7
23/17VCV2 IgG1.1 SEQ ID NO:91 SEQ ID NO:93	4.7E+04	2.1E-04	4.5E-09	4,5
23/17VCV4 IgG4.1 SEQ ID NO:97 SEQ ID NO:93	Sin fijación	Sin fijación	Sin fijación	Sin fijación
23/17VCV6 IgG1.1 SEQ ID NO:103 SEQ ID NO:105	5.6E+04	1.1E+04	2.0E+09	2,0

Cofijación simultánea de IL-17A/F e IL-23 a los anticuerpos biespecíficos VCVFc IL-23/IL-17A/F mediante resonancia de plasmones superficiales (Biacore)

Este ensayo se realizó como se describe en el Ejemplo 3 anterior.

Resultados de la cofijación simultánea de IL-17A/F e IL-23 a los anticuerpos biespecíficos VCVFc IL-23/IL-17A/F mediante resonancia de plasmones superficiales (Biacore)

El anticuerpo biespecífico 23/17VCV2 (SEQ ID NO:91 y SEQ ID NO:93) se cofijó simultáneamente a IL-23 humana e IL-17A/F humana, lo que demostró que ambos brazos de los anticuerpos biespecíficos eran funcionales.

Ejemplo 7

Mapeo del epítopo IL-23p19

El análisis descrito en este Ejemplo 7 pretende identificar los residuos epitópicos en IL-23p19, para lo cual se fija el anticuerpo IL-23p19 (el anticuerpo 7B7 o Mab, 7B7 Fab y biAb, los que tienen un dominio variable de la cadena pesada, como se muestra en SEQ ID NO:7 y un dominio variable de la cadena ligera, como se muestra en SEQ ID NO:9). Se utilizaron Fab 7B7, el anticuerpo 7B7 y biAb3 en los estudios de fijación en varias etapas, debido a que son intercambiables en cuanto a su epítopo en IL-23p19.

Digestión proteolítica y datos de péptidos en los epítopos

El análisis de secuencia de epítopo mediante espectrometría de masa del anticuerpo IL-23p19 se basó en los métodos de extracción de epítopos y escisión de epítopos. (Parker et al., "MALDI/MS-based epitope mapping of antigens bound to immobilized antibodies", *Mol. Biotechnol.*, 20(1):49-62 (enero de 2002)). En ambos casos, el anticuerpo IL-23p19 se inmovilizó directamente mediante aminas primarias del anticuerpo en microesferas de superficie activada a una densidad promedio de 2 mg de mAb por 1 ml de volumen de microesfera. Los péptidos del antígeno con la etiqueta his IL-23 se generaron con o sin reducción y alquilación. La reducción del antígeno IL-23 se llevó a cabo mediante la incubación con 50 mM de ditiotreitol en PBS y HCl de guanidina 4 M durante 1 hora a 37 °C. Luego, se llevó a cabo la alquilación con 100 mM de iodoacetamida durante 30 minutos a temperatura ambiente. La IL-23 reducida y alquilada se dializó contra PBS durante la noche antes de la fragmentación. Para la extracción del epítopo, se generaron péptidos antigénicos mediante digestión proteolítica con las endoproteinasas tripsina, quimiotripsina, lys-C, arg-C, asp-N y/o glu-C, con una relación enzima:antígeno de hasta 2% (p/p). Las incubaciones se llevaron a cabo a 37 °C, y los tiempos de incubación variaron de 2 horas a toda la noche. Los péptidos resultantes se mezclaron con una resina de anticuerpo a temperatura ambiente durante 30 minutos. Esta resina luego se lavó tres veces para retirar cualquier péptido que no se encontraba específicamente fijado. Las etapas de digestión, incubación y lavado se llevaron a cabo en PBS pH 7. Se utilizó el mismo protocolo para la escisión del epítopo, excepto que se incubó el antígeno intacto con el anticuerpo durante 30 minutos a temperatura ambiente antes de la digestión enzimática. En ambos métodos, los péptidos fijados al anticuerpo se eluyeron y se analizaron mediante ESI-MS.

Estos datos indicaron que el anticuerpo IL-23p19 tiene un epítopo discontinuo formado por tres regiones peptídicas en IL-23p19. Se generaron péptidos sintéticos continuar con el análisis de estas tres regiones peptídicas, y su fijación se evaluó y se analizó mediante ELISA y espectrometría de masa. En función de estas observaciones, se considera que los siguientes péptidos representan las secuencias del epítopo del anticuerpo IL-23p19:

Péptido 1: WQRLLLRFKILR (residuos 156-167 de SEQ ID NO:6)

Péptido 2: SAHPLVGHMDLR (residuos 46-57 de SEQ ID NO:6)

Péptido 3: IHQGLIFYEKLLGSDIFTGEPSLLP (residuos 93-117 de SEQ ID NO:6).

Mapeo del epítopo IL-23 mediante HDX-MS

El método de espectrometría de masa de intercambio de hidrógeno/deuterio (HDX-MS) estudia la conformación proteica y la dinámica conformacional en solución mediante el control de la velocidad y el alcance del intercambio de deuterio de los átomos de hidrógeno de la amida de la estructura principal. El nivel de HDX depende de la accesibilidad del solvente de los átomos de hidrógeno de la amida de la estructura principal y la conformación proteica. El aumento másico de la proteína en HDX se puede medir con precisión mediante MS. Cuando esta técnica se usa junto con la digestión enzimática, se pueden resolver las características estructurales en cuanto al péptido, lo que permite diferenciar los péptidos expuestos a la superficie de los plegados hacia adentro. Con frecuencia, se realiza la rotulación con deuterio y los experimentos de inactivación posteriores, y luego la digestión de pepsina en línea, la separación de los péptidos y el análisis MS. Antes del mapeo de epítopos de BMS-986113 en IL-23 mediante HDX-MS, se realizaron experimentos no deuterados para generar una lista de péptidos pépticos comunes para IL-23 (4,4 mg/ml) e IL-23/BMS-986113 (1:1 de relación molar, 4,4 mg/ml y 3,36 mg/ml), lo que permite lograr una cobertura de secuencia de 97 % para IL-23. En este experimento, se usaron 10 mM de amortiguador de fosfato (pH 7,0) durante la etapa de etiquetado, y luego se agregó un amortiguador de inactivación (200 mM de amortiguador de fosfato con GdnCl 1,5 M y TCEP 0,5 M, pH 2,5, 1:1, v/v). Para los experimentos de mapeo de epítopos, se mezclaron 5 µl de cada muestra (IL-23 o IL-23/BMS-986113 (1:1 de relación molar)) con 65 µl de amortiguador de etiquetado de HDX (10 mM de amortiguador de fosfato en D_2O, pH 7,0) para iniciar las reacciones de etiquetado a temperatura ambiente (~25 °C). Las reacciones se llevaron a cabo para diferentes períodos: 20 s, 1 min, 10 min, 60 min y 240 min. Al final de cada período de reacción de etiquetado, la reacción se inactivó mediante la adición de amortiguador de inactivación (1:1, v/v), y la muestra inactivada se inyectó en el sistema Waters HDX-MS para su análisis. Los péptidos pépticos comunes observados se controlaron para determinar sus niveles de absorción de deuterio en ausencia/presencia de BMS-986113. Se usó el mismo protocolo para el mapeo de epítopos de anti-IL-23 7B7 Fab (4,91 mg/ml) en IL-23 mediante HDX-MS.

El mapeo de epítopos de anti-IL-23 7B7 Fab en complejo con IL-23 y biAb3 con IL-23 indica que biAb3 tiene un epítopo discontinuo compuesto por cinco regiones peptídicas en IL-23p19. En función de los niveles de absorción de deuterio relativos, se pueden clasificar cinco regiones peptídicas como las regiones 1 > 2 > 3 > 4 > 5, de las cuales la región 1 tiene los cambios más significativos de absorción de deuterio, y la región 5 tiene los cambios menos significativos de absorción de deuterio. Las cinco regiones peptídicas en IL-23p19, según se determinó mediante HDX-MS para el anticuerpo IL-23p19, fueron las siguientes:

Región 1: PDSPVGQL (residuos 117-124 de SEQ ID NO:6);

Región 2: IFTGEPSLL (residuos 108-116 de SEQ ID NO:6);

Región 3: KILRSLQAF (residuos 164-172 de SEQ ID NO:6);

Región 4: QQLSQKLCTLAWSAHPLVGHMD (residuos 34-55 de SEQ ID NO:6); y

Región 5: CLQRIHQGLIFYEKLLG (residuos 89-105 de SEQ ID NO:6).

Predicción computacional de epítopos y diseño de mutantes múltiples de alanina

La mutagénesis múltiple de alanina es una estrategia para mutar diversos residuos en el mismo constructo a alanina, a fin de eliminar las cadenas laterales de aminoácidos en el epítopo de fijación (Wells, J.A., "Systemic mutational analyses of protein-protein interfaces", *Enzym.*, 202:390-411 (1991)). Se combinaron diversas fuentes de información sobre la participación de residuos en un posible epítopo con 7B7 Fab y biAb3, a fin de obtener una lista específica de mutantes múltiples de alanina regionales. Los residuos contenidos en las regiones superpuestas entre HDX (véase más arriba, en este Ejemplo 7) y el mapeo del péptido de digestión proteolítica (véase más arriba, en este Ejemplo 7) se mapearon en la secuencia del dominio IL-23p19, y las tres regiones lineales de residuos comunes se identificaron como regiones A, B y C. La región A corresponde a los residuos de aminoácidos 33-59 de SEQ ID NO:6. La región B corresponde a los residuos de aminoácidos 89-125 de SEQ ID NO:6. La región C corresponde a los residuos de aminoácidos 144-173 de SEQ ID NO:6. Con el objetivo de calcular los residuos cuyas cadenas laterales están expuestas (área de superficie accesible al solvente, SASA) y, por lo tanto, estarían ubicadas en la superficie proteica del dominio p19 de IL-23, se usó una estructura interna del heterodímero de IL-23. Para cada residuo en el dominio p19 de IL-23, se calculó la relación entre la superficie accesible y la superficie expuesta estándar para el tipo de aminoácido, y los residuos se agruparon en intervalos. Los residuos se colocaron en intervalos de accesibilidad de la siguiente manera: < 30 %, 30-40 %, 40-50 %, 50-60 %, 60-70 %, 70-80 %, > 90 % expuestas. Las accesibilidades de residuos estándares para cada tipo de aminoácido se calcularon en el tripéptido extendido Gly-X-Gly. El segundo cálculo que se realizó fue ODA (área de acoplamiento óptimo), que es útil para predecir las superficies de interacción entre proteínas. El método identifica parches de superficie óptima con la energía de desolvatación de acoplamiento más baja. El ODA se calculó para el dominio p19 de IL-23, y estos resultados se usaron para priorizar los residuos para mutagénesis.

Los residuos en estas tres regiones (A, B, C) se priorizaron en función de una calificación alta en los cálculos ODA y SASA, y también se ponderaron en función del alcance del intercambio de hidrógeno-deuterio con respecto a IL-23 sin complejo (péptido #1 >#2>#3>#4>#5). Las regiones sin identidad de ratón se clonaron como mutantes de intercambio de ratón, en lugar de mutantes múltiples de alanina, lo cual no demostró un impacto en la fijación en el análisis a pequeña escala. Con excepción de M7, que contiene una secuencia lineal de residuos en un bucle extendido, los residuos luego se combinaron en epítopos no lineales en función del mapeo en la estructura cristalográfica de rayos X de IL-23 (M5, M6, M8). Los mutantes de respaldo adicionales se generaron con subepítopos de residuos predominantemente lineales (M9, M10, M11). Los mutantes múltiples de alanina diseñados mediante este método se muestran a continuación en la Tabla 27.

Tabla 27: Mutantes múltiples de alanina de IL-23p19

Nombre	Región mutada	Residuos IL-23p19 (SEQ ID NO:6) mutados a alanina
M5	A y B	H53A, M54A, E112A, L116A y D118A
M6	A y C	T42A, W45A, H48A, F163A y Q170A
M7	C	W142A, E143A, T144A, Q145A y Q146A
M8	A, B y C	H53A, E112A, Q154A y W156A
M9	B	L116A, D118A y Q123A
M10	A	H53A, M54A, D55A y F163A
M11	C	W142A, T144A y Q146A

Clonación, expresión y purificación de los mutantes de alanina de mapeo de epítopos IL-23

El constructo de vector de entrada de la subunidad p40 de IL-23 de tipo silvestre no etiquetada se generó mediante

PCR, y la fidelidad del fragmento PCR se confirmó mediante secuenciación. El constructo de expresión transitoria se generó mediante recombinación LR de Gateway, y se confirmó la secuencia. El constructo de la subunidad p19 de IL-23 de tipo silvestre etiquetada con His y todos los constructos mutantes se generaron mediante PCR y se clonaron en el vector de expresión transitoria directamente. La fidelidad de todos los fragmentos PCR se confirmó mediante secuenciación. Con el objetivo de generar el control de tipo silvestre, la subunidad P40 de IL-23 de tipo silvestre no etiquetada se coexpresó con la subunidad P19 de tipo silvestre etiquetada con His, de manera transitoria, en las células HEK293-6E en la escala de 4 l para la purificación del complejo IL-23. En pocas palabras, las células HEK293-6E a 1×10^6 células/ml se transfectaron con el complejo de plásmidos de expresión/PEI en una relación de 0,5 (p19)/0,5 (p40)/1,5 (PEI). Se agregó triptona N1 como alimento 24 horas después, y las células se cosecharon 120 horas después de la transfección. El medio condicionado se filtró con filtros de 0,2 µM. Se cotransfectaron siete constructos mutantes p19 de IL-23 etiquetados con His, con la subunidad p40 de IL-23 de tipo silvestre no etiquetada en la escala de 30 ml, de acuerdo con el mismo protocolo de transfección descrito anteriormente. El medio condicionado se transfirió para el análisis, y la expresión de todos los mutantes se confirmó mediante transferencia Western anti-His. En función de los resultados de fijación preliminares, se seleccionaron los mutantes M5, M7, M9 y M10, y se aumentaron en una escala de 2 l con el mismo protocolo de transfección. El tipo silvestre también se aumentó en una escala de 2 l. Los aumentos del tipo silvestre y de los mutantes de IL-23 a 2 litros de células HEK se cosecharon, los sobrenadantes se concentraron, y el amortiguador se intercambió con PBS mediante filtración de flujo tangencial con una membrana de 10 kDa. Luego, las proteínas se purificaron mediante cromatografía de afinidad de níquel inmovilizado. El tipo silvestre se eluyó con 40 mM de imidazol, y luego se intercambió el amortiguador mediante la desalinización de la cromatografía por filtración en gel a PBS (5,6 mM de Na_2HPO_4, 1,1 mM de KH_2PO_4, 154 mM de NaCl, pH 7,4). Mediante SDS-PAGE se determinó que la pureza del tipo silvestre era > 95 %. Los mutantes se lavaron con 40 mM de imidazol y luego se eluyeron con 500 mM de imidazol. A los agrupamientos de elución se les intercambió el amortiguador, mediante diálisis, a PBS (7 mM de Na_2HPO_4, 3 mM de NaH_2PO_4, 130 mM de NaCl, pH 7,1). Mediante SDS-PAGE se determinó que la pureza de los mutantes era > 95 %. Los mutantes de alanina simples de IL-23p19 etiquetada con his en los residuos clave identificados mediante mutagénesis múltiple de alanina se generaron mediante síntesis génica y luego se clonaron en el vector de transfección transitoria. La expresión y la purificación fueron similares a los mutantes múltiples de alanina, con la excepción de M35A que se purificó mediante afinidad.

Análisis de fijación Biacore de mutantes de IL-23 al anticuerpo IL-23p19

La fijación de la expresión a pequeña escala de 30 ml de los siete (7) mutantes de alanina (véase la Tabla 27) se midió mediante resonancia de plasmones superficiales (SPR, Biacore)) en un Biacore® T100 en PBST (7 mM de Na_2HPO_4, 3 mM de NaH_2PO_4, 130 mM de NaCl, 0,05 % de Tween 20, pH 7,4) a 25 °C. Los receptores y los anticuerpos relevantes se capturaron a un nivel de alrededor de 60 RU mediante la proteína A inmovilizada a 2000 RU en un chip sensor CM5. Además de biAb3, se usaron IL-23 p19 mAb (7G10) de Merck e (IL-12/IL-23 p40 mAb) de STELARA® como controles para la fijación al dominio. Además, como controles, se usaron los receptores comerciales de IL-23: hIL-23R-Fc y hIL-12R□1-Fc (ambos de R&D Systems). Los sobrenadantes se diluyeron 1:5 en PBST y se inyectaron a razón de 30 µl/min sobre mAb o la superficie del receptor durante 3 minutos y, después de un tiempo de disociación, se regeneraron con 10 mM de glicina, pH 2,0. La fijación a una superficie de referencia de la Proteína A sin ningún anticuerpo capturado se sustrajo de todas las curvas de fijación específicas antes del análisis. Los resultados que se indican en la Figura 9 muestran la respuesta 10 segundos antes del final de la inyección.

Los resultados Biacore muestran que los mutantes múltiples de alanina IL-23 mantienen la fijación al anticuerpo específico p40 y al receptor de IL-23 específico p19 (excepto por M8 que describe potencialmente el sitio de fijación al receptor). También se realizó la fijación de otro IL-23p19 mAb e IL-12Rβ1-Fc, lo cual coincidió con los resultados de la Figura 9. El mutante M5 muestra una pérdida considerable de fijación a 7B7 Mab, mientras que M9 y M10 muestran una pérdida parcial de la fijación a 7B7 Mab (véase la Figura 10). M7 no muestra ningún impacto en la fijación al anticuerpo o a los controles. Por lo tanto, estos cuatro mutantes se eligieron para el aumento y la purificación, los tres mutantes que pierden fijación al anticuerpo IL-23p19 (anticuerpo 7B7 o Mab, 7B7 Fab y biAb3, los que tienen un dominio variable de la cadena pesada, como se muestra en SEQ ID NO:7, y un dominio variable de la cadena ligera, como se muestra en SEQ ID NO:9) y M7 como control.

Para el análisis Biacore de los mutantes purificados se usó el mismo formato de ensayo que los sobrenadantes, excepto que la IL-23 mutante y de tipo silvestre se diluyó a 25 nM y se tituló en serie 1:2 hasta 1,5 nM. Todos los resultados obtenidos con la purificación de las IL-23 mutantes confirmaron los datos obtenidos con los sobrenadantes de expresión. Los datos se ajustaron a un modelo de fijación de Langmuir 1:1, a fin de determinar los valores Kd que se muestran en la Figura 10 y en la Tabla 28. Las 1-2 RU de la fijación sustraída de referencia observada para la fijación de M5 al anticuerpo IL-23p19 (anticuerpo 7B7 o Mab, 7B7 Fab y biAb3, los que tienen un dominio variable de la cadena pesada, como se muestra en SEQ ID NO:7, y un dominio variable de la cadena ligera, como se muestra en SEQ ID NO:9) se simularon usando el software BIAsimulation 2.1 mediante el Rmax promedio determinado del análisis cinético de M9 y M10. Se calculó que la afinidad fue de ≥330 µM con un Kd 1500 veces más débil que el tipo silvestre, como se muestra en la Tabla 28.

Tabla 28. Análisis cinético Biacore de la fijación del anticuerpo IL-23p19 a los mutantes de alanina IL-23

	7B7 mab			BiAb3	STELARA®	Merck 7G10
Variante	Kd (nM)	Desplazamiento de Kd (de WT)	ΔΔG (kcal/mol)	ΔΔG (kcal/mol)	ΔΔG (kcal/mol)	ΔΔG (kcal/mol)
WT	0,14	NA	NA	NA	NA	NA
M5	≥ 300	1500	4,6	3,8	0,1	1,9
M7	0,4	3	0,5	NM	0,1	0,2
M9	25	140	2,9	2,3	0,1	0,2
M10	43	230	3,2	2,3	0,3	0,4

Se llevó a cabo el análisis Biacore de mutantes de alanina simples, a fin de confirmar el epítopo no lineal demostrado por los mutantes múltiples de alanina M5, M9 y M10. La mayoría de los mutantes de alanina simples en las tres regiones lineales A, B y C no mostraron cambios en la fijación a 7B7 Mab o biAb3. Solo tres de los catorce mutantes de alanina simples de IL-23 analizados mostraron una disminución considerable de la afinidad de fijación mayor de 1 kcal/mol. La afinidad y los valores ΔΔG de los residuos clave superpuestos entre los mutantes múltiples de alanina M5, M9 y M10 que se muestran en la Tabla 29 demuestran que un residuo principal en la región lineal B y dos residuos en la región lineal A contribuyen en forma predominante a la energía de fijación del complejo de IL-23p19 y anticuerpo IL-23.

Tabla 29. Análisis cinético Biacore de la fijación del anticuerpo IL-23p19 a los mutantes de alanina simple IL-23

	7B7 mab			BiAb3	STELARA®	7G10 de Merck
Variante	Kd (nM)	Desplazamiento de Kd (de WT)	ΔΔG (kcal/mol)	ΔΔG (kcal/mol)	ΔΔG (kcal/mol)	ΔΔG (kcal/mol)
WT	0,14	NA	NA	NA	NA	NA
His53 (región A)	0,2	0	0,2	0,2	0,3	0
Met 54 (región A)	6,8	48	2,3	2,2	0,3	1,0
Asp55 (región A)	9,6	68	2,5	2,3	0,5	0,7
Glu112 (región B)	0,7	5	0,9	1,2	0,3	1,7
Leu116 (región B)	46	330	3,4	3,0	0,5	0,2
Asp118 (región B)	0,1	0	0	-0,4	-0,3	-0,3

Fosforilación de STAT3 inducida por IL-23 en los transfectantes BaF3/huIL-23Rα/huIL-12Rβ1

Una línea celular derivada de la médula ósea murina (BaF3) se transfectó de manera estable con los receptores de longitud completa de IL-23Rα humana y de IL-12Rβ1 humana, y se clonó. La inducción de la fosforilación de STAT3 mediante IL-23 se controló por medio de ELISA para los mutantes múltiples de alanina IL-23. Las células BaF3/huIL-23Rα/huIL-12Rβ1 (clon 6) se lavaron tres veces con el medio del ensayo antes de colocarlas en placas a 50.000 células por cavidad en placas de cultivo tisular de fondo redondo de 96 cavidades. Las células BaF3/huIL-23Rα/huIL-12Rβ1 respondieron a IL-23 en una forma dependiente de la dosis mediante la fosforilación de STAT3. Con el objetivo de evaluar la inhibición de anticuerpos de la señalización de IL-23, se premezcló una concentración CE_{50} de 20 pM de IL-23 con diluciones en serie de tres veces de cada anticuerpo de 33 nM a 0,56 pM, y se incubó a 37 °C durante 15 minutos en el medio del ensayo antes de la adición a las células. Después de la preincubación, se agregaron los tratamientos en duplicado a placas que contenían células y se incubaron a 37 °C durante 15 minutos, a fin de estimular la fosforilación de STAT3. La estimulación se interrumpió con la adición de amortiguador de lavado helado, y las células se lisaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante (kit de lisis celular de Bio-Rad Laboratories, N.° de cat. 171-304012). Los niveles de STAT3 fosforilado se determinaron mediante ELISA (kit fosfo-STAT3(Tyr705) de Bio-Rad Laboratories, N.° de cat. 171-V22552), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los datos se analizaron, y los valores CI_{50} se calcularon usando el software GraphPad Prism 4. Todos los mutantes múltiples de alanina IL-23 y los mutantes simples de alanina IL-23 se encuentran activos y con la misma potencia que wt IL-23 (sin etiquetar y etiquetado) al inducir la actividad de pSTAT3 en los transfectantes BaF3/huIL-23Rα/huIL-12Rβ1 (Tabla 30). Los resultados de la inhibición de los anticuerpos biAb3, STELARA® (IL-12/IL-23 p40 mAb) e IL-23p19 (7G10) de Merck de pSTAT3 inducido por el mutante múltiple de alanina IL-23 se muestran en la

Tabla 31. biAb3 neutraliza la actividad biológica de wt IL-23 y el mutante múltiple de alanina IL-23 M7 con igual potencia, M9 y M10 con potencia reducida, y no neutraliza la actividad biológica de M5 en los transfectantes BaF3/huIL-23Rα/huIL-12Rβ1. IL-12 P40 MAB DE Stelara® neutraliza la actividad biológica de wt IL-23 y todos los mutantes múltiples de alanina IL-23 con igual potencia en los transfectantes BaF3/huIL-23Rα/huIL-12Rβ1. IL-23 p19 mAb (7G10) de Merck de control positivo neutraliza la actividad biológica de los mutantes múltiples de alanina wt IL-23, M7, M9 y M10 con igual potencia y no neutraliza la actividad biológica de M5 en los transfectantes BaF3/huIL-23Rα/huIL-12Rβ1.

Tabla 30. Valores CE_{50} para mutantes múltiples de alanina IL-23 y valores CI_{50} para la inhibición de anticuerpos biAb3, STELARA® (IL-12/IL-23 p40 mAb) e IL-23p19 (7G10) de Merck de pSTAT3 inducido por los mutantes múltiples de alanina IL-23 en los transfectantes BaF3/huIL-23Rα/huIL-12Rβ1

Anticuerpo	wt IL-23 humana	IL-23 M5	IL-23 M7	IL-23 M9	IL-23 M10
Ninguno (CE_{50})	21 pM	26 pM	21 pM	33 pM	19 pM
biAb3	19 pM	NA	17 pM	2400 pM	5300 pM
STELARA®	79 pM	62 pM	59 pM	67 pM	71 pM
7G10 de Merck	380 pM	NA	310 pM	260 pM	350 pM

Se construyeron mutaciones IL-23p19 simples (H53A, M54A y D55A), y se determinaron los valores CI_{50} para 7B7, Stelara® (IL-12 /IL-23p40 mAb) y el anticuerpo IL-23p19 (7G10) de Merck (Tabla 31) para inhibir los polipéptidos mutados IL-23p19 simples, a fin de inducir pSTAT3 en los transfectantes BaF3/huIL-23Rα/huIL-12Rβ1. El 7B7 Mab neutraliza la actividad biológica de los mutantes simples de alanina IL-23 H53A, E112A y D118A con la misma potencia, los mutantes M54A y D55A con una potencia considerablemente reducida, y no neutraliza la actividad biológica del mutante L116A en comparación con wt IL-23 en los transfectantes BaF3/huIL-23Rα/huIL-12Rβ1 (Tabla 31). IL-12 p40 mAb de Stelara® neutraliza la actividad biológica de todos los mutantes simples de alanina IL-23 con igual potencia, en comparación con wt IL-23 en los transfectantes BaF3/huIL-23Rα/huIL-12Rβ1. IL-23 p19 mAb de Merck neutraliza la actividad biológica de todos los mutantes simples de alanina IL-23 con igual potencia en comparación con wt IL-23 en los transfectantes BaF3/huIL-23Rα/huIL-12Rβ1, excepto para el mutante IL-23 E112A que no neutraliza.

Tabla 31: Valores CI_{50} para anticuerpos 7B7, Stelara® (IL-12 /IL-23p40 mAb) e IL-23p19 (7G10) para inhibir las mutaciones simples IL-23p19 (H53A, M54A y D55A) para inducir pSTAT3 en los transfectantes BaF3/huIL-23Rα/huIL-12Rβ1.

Anticuerpo	IL-23 wt CI_{50} (nM)	IL-23 H53A CI_{50} (nM)	IL-23 M54A CI_{50} (nM)	IL-23 D55A CI_{50} (nM)	IL-23 E112A CI_{50} (nM)	IL-23 L116A CI_{50} (nM)	IL-23 D118A CI_{50} (nM)
7B7/biAb3	0,020	0,015	0,71	1,2	0,025	>3	0,012
P40 DE STELARA®	0,067	0,078	0,081	0,077	0,033	0,054	0,052
7G10 de Merck	0,18	0,19	0,27	0,18	>3	0,24	0,22

Tomando todos estos resultados juntos, la inhibición de 7B7 mAb de IL-23 requiere los residuos de aminoácidos M54, D55 y L116, pero no requiere los residuos de aminoácidos H53, E112 o D118. Los anticuerpos Stelara® y Merck pudieron inhibir los mutantes simples de alanina IL-23 M54A, D55A y L116A sin pérdida de actividad, lo que sugiere que la pérdida de actividad que se ve en mutantes de alanina IL-23 M54, D55 y L116 es específica de 7B7 mAb y biAb3.

Análisis de estado oligomérico de mutantes de IL-23 y complejos 7B7 Fab

Con el objetivo de confirmar el estado oligomérico de los mutantes de IL-23 heterodiméricos y su capacidad de formar un complejo con 7B7 Fab, se estudiaron las proteínas mediante la separación con cromatografía por exclusión de tamaño (SEC-MALS) analítica usando un HPLC serie Agilent® 1100 con un detector de absorbancia de haz de diodos, en una columna Shodex Protein KW-803 en amortiguador (0,1 um filtrado) que contenía 200 mM de K_2PO_4 (pH 6,8 con HCl), 150 mM de NaCl y 0,02 % de solución de azida, a una velocidad de flujo de 0,5 ml/min. Un instrumento de dispersión de luz láser MiniDawn™ Treos® de Wyatt Technology se aplomó corriente abajo de la HPLC, y después mediante un refractómero diferencial de Wyatt Optilab® T-rEX™. Se inyectaron sesenta (60) µg de cada muestra de IL-23 después de la filtración, a una concentración de 10,3 µM. Para la formación de complejos, se premezclaron 60 µg de 7B7 Fab con 6 % de exceso molar y se incubaron con la proteína IL-23 a una concentración de 10,9 µM a temperatura ambiente durante 3-6 horas antes de la separación cromatográfica. Se retiraron los particulados de las muestras de proteínas con un filtro rotativo (Nanosep® MF, 0,2 µm, Pall Corporation) antes de la inyección. Los datos se analizaron con Astra® 6 (Wyatt) y Chemstation (Agilent). Todos los mutantes eran, en su mayoría, monoméricos, similares a los de tipo silvestre. El mutante M5 mostró una formación del complejo considerable después de la preincubación con el Fab y se eluyó cerca de donde el M5 IL-23 solo se eluye, lo que demuestra que se formó un pequeño complejo, si es que se formó, en el rango de concentración de 10 µM de este

experimento. Se formó el complejo de M7, y este se eluyó de manera similar al de tipo silvestre. Los mutantes M9 y M10 formaron complejos en estas concentraciones, pero la masa fue menor que la de tipo silvestre, y el tiempo de retención era levemente menor que el de tipo silvestre y M7, lo que sugirió que su afinidad para 7B7 era más débil que la de tipo silvestre y M7. El análisis SEC-MALS de los 14 mutantes de alanina simples mostró que todos fueron, en su mayoría, monoméricos, similares al de tipo silvestre, y solo el mutante L116A mostró un tiempo de elución de desplazamiento tardío y una leve reducción en la masa prevista del complejo, lo que sugiere una reducción de la afinidad de IL-23 para 7B7 Fab. Estos resultados son coherentes con el desplazamiento Biacore en Kd para estos L116A. El efecto de la afinidad reducida del complejo de D54A y M55A con Fab no se pudo volver a disolver en las condiciones de este ensayo.

Calorimetría de barrido diferencial de mutantes de IL-23

El perfil de estabilidad térmica para el tipo silvestres y los heterodímeros de IL-23 mutantes se midió mediante calorimetría de barrido diferencial (DSC) usando un instrumento de DSC VP-capilar de MicroCal®. Se analizaron 0,7 mg/ml de muestras proteicas en PBS (7 mM de Na_2HPO_4, 3 mM de NaH_2PO_4, 130 mM de NaCl, pH 7,1) de 10-100 °C a 90 o/h, y los termogramas resultantes se sometieron a una sustracción de vacío del amortiguador y a un procedimiento de ajuste. La desnaturalización de cada molécula se caracterizó por dos transiciones de despliegue, y los valores del punto medio de transición ajustado (Tm) de cada transición se encontraban entre 1-4 °C del tipo silvestre. Los resultados muestran que ninguno de los mutantes múltiples de alanina ni los 14 mutantes de alanina simples muestran una desestabilización térmica considerable con respecto al tipo silvestre.

Análisis mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) de mutantes de IL-23

La comparación de la estructura secundaria de los mutantes múltiples de alanina y de tipo silvestre de IL-23 se llevó a cabo usando una espectroscopia FT-IR en un instrumento FT-IR Prota de Biotools con ventanas CaF_2 con una longitud de trayectoria de ~7 µm y un láser Ne-He a 632,8 nm. Los datos se recolectaron con una resolución de 2 cm^{-1} y se analizaron con el software Prota/Bomem-GRAMS/31 AI. Para cada muestra, se realizaron mediciones por duplicado, y la variabilidad del método es de alrededor de 3 %. El contenido de la estructura secundaria se calculó usando el pico de amida I como su estructura sensible. Se observó aproximadamente una cantidad igual de hélice α y lámina β en todas las muestras de IL-23, como se indicó mediante los picos a 1637 cm-1 para α-hélice y el pico a 1637 cm-1, así como el hombro a 1687 cm-1 para lámina β. En general, no se observó ninguna diferencia considerable en el resultado del espectro de FT-IR y de la estructura secundaria calculada en los mutantes múltiples de alanina en comparación con IL-23 de tipo silvestre.

Análisis de dicroísmo circular (CD) de mutantes de IL-23

La comparación de la estructura secundaria de los mutantes múltiples de alanina y el tipo silvestre de IL-23 usando la espectroscopia CD se realizó usando un espectrofotómetro J-815 de Jasco. Los espectros se recolectaron a una concentración proteica de IL-23 de 0,25 mg/ml en PBS pH 7,1, usando celdas de 1 mm de longitud de trayectoria a 25 °C de 300-190 nm con un intervalo de datos de 0,1 nm, una velocidad de barrido de 50 nm/min, un ancho de banda de 1 nm y 2 acumulaciones. En general, no se observó ninguna diferencia considerable en el perfil de la estructura secundaria en los mutantes múltiples de alanina, en comparación con IL-23 de tipo silvestre usando el dicroísmo circular.

Análisis de espectroscopia de resonancia magnética nuclear (NMR) de mutantes de IL-23

La NMR protónica es una técnica altamente sensible que permite el acceso al estado conformacional con detalle atómico. Los espectros 1D ^1H NMR se adquirieron para cuatro proteínas de IL23 mutantes (M5, M7, M9, M10) y de tipo silvestre. Todas las proteínas se dializaron simultáneamente contra el amortiguador de NMR (PBS en 8 % de D_2O/92 % de H_2O) para eliminar las posibles diferencias que resultan de la preparación de la muestra. Además, se corrigieron las intensidades de señal ^1H con respecto a las diferencias en la concentración proteica mediante la normalización del espectro de tipo silvestre. Todos los datos de NMR se recolectaron a 32 °C en un espectrómetro Avance 3 de Bruker que opera a 600 MHz. Los espectros 1D NMR se adquirieron usando la secuencia de pulso de Bruker estándar (ZG) optimizada por la supresión de solvente y excipiente usando los esquemas de pulso de excitación selectivos *flipback* de Watergate, WET y Water. Se determinó el promedio de señal de dos mil cuarenta y ocho (2048) barridos para cada espectro. Se aplicó la apodización de coseno al cuadrado antes de la transformación de Fourier, y se usó una corrección inicial polinómica de primer orden para aplanar la apariencia del inicio. El examen de cada uno de los espectros con respecto a las proteínas individuales reveló que cada proteína mutante se plegó de manera adecuada, como lo demuestran las resonancias bien disipadas en las regiones de campo alto (< 0,5 ppm) y de campo bajo (>6,5 ppM) de los espectros. Las resonancias de metilo de campo alto indicaron la presencia de un núcleo hidrófobo intacto; los protones de amida desapantallados (*downfield*) reflejaron la existencia de una estructura secundaria bien formada (hélices alfa y láminas beta). La comparación de los espectros con los de IL23 de tipo silvestre indicaron una coincidencia muy cercana, lo que implica la exclusión de la existencia de grandes cambios conformacionales en la estructura proteica inducida por las sustituciones de aminoácidos. Además, los resultados de NMR también indicaron que es poco probable una pérdida extra de actividad en M5 debido a una gran alteración de la integridad estructural en los sitios de mutación de M5. El hecho de que M5 estaba

considerablemente más cerca de la proteína de tipo silvestre mediante el análisis de componentes principales de lo que sugiere M9, produce que las siguientes mutaciones M5 que están ausentes en M9, es decir, H53A, M54A y E112A, no provoquen una gran alteración en la estructura de M5. También se observó que los mutantes M7 y M9 que contienen la eliminación de un residuo aromático parecieron sumamente similares entre sí en el análisis de componentes principales. Todos los mutantes simples parecen ser similares a los de tipo silvestre, excepto por D118A y M54A; sin embargo, otros controles demuestran que estos mutantes mantienen una estabilidad y actividad similares a las del tipo silvestre.

Resumen del análisis de epítopos IL-23

Se utilizaron los métodos de mutagénesis simple y múltiple de alanina para mapear el epítopo de hIL-23 para 7B7 Fab contenido en los anticuerpos 7B7 Fab, 7B7 y biAb3. Se realizó la estrategia de mutagénesis dirigida usando información de epítopos generada mediante análisis LCMS de digestión proteolítica, fijación al péptido, espectroscopia de masa de intercambio de hidrógeno/deuterio, cálculos de superficie accesible al solvente y cálculos de algoritmo de acoplamiento. La detección a baja escala mediante SPR y el aumento de mutantes purificados selectivos demostraron un epítopo específico para hIL-23 fijado a 7B7/biAb3. El mutante M5 muestra una disminución considerable en la fijación a 7B7/biAb3, mientras mantiene actividad funcional, fijación a reactivos específicos p40 y p19, estado oligomérico monomérico, estabilidad térmica y características estructurales secundarias similares al tipo silvestre. El mutante M5 mostró una pérdida drástica de fijación a 7B7/biAb3, mientras que M9 y M10, cada uno de los cuales contenía dos de los mismos residuos mutados que M5, mostraron una pérdida parcial de fijación a 7B7/biAb3. La afinidad del mutante de IL-23, M5, era ≥ 300 nM para 7B7/biAb3, lo que implica que es 1500 veces más débil que IL-23 de tipo silvestre y demuestra que los residuos en el mutante M5 definen el epítopo para la fijación de 7B7/biAb3 a IL-23. Por ello, los datos sugieren que el anticuerpo 7B7/biAb3 se fija a un epítopo discontinuo en la subunidad p19 de IL-23. Este epítopo discontinuo en IL-23p19 comprende al menos dos regiones de epítopos (región A (residuos de aminoácidos 33-59 de SEQ ID NO:6) y región B (residuos de aminoácidos 89-125 de SEQ ID NO:6)). Específicamente, con respecto al primer epítopo o región A de IL-23p19, los residuos de aminoácidos 54 (Met) y 55 (Asp) de SEQ ID NO:6 aportan una cantidad considerable de energía de fijación a la capacidad de 7B7/biAb3 de fijarse a IL-23p19. Con respecto al segundo epítopo o región B de IL-23p19, el residuo de aminoácidos 116 (Leu) es el residuo primario en la región B, que contribuye enérgicamente a la capacidad de 7B7/biAb3 de fijarse a IL-23p19.

Ejemplo 8

Modelo EAE de titíí

Antecedentes y fundamentos

La esclerosis múltiple (MS) es una enfermedad crónica, autoinmunitaria, inflamatoria y neurodegenerativa del sistema nervioso central (SNC) que se caracteriza por la pérdida de mielina en el cerebro y en la médula espinal. Si bien los mecanismos que dan origen a esta enfermedad no se comprenden totalmente, los procesos que contribuyen a la progresión clínica de la esclerosis múltiple son inflamación, desmielinización y pérdida axonal, o neurodegeneración. Los macrófagos y las microglías son las células inmunitarias principales del SNC. Estas células, al igual que los linfocitos T, neutrófilos, astrocitos y microglías, pueden contribuir a la patología inmunitaria de, por ejemplo, la esclerosis múltiple. Además, la reactividad/autoinmunidad de los linfocitos T a varias proteínas de la mielina, que incluyen la proteína básica de la mielina (MBP), la proteína proteolipídica (PLP), la proteína oligodendrocítica de la mielina (MOG) y quizás otras proteínas de la mielina, está implicada en la inducción y continuidad de las condiciones patológicas de la esclerosis múltiple. Esta interacción entre los linfocitos T autorreactivos y las proteínas de la mielina puede generar la liberación de citocinas proinflamatorias, que incluyen TNF-alfa, IFN-gamma e IL-17, entre otras. Otras consecuencias son la proliferación de linfocitos T, la activación de linfocitos B y de macrófagos, la regulación ascendente de quimiocinas y moléculas de adhesión, y la alteración de la barrera hematoencefálica. La patología consiguiente es la pérdida de oligodendrocitos y axones, y la formación de una "placa" desmielinizada. La placa consiste en una lesión en la que la vaina de mielina está ausente y los axones desmielinizados están incrustados en la cicatriz del tejido glial. La desmielinización también se puede producir como resultado del reconocimiento y la opsonización específicos de antígenos de mielina por parte de los autoanticuerpos, seguido de la destrucción mediada por el macrófago activado y/o por el complemento. Se cree que esta pérdida axonal y neurodegeneración son las principales responsables del deterioro neurológico irreversible que se observa en la esclerosis múltiple progresiva.

La esclerosis múltiple (MS) se clasifica en cuatro tipos que se caracterizan por la progresión de la enfermedad.

(1) *MS con recidiva-remisión* (RRMS). La RRMS se caracteriza por recidiva (ataques de exacerbación de los síntomas) seguido de remisión (períodos de recuperación). Los síntomas pueden variar de moderado a grave, y las recidivas y las remisiones pueden durar días o meses. Más del 80 % de las personas que padecen MS comienzan a experimentar ciclos de recidiva-remisión.

(2) *MS progresiva secundaria* (SPMS). Con frecuencia, la SPMS se produce en personas que tienen MS de recidiva-remisión. En la SPMS, se producen recidivas y remisiones parciales, pero el deterioro no desaparece

entre los ciclos. Por el contrario, empeora progresivamente hasta que la progresión constante del deterioro reemplaza los ciclos de ataques.
(3) *MS progresiva primaria* (PPMS). La PPMS progresa de manera lenta y constante desde el inicio. No hay períodos de remisión, y la intensidad de los síntomas generalmente no disminuye. Alrededor del 15 % de las personas con MS padecen PPMS.
(4) *MS con recidiva progresiva* (PRMS). En este tipo relativamente inusual de MS, las personas experimentan tanto síntomas de empeoramiento constante como ataques durante los períodos de remisión.

Mayo Clinic (en el sitio web mayoclinic.org/multiple-sclerosis/types).

La heterogeneidad clínica y patológica en el curso de la esclerosis múltiple humana es amplia. En general, los síntomas comienzan entre los 18 y 50 años, pero pueden comenzar a cualquier edad. Los síntomas clínicos de la esclerosis múltiple pueden variar desde leves trastornos visuales y cefaleas hasta ceguera, ataxia grave y parálisis. La mayoría de los pacientes (aproximadamente el 70 – 75 %) tienen esclerosis múltiple con recidiva-remisión, en donde los síntomas de la enfermedad pueden reaparecer en cuestión de horas o días, seguido de una recuperación mucho más lenta; la ausencia de síntomas durante las etapas de remisión no son poco comunes. La incidencia y frecuencia de las recidivas y remisiones puede variar ampliamente, pero a medida que transcurre el tiempo, las fases de recuperación pueden volverse incompletas o producirse con mayor lentitud. El empeoramiento de la enfermedad en estos casos se clasifica como esclerosis múltiple progresiva secundaria y se produce en aproximadamente el 10 - 15 % de los pacientes con esclerosis múltiple. A otro 10 – 15 % de los pacientes se les diagnostica esclerosis múltiple progresiva primaria, en donde los síntomas de la enfermedad y el deterioro físico progresan de manera constante durante todo el proceso de la enfermedad.

Tanto IL-23 como IL-17 se sobreexpresan en el sistema nervioso central de seres humanos con esclerosis múltiple y en ratones que experimentan un modelo animal de esclerosis múltiple, la encefalomielitis autoinmunitaria experimental (EAE). La sobreexpresión se observa en ratones cuando la EAE es inducida mediante el péptido de la glucoproteína oligodendrocitaria de la mielina (MOG) (35-55) o el péptido proteolipídico (PLP). Además, la neutralización de IL-23/p19 o IL-17 produce la mejora de síntomas de EAE en los ratones (Park et al, Nat Immunol. 6:1133 (2005); y Chen et al, J Clin Invest. 116:1317 (2006)).

Métodos

La encefalomielitis autoinmunitaria experimental (EAE) es un modelo animal reproducible y bien caracterizado que replica ciertos aspectos de la MS. La EAE es inducible en roedores y en primates no humanos, tales como el tití común. Genain, C. P. and Hauser, S. L., “Creation of a model for multiple sclerosis in Callithrix jacchus marmosets,” J. Mol. Med., 75:187–197 (1997). En la EAE de tití, los animales son inmunizados con una glucoproteína oligodendrocitaria de la mielina humana recombinante (rHuMOG) para inducir el desarrollo de una enfermedad que se asemeja a la esclerosis múltiple humana. En los estudios publicados sobre este modelo se han utilizado MOG emulsionado en adyuvante de Freund completo (CFA) como inmunógeno, en una sola inoculación. Nuestros primeros intentos por inducir EAE en el tití usando la metodología publicada conllevó al inicio de síntomas clínicos entre los días 23 a 142 después de la inyección de MOG (no se muestran los datos). Debido a que se consideró que la línea temporal era muy larga para los estudios de eficacia preclínica, se utilizó un protocolo modificado con una dosis de cebado inicial y la posterior inmunización de refuerzo para inducir la enfermedad. Mediante el uso del protocolo de cebado/refuerzo descrito en este estudio, se evaluó la actividad de un anticuerpo biespecífico sustituto que tenía una entidad de fijación a IL-17A/F y una entidad de fijación a IL-23 en este modelo de primate no humano de EAE. El anticuerpo biespecífico sustituto era un biAbFabL (véase la Figura 2) que tenía la misma entidad de fijación a IL-17 A/F que biAb-1, biAb-2, biAb-3 y biAb-4, mientras que una entidad de fijación a IL-23 sustituta como la entidad de fijación a IL-23 de biAb-3, por ejemplo, tenía menor afinidad con IL-23p19 de tití. En consecuencia, se usó una entidad de fijación a IL-23 alternativa en el anticuerpo biespecífico sustituto. La entidad de fijación a IL-23 alternativa que se utilizó en el anticuerpo biespecífico sustituto fue la misma entidad de fijación a IL-23 identificada como IL-23 mAb en las Figuras 13 y 14.

Para la inducción de EAE, se diluyó rHuMOG (BlueSky Biotech, Worcester, MA) en PBS estéril a 0,66 mg/ml y luego se emulsionó con el mismo volumen de adyuvante de Freund incompleto (IFA, Sigma #F5506) que contenía 5 mg/ml de M. tuberculosis H37 RA (Difco # 231141). Se inyectaron 300 µl de la mezcla de CFA/MOG final (que contenía 0,33 mg/ml de MOG y 2,5 mg/ml de H37RA) en dos lugares del área del hombro afeitado de cada animal (150 µl x 2 sitios de inyección). Todos los tití se inmunizaron con CFA/MOG el mismo día (Día 0).

El Día 21, los animales recibieron una inmunización de refuerzo de IFA/MOG (preparada como se indicó anteriormente, pero sin H37 RA) inyectada en dos sitios de inyección sobre el área lumbar/de la cadera afeitada. Los tití se anestesiaron con Ketamine (15 mg/kg) mediante inyección IM para las inoculaciones de cebado y refuerzo.

La IL-23/17 AF bAb sustituta (IgG4.1k) se formuló en 20 mM de ácido succínico y 150 mM de amortiguador de arginina (pH 5,6). La administración de la dosis comenzó un día antes de la inoculación de cebado con CFA/MOG. A los animales se les administró placebo (PBS, SC, 2 x/semana) o IL-23/17 AF bAb (7 mg/kg, SC, 2 x/semana). Otros grupos de tratamiento incluían BMS-938790 (IL-23 adnectina; 3 mg/kg, SC, 2 x/semana), ADX_PRD1651 (IL-23/17

binectina, 10 mg/kg, SC, 2 x/semana) y una IL-23 mAb sustituta IgG4.1 (IL-23.15-g4P, 9 mg/kg, SC, 2 x/semana). Las dosis se administraron los martes y viernes durante todo el período de estudio. Los pesos corporales individuales se registraron por semana, y los animales recibieron dosis en función de su peso corporal. Todas las dosis SC se administraron en el área del flanco después del hisopado tópico con alcohol. Los sitios de las dosis se alternaron (lado izquierdo o derecho) para cada administración de la dosis. Los grupos de tratamiento al inicio del estudio consistieron en 8 animales por grupo (machos y hembras mezclados). Los animales estaban conscientes y se les sostuvieron las patas delanteras al momento de la inyección del fármaco.

Las evaluaciones visuales de las condiciones patológicas se realizaron a diario a partir del Día 12. Las evaluaciones se realizaron y registraron mediante el consenso de dos investigadores. Las calificaciones clínicas se basaron en una modificación de la calificación de las enfermedades publicada, como se describe en la siguiente Tabla 32.

Tabla 32 – Sistema de calificación clínica de EAE en tití

0 = sin signos clínicos
0,5 = reducción del estado de alerta/movimientos lentos, o pérdida del apetito
1,0 = pérdida de peso >10 % (peso inicial al inicio del estudio Día 0)
1,5 = defectos visuales unilaterales o bilaterales, anomalías de la mirada disociada
2,0 = trastornos visuales y/o equilibrio débil, ataxia o marcha anormal
2,5 = monoparesia o paraparesia de los miembros inferiores o superiores y/o hipoestesia y/o síndrome del tronco encefálico
3,0 = hemiplejía o paraplejía (parálisis de la mitad posterior de un lateral) (también puede incluir la parálisis de una pierna y una mano al mismo tiempo)
4,0 = cuadriplejía
5,0 = moribundo o muerte espontánea

Resultados

La cantidad de animales con signos/síntomas de la enfermedad EAE por grupos fue la siguiente:

Grupo A (PBS): 5 de 7 tití (71 %) mostraron una enfermedad tipo EAE y/o disfunción neurológica en algún momento durante el estudio. Los síntomas de la enfermedad consistieron en ceguera y parálisis.

Grupo B (IL-23 adnectina, BMS-938790): 1 de 6 tití (17 %) mostraron una enfermedad tipo EAE. Los síntomas de la enfermedad consistieron en ceguera progresiva y parálisis.

Grupo C (IL-23/17 binectina, ADX_PRD1651): 6 de 7 tití (86 %) mostraron una enfermedad tipo EAE. Sin embargo, 3 de los animales mostraron signos/síntomas de EAE solo en un único día de observación.

Grupo D (IL-23 mAb): 3 de 6 tití (50 %) mostraron una enfermedad tipo EAE. El síntoma que prevaleció fue la ceguera.

Grupo E (IL-23/17 AF bAb): 4 de 8 tití (50 %) mostraron una enfermedad tipo EAE; de estos 4 animales tuvieron síntomas transitorios con una calificación “positiva” solo en un único día de observación. La enfermedad consistió mayormente en síntomas leves, tales como movimientos lentos o reducción del estado de alerta.

En comparación con la incidencia de la enfermedad en el Grupo A (PBS), la diferencia en la incidencia de la enfermedad en cada uno de los otros grupos de tratamiento no fue importante en términos estadísticos ($p>0,05$, prueba exacta de Fisher).

Un pequeño subconjunto de animales en el estudio presentó signos/síntomas más graves de EAE, y fue necesario someter a eutanasia a varios tití para cumplir con los criterios de valoración humanitarios preestablecidos. La cantidad de animales en cada grupo que debieron ser sometidos a eutanasia fue la siguiente: Grupo A (2); Grupo B (1); Grupo C (1); Grupo D (0); Grupo E (0).

A los animales que se sometieron a eutanasia para razones humanitarias como resultado de síntomas de EAE se les asignó una calificación de gravedad clínica de “4” al momento de la eutanasia, lo cual se utilizó durante el resto del estudio a fin de calcular la calificación de la gravedad clínica media. La Figura 12 representa la calificación de la gravedad clínica media para cada grupo de tratamiento durante el curso del estudio. El Grupo A (PBS) alcanzó una calificación máxima de aproximadamente 1,6 al final del estudio. Todos los otros grupos mostraron calificaciones clínicas medias más bajas; el Grupo E (IL-23/17 AF bAb) mostró solo un período corto (~1 semana) durante el que los signos de la enfermedad EAE fueron evidentes. Debido a la cantidad limitada de animales en cada grupo y la variabilidad entre los animales en las calificaciones de la enfermedad EAE entre los animales de un grupo, ninguna de las diferencias entre el Grupo A (PBS) y los otros grupos de tratamiento fue importante en términos estadísticos (prueba U de Mann-Whitney).

En síntesis, este estudio mostró una tendencia hacia la reducción de la gravedad de la enfermedad y la reducción de la incidencia de la enfermedad en el modelo EAE de titi con varios de los compuestos evaluados. En general, los animales tratados con IL-23/17 AF bAb (IgG4.1k) parecieron experimentar el resultado más beneficioso (Figura 12), aunque las diferencias entre los grupos no fueron importantes en términos estadísticos. El descubrimiento de que los animales tratados con IL-23/17 AF bAb tuvieron una mejor protección que los animales tratados solo con IL-23 mAb sugiere que el direccionamiento dual de las vías de IL-23 e IL-17AF dará como resultado una mayor eficacia en el tratamiento de enfermedades en seres humanos en las que estas vías de citocinas tienen una función, las que incluyen, entre otras, esclerosis múltiple.

IRM post mórtem

Al final del estudio, los titi que sobrevivieron se sometieron a necropsia. Se retiró la bóveda craneal, y el cerebro se fijó *in situ* en formalina durante 3 semanas. Pare evaluar las lesiones en la materia blanca y los rastros ópticos, se realizaron exploraciones de IRM de densidad protónica y T2W con el sistema Bruker Biospec 7T con una bobina Quad RF de 72 mm, usando los siguientes parámetros: Tiempo de exploración total ~ 15 - 20 min por muestra; 23 imágenes axiales recolectadas; TR/TE = 5000/20 ms; grosor de corte = 1,2 mm; FOV = 4 cm; matriz = 256 x 256; resolución en plano = 156 mm^2.

Se revisaron las exploraciones, y se realizaron interpretaciones semicuantitativas mediante la lectura consensual de 3 radiólogos después de la revisión de todas las imágenes de IRM para cada grupo de animales. La calificación de las lesiones se basó en el conteo de lesiones en la materia blanca que cubre todo el cerebro. La calificación del nervio óptico se basó en la hinchazón y aumento de la intensidad de señal que refleja inflamación en el nervio y tracto óptico.

En general, se observó una reducción considerable ($p < 0,05$) de la cantidad de lesiones para el grupo IL-23/17 AF bAb en comparación con el grupo vehículo (Figura 13). La calificación del tracto óptico también fue considerablemente más bajo en el grupo IL-23/17 AF bAb que en el vehículo (Figura 14). Ninguno de los otros grupos de tratamiento fue considerablemente diferente del grupo tratado con vehículo para ninguna de estas mediciones de IRM. Por ello, de acuerdo con las calificaciones de las enfermedades clínicas, el grupo de animales tratado con IL-23/17 AF bAb presentó los valores de IRM medios más bajos, lo cual sugiere que el direccionamiento dual de las vías de IL-23 e IL-17AF dará como resultado una mayor eficacia en el tratamiento de enfermedades en seres humanos.

Ejemplo 9

Mapeo del epítopo IL-17A e IL-17F

El análisis descrito en este Ejemplo 9 pretende identificar los residuos epitópicos en IL-17A e IL-17F, para lo cual se fija la entidad de fijación a IL-17A/F de biAb3 (el dominio variable de la cadena pesada, como se muestra en SEQ ID NO:13 y los dominios variables de la cadena ligera, como se muestra en SEQ ID NO:9).

En la estrategia para identificar las diferencias clave entre el epítopo de biAb3 y el ratón parental (339.15.5.3) se utilizó cristalografía de rayos X, mutagénesis dirigida al sitio, mutagénesis *in-silico* y ensayos de fijación y funcionales para analizar los mutantes. El dominio variable de la cadena pesada de la entidad de fijación a IL-17A/F de biAb3 es una versión humanizada del dominio variable de la cadena pesada del clon 339.15.5.3, clon 339.15.3.6 o clon 339.15.5.3. Los residuos CDR de la cadena pesada de la entidad de fijación a IL-17A/F de biAb3 y el clon 339.15.5.3, clon 339.15.3.6 o clon 339.15.5.3 son idénticos. Sin embargo, los dos mAb difieren en la región marco de sus dominios variables de la cadena pesada. Los dos mAb tienen diferentes cadenas ligeras; por lo tanto, los residuos de IL-17 en contacto con la cadena ligera de cada mAb fueron el centro de este estudio.

Cristalografía de rayos X

Se realizó la cristalografía del complejo IL17A Fab y del complejo IL17F Fab para determinar los residuos de la interfase de contacto del modelo de superficie de contacto para las predicciones de residuos de paratopos/epítopos y la determinación de la superficie enterrada. También se usaron las estructuras tridimensionales para los cálculos energéticos del mutante proteico en función de los complejos de la estructura de cristal modelada.

Los Fab de cada anticuerpo se clonaron y expresaron de manera periplasmática en la cepa BL21 de *E.coli* (339-134 humanizado) o BL21 Star (BiAb). La purificación de ambos incluyó IMAC y luego SEC. IL-17A e IL-17F se expresaron en la cepa W3110 de *E. coli* como cuerpos de inclusión y se volvieron a plegar; luego se realizó una purificación de varias etapas.

El Fab derivado de los brazos de IL-17 de biAb3 (dominio variable de la cadena pesada de SEQ ID NO:13 y dominio CH1 de la cadena pesada de SEQ ID NO:15; y una cadena ligera de SEQ ID NO:17) y el Fab derivado de la molécula inicial humanizada del progenitor (anticuerpo IL-17A/F antihumano humanizado 339-134 mAb (SEQ ID NO:65 y SEQ ID NO:67) formaron un complejo con IL-17A o IL-17F humanas. La formación de complejos de IL-17A

o IL-17F con BiAb3 y el anticuerpo IL-17A/F antihumano humanizado 339-134 mAb se controlaron mediante SEC.

Los cocristales de cada uno de los cuatro complejos se generaron mediante cribado amplio, seguido de la optimización de las condiciones de cristalización. Se recolectó un conjunto de datos de cada muestra en las líneas de haz de APS LS-CAT.

Tabla 33 - Resumen de la resolución del conjunto de datos de cristalografía de rayos X.

Complejo	Resolución
IL-17A A2999F/Fab A3052F parental	2,85 Å
IL-17F A2768F/Fab A3052F parental	3,75 Å
IL-17A A2999F/Fab A3185F inicial	3,4 Å
IL-17F A2768F/Fab A3185F inicial	4,25 Å

Cada estructura se determinó mediante reemplazo molecular usando Phaser MR del software CCP4. El modelo de búsqueda de IL-17A se derivó de PDB ID 2VXS. El modelo de búsqueda de IL-17F se obtuvo de PDB ID 1JPY. Para cada Fab, los modelos de búsqueda se generaron para los dominios constantes y variables usando el Fab humanizado de PDB ID 3IDX con eliminación de los bucles hipervariables. Los modelos finales se obtuvieron después de rondas reiterativas de refinamiento en REFMAC5 y construcción del modelo manual en Coot. Además, se realizaron rondas adicionales de refinamiento y generación de mapas en Autobuster para la construcción y el refinamiento del modelo de todas las estructuras de menor resolución. La estadística cristalográfica de la recolección y el refinamiento de datos se muestra para las estructuras Fab parentales humanizadas en la Tabla 34 y las estructuras Fab iniciales humanizadas en la Tabla 35. Se evaluó cada estructura para determinar la geometría, usando MolProbity que se había descargado para ejecutarse en un servidor interno.

Tabla 34 - Estadística cristalográfica de Fab A3052F parental humanizado en complejo con IL-17A o IL-17F

	IL-17A/Fab A3052F parental		**IL-17F/Fab A3052F parental**	
	Total	**Carcaza más alta**	**Total**	**Carcaza más alta**
ID del cristal	238318e7		238699f10	
ID de puck único	oyg0-1		apa7-6	
Fecha de recolección	1 de noviembre de 2012		18 de diciembre de 2012	
$\Delta\phi$	0,5°		1,0°	
Imágenes	71-260 (95°)		1-180 (180°)	
Longitud de onda	0,97856 Å		0,97856 Å	
Grupo espacial	$P3_221$		$C2$	
Celda unitaria	$a = b$= 141,9 Å, c = 91,2 Å $\alpha = \beta = 90^o$, $\gamma = 120^o$		a = 226,1 Å, b= 62,3 Å, c = 117,3 Å $\alpha = \gamma = 90^o$, β = 104,4°	
Contenido del solvente	70%		60%	
V_m	4,1 Å^3/Da		3,1 Å^3/Da	
Resolución	50-2,85 Å	2,91-2,85	50-3,75 Å	3,84-3,75
I/σ	18,2	2,3	16,7	2,0
Compleción	99,1%	99,3%	97,4%	97,2%
$R_{fusión}$	0,062	0,538	0,066	0,709
Multiplicidad	5,9	6,0	3,4	3,5
Reflejos	24.828	1821	16.223	1198
Mosaico genético	0,4		0,3-0,8	
Refinamiento				
R	0,269		0,251	
R_{libre}	0,309		0,300	

Validación				
Valores favorecidos de Ramachandran	91,9%		86,8%	
Valores atípicos de Ramachandran	1,0%		3,6%	
Valores atípicos del rotámero	3,2%		10,3%	
Calificación de colisión	3,78 (100)		10,08 (97)	
Calificación de Molprobity	2,04 (99)		2,92 (91)	

Tabla 35 - Estadística cristalográfica de Fab A3185F inicial humanizado solo o en complejo con IL-17A o IL-17F

	Fab A3185F inicial		**IL-17A/Fab A3185F inicial**		**IL-17F/Fab A3185F inicial**	
	Total	**Carcaza más alta**	**Total**	**Carcaza más alta**	**Total**	**Carcaza más alta**
ID del cristal	243072a6		240719f6		238860g7	
ID de puck único	koc5-3		jsm6-5		cum1-2	
Línea de haz	APS 21 ID-D		APS 21 ID-D		APS 21 ID-G	
Fecha de recolección	18 de abril de 2013		18 de abril de 2013		30 de noviembre de 2012	
$\Delta\phi$	1,0°		1,0°		0,5°	
Imágenes	1-257 (257°)		1-180 (180°)		1-180 (180°)	
Longitud de onda	0,93005 Å		0,93005 Å		0,97856 Å	
Grupo espacial	*C*2		$C222_1$		$P2_1$	
Celda unitaria	*a* = 92,1 Å, *b* = 60,1 Å, *c* = 73,0 Å, α = γ = 90º, β = 94,9°		*a* = 54,6 Å, *b* = 83,6 Å, *c* = 248,9 Å, α = β = γ = 90º		*a* = 115,0 Å, *b* = 61,8 Å, *c* = 124,9 Å, α = γ = 90º, β = 92,3°	
Contenido del solvente	39%		51%		64%	
V_m	2,0 $Å^3$/Da		2,5 $Å^3$/Da		3,4 $Å^3$/Da	
Resolución	50-2,1 Å	2,14-2,10 Å	50-3,4 Å	3,48-3,40 Å	50-4,25 Å	4,35-4,25 Å
I/σ	13,2	3,9	18,6	3,1	13,7	2,8
Compleción	99,6%	99,4%	98,1%	97,5%	98,2%	98,9%
$R_{fusión}$	0,108	0,450	0,090	0,583	0,066	0,556
Multiplicidad	5,2	5,3	4,5	4,9	3,6	3,7
Reflejos	23.262	1708	9200	653	12.522	931
Mosaico genético	0,3		0,5		0,3	
Refinamiento						
R	0,175		0,243		0,285	
R_{libre}	0,227		0,313		0,347	
Validación						

Valores favorecidos de Ramachandran	97,3%		94,1%		92,5%	
Valores atípicos de Ramachandran	0,0%		0,8%		1,4%	
Valores atípicos del rotámero	0,8%		5,3%		4,4%	
Calificación de colisión	2,91 (99)		3,40 (100)		3,98 (100)	
Calificación de Molprobity	1,22 (100)		2,08 (100)		2,14 (100)	

Cada Fab se fijó fundamentalmente a la mitad del sitio del homodímero de IL-17 principalmente mediante su cadena pesada, y en menor medida mediante la cadena ligera. Las diferencias en la fijación del Fab parental humanizado y el Fab inicial humanizado parecieron ser consistentes con una mayor afinidad del Fab inicial humanizado.

En general, cada uno de los complejos de Fab IL-17/BMS inhibió la misma estructura general, en donde un Fab reconoció la mitad del sitio del homodímero de IL-17 (Figura 15). Por ello, mediante cristalografía se demostró que la estequiometria de fijación es dos (2) Fab contra un (1) homodímero de IL-17 (o dos (2) Fab contra dos (2) promotores de IL-17). La mayoría de las interacciones con la interleucina se forman con la cadena pesada con el bucle hipervariable 3 (o la región determinante de la complementariedad CDR3) que forma el centro de la interacción entre el anticuerpo y el antígeno. Además, varios residuos de la CRD2 de la cadena pesada interactúan con la interleucina. La CDR1 de la cadena pesada no pareciera interactuar considerablemente con la interleucina. Para la cadena ligera, la CDR3 participa en el reconocimiento de IL-17. La CDR1 de la cadena ligera también parece proporcionar una interacción de fijación débil de rango más largo.

Las coordenadas de la estructura de cristal se usaron para definir la interfase de contacto descrita previamente (S. Sheriff., “Some Methods for Examining the Interaction between Two Molecules,” Immunomethods, 3:191-196 (1993)), en donde una definición mínima, definida como residuos en contacto, se derivó del programa CONTACSYM (Sheriff, S., Hendrickson, W.A., and Smith, J.L. (1987). Structure of Myohemerythrin in the Azidomet State at 1.7/1.3 Å Resolution. J. Mol. Biol. 197, 273-296.). Una definición máxima de la interfase, definida como residuos enterrados al menos parcialmente por la interacción, se derivó del programa MS (Connolly, M.L. (1983). Analytical Molecular Surface Calculation. J. Appl. Crystallogr. 16, 548-558).

Tabla 36 – Residuos de interfase de contacto y enterrada de los complejos

Tipo IL17	IL17A (SEQ ID NO:2)		IL17F (SEQ ID NO:4)			
Tipo mAb	Parental humanizado	Inicial humanizado	Parental humanizado		Inicial humanizado	
Resolución	2,85 Å	3,4 Å	3,75 Å		4,2 Å	
Cadena			A	B	A	B
		Asn 75	Asn 83		Asn 83	Asn 83
	Ala 92	Ala 92	Ala 100	Ala 100	Ala 100	Ala 100
	*Lys 93	*Lys 93	*Gln 101	*Gln 101	*Gln 101	*Gln 101
	*Cys 94	*Cys 94	*Cys 102	*Cys 102	*Cys 102	*Cys 102
	*Arg 95	*Arg 95	*Arg 103	*Arg 103	*Arg 103	*Arg 103
	*His 96	*His 96	*Asn 104	*Asn 104	*Asn 104	*Asn 104
	*Leu 97	*Leu 97	*Leu 105	*Leu 105	*Leu 105	*Leu 105
	*Gly 98					Gly 106
	Asp 103					
				Lys 113	Lys 113	
	*Val 106	Val 106	*Glu 114	*Glu 114	*Glu 114	Glu 114
	Asp 107	Asp 107	Asp 115	Asp 115	Asp 115	Asp 115
	*Tyr 108	*Tyr 108	*Ile 116	*Ile 116	*Ile 116	*Ile 116
	*His 109	*His 109	Ser 117	*Ser 117	*Ser 117	*Ser 117
					Met 118	Met 118
	*Asn 111	*Asn 111	*Asn 119	*Asn 119	*Asn 119	*Asn 119
	*Ser 112	*Ser 112	*Ser 120	*Ser 120	*Ser 120	*Ser 120
	*Val 113	*Val 113	*Val 121	*Val 121	*Val 121	*Val 121
	*Pro 114	*Pro 114	Pro 122	Pro 122	*Pro 122	*Pro 122
			*Gln 124	Gln 124		*Gln 124
	Ser 141	Ser 141	Thr 149	Thr 149	Thr 149	Thr 149

	Val 147	*Val 147	Val 155	Val 155	Val 155	
		Thr 148	Thr 156	Thr 156	Thr 156	Thr 156
	*Pro 149	*Pro 149	*Pro 157	*Pro 157	*Pro 157	*Pro 157
	*Ile 150	*Ile 150	*Val 158	*Val 158		Val 158
	*Val 151	*Val 151				
	His 152	*His 152				
	His 153	His 153				

Los residuos con un asterisco (*) están en contacto en la interfase del complejo.
Los residuos que carecen de asterisco están totalmente enterrados en la interfase de contacto del complejo.

La interacción principal de Fab con IL-17A (SEQ ID NO:2) pareciera ser los residuos L97 y una porción de residuos de H109-N111 (Figura 15). I100, G98, N111, S112, V113 y P114 están conservados entre IL-17A e IL-17F (los residuos de aminoácidos I100, G98, N111, S112, V113 y P114 de SEQ ID NO:2 o IL-17A corresponden a los residuos de aminoácidos I108, G106, N119, S120, V121 y P122 de SEQ ID NO:4 o IL-17F). Por ello, después de obtener esta estructura inicial, se previó que el Fab A3052F parental humanizado se fijaría a IL-17F esencialmente de manera idéntica a la que se observó con IL-17A. Sin embargo, cerca de estos residuos hay varios residuos que difieren entre IL-17A (SEQ ID NO:2) e IL-17F (SEQ ID NO:4), tales como K93 en IL-17A (Q101 en 17F), H95 en IL-17A (N104 en 17F), Y108 en IL-17A (I116 en 17F) y H109 en IL-17A (S117 en 17F). El terminal C de IL-17A (SEQ ID NO:2) también pareciera interactuar de manera débil con Fab mediante los residuos P149 y I150, que corresponden a los residuos P157 y V158 de IL-17F (SEQ ID NO:4). Sin embargo, no se esperaría que las diferencias entre IL-17A e IL-17F alterasen en gran medida la interacción global entre el anticuerpo y el antígeno.

En comparación con la resolución 2,85 Å del Fab parental humanizado, la resolución 3,4 Å del Fab inicial humanizado exhibe interacciones muy similares entre la cadena pesada y la interleucina como se previó, con la misma secuencia para la cadena pesada. Por el contrario, las cadenas ligeras entre estos dos Fab son totalmente diferentes y, como se previó, estos residuos están coordinados en la interleucina de manera diferente. El biAb Fab tiene un residuo menos en CDR3, lo que permite que el bucle se extienda sobre la interleucina y que el oxígeno de la estructura principal de G93 (G93 de SEQ ID NO:9 o G4 de SEQ ID NO:27) de biAb Fab forme un puente de hidrógeno directo con el nitrógeno de la estructura principal de Y108 de SEQ ID NO:2 (IL-17A). El mismo átomo (oxígeno de la estructura principal de N91 de SEQ ID NO:67 en el Fab parental humanizado) estaba a 2,3 Å de distancia de la ubicación en el Fab parental y no pudo formar un puente de hidrógeno con la interleucina. Además, el cambio de WN a YG permite que Y33 de CDR1 (Y33 de SEQ ID NO:9) se acerque a la interleucina en 5,1 Å con respecto a su posición en el Fab parental de menor afinidad; esto permite obtener más interacciones de envasado con H109 de IL-17A (SEQ ID NO:2). Por último, Y96 (Y96 de SEQ ID NO:9) del biAb Fab puede formar un puente de hidrógeno con N106 (N106 de SEQ ID NO:13) de la cadena pesada, lo cual ayuda a alinearlo en un puente de hidrógeno con el oxígeno de la estructura principal de Y108 (Y108 de SEQ ID NO:2) de la interleucina (IL-17A). En general, estos cambios en la interfase de CDR3 del biAb Fab parecen concordar con su mayor afinidad y se han evaluado mediante mutagénesis dirigida al sitio, como se muestra más adelante. Desafortunadamente, no se obtuvieron estructuras de cristal para un complejo que consiste en el Fab parental de ratón con IL-17A o IL-17F. Esto sugiere que las condiciones para optimizar las interacciones de estos complejos son diferentes de las que se usan para la cristalización exitosa de los Fab iniciales y parentales humanizados.

Además de la interpretación de los contactos de residuos individuales, otra medición de las diferencias en el Fab parental humanizado en comparación con el biAb fijado a la interleucina se puede capturar calculando el área de superficie total enterrada por las regiones de interacción de los complejo IL17/Fab. Este análisis se realizó usando el algoritmo MS para los complejos IL-17A Fab, ya que fueron la más alta resolución, y deben proporcionar la comparación más confiable. Las dos estructuras con IL-17F fueron superiores a 3,5 Å y no se consideraron confiables para este análisis. El Fab parental se enterró 720 $Å^2$ en IL-17A, mientras que el biAb Fab se enterró 820 $Å^2$ (véase la Tabla 37). Esta diferencia (100 $Å^2$) en el área de superficie es respaldada por la mayor afinidad de fijación medida del Ab inicial para IL-17A. Es interesante destacar que el área de superficie debido a una conformación de la cadena lateral extendida para muchos aminoácidos es menor de 100 $Å^2$ (A, N, D, C, G, L, P, S, T, V); véase *Atlas of Protein Side-Chain Interactions V1.* Singh and Thornton 1992, 6-11). Por ende, mediante esta medición, la diferencia del epítopo de fijación en IL-17A para las estructuras iniciales v. las estructuras parentales se pueden describir como de aproximadamente un (1) equivalente de residuo.

Tabla 37 – Área de superficie

	Complejo	
	IL-17A/Parental	IL-17A/Inicial
Resolución	2,85 Å	3,4 Å
Enterrado en IL-17A	720	820
Enterrado en FAB	740	830

Predicción computacional de epítopos y diseño de mutantes múltiples de alanina

Para proporcionar una caracterización detallada de las diferentes contribuciones de los residuos del epítopo IL-17A e IL-17F a la cinética de fijación de los Fab parentales e iniciales, se seleccionaron residuos en las interfases de fijación identificadas mediante cristalografía de rayos X para las mutaciones específicas de sitio, a fin de distinguir aún más las diferencias entre la fijación del mAb parental humano y biAb.

Se usaron varios criterios para la selección de mutaciones individuales y múltiple en una sola molécula, a fin de seleccionar un conjunto de mutantes representativos e indicativos para evaluar. Las estructuras de cristal de IL-17A/Fab parental y IL-17F/Fab inicial descritos anteriormente se usaron para informar la selección de residuos que mutaban. Se seleccionaron residuos en la interfase de interacción entre el ligando y Fab, mientras se hacía hincapié en los residuos en contacto con los residuos de la cadena ligera de Fab. También se seleccionaron regiones de poca definición en la estructura de cristal para un Fab, pero no para el otro, porque esto puede sugerir que hay una diferencia en la movilidad del residuo en el complejo de parental v. biAb. Además, también se seleccionaron las posiciones de los residuos en donde difieren los residuos de IL-17 A/F homólogos porque esto puede indicar la tolerancia al cambio para la fijación de Fab o puede contribuir a las diferentes afinidades de fijación con respecto a los Fab parentales y biAb. La interfase se modeló con los mutantes propuestos para buscar diferencias energéticas en el complejo con Fab parental v. biAb. Se combinaron las agrupaciones de residuos de contacto (mutantes múltiples de alanina) para generar mutantes con cambios aditivos o sinérgicos en la afinidad de fijación. Los mutantes de cada interleucina que se generaron para los análisis experimentales se muestran en las Tablas 38 y 39.

Tabla 38: mutantes IL-17A

IL17A-WT	Residuos 24-155 de SEQ ID NO:2
IL17A-M1	N105A, Y108A, H109A
IL17A-M2	L97A, Y108A, N111A
IL17A-M3	K61A
IL17A-M4	K61A, S64A, R69A
IL17A-M5	N105A
IL17A-M6	Y108A
IL17A-M7	H109A
IL17A-M8	V106A, D107A
IL17A-M9	I150A, V151A
IL17A-M10	Y108A, H109A, V151A, H152A
IL17A-M11	Y108A, V151A
IL17A-M12	H109A, I150A, H152A

Tabla 39: mutantes IL-17F

IL17F-WT	Residuos 31-163 de SEQ ID NO:4
IL17F-M1	L105A, I116A, N119A
IL17F-M2	K113A, E114A, I116A
IL17F-M3	S69A, R72A, R77A
IL17F-M4	S69A
IL17F-M5	R72A
IL17F-M6	K113A
IL17F-M7	E114A
IL17F-M8	I116A
IL17F-M9	D115A, S117A
IL17F-M10	V158A, I159A

Clonación y expresión de mutantes de alanina de mapeo de epítopos IL-17A y F

Los constructos de mutantes de IL-17A e IL-17F se generaron mediante síntesis génica y luego se clonaron en el vector de transfección transitoria para la expresión en las células HEK293-6E. Se transfectaron cultivos de 30 ml de células HEK293-6E a razón de 1×10^6 células/ml con el complejo de plásmidos de expresión/PEI, y las células se recolectaron 120 horas después de la transfección.

Análisis de concentración Biacore de mutantes IL-17A y F

La concentración de cada mutante de alanina de IL-17A e IL-17F en los sobrenadantes de cosecha de HEK se cuantificó mediante el nivel de captura en una superficie de sensor de Fab anti-his de Biacore. Las superficies de proteína A y huIgG también se inmovilizaron como controles para evaluar la fijación no específica de los sobrenadantes (no se observó fijación no específica). La concentración en cada sobrenadante se cuantificó usando una curva estándar de IL-17A-his purificado o IL-17F-his en el rango de 80 ug/ml a 0,039 ug/ml. La curva de calibración se ajustó a una curva lineal para los datos de 0,3125 a 0,0039 ug/ml. Los sobrenadantes se corrieron a

diluciones 1:20, 1:60 y 1:180 para permitir mediciones múltiple en el rango lineal de la curva estándar.

El mutante 8 de IL-17A tenía una expresión considerablemente reducida (solo alrededor del 10 % del nivel de expresión del tipo silvestre). Los mutantes M2, M3, M7 y M9 de IL-17F tenían una expresión considerablemente reducida. El mutante M9 de IL-17F fue prácticamente indetectable, mientras que los mutantes M2 y M7 de IL-17F tuvieron menos del 5 % del nivel de expresión del tipo silvestre.

Tabla 40: Niveles de expresión de los constructos IL-17A y IL-17F en los sobrenadantes HEK

Variante de IL-17	Nivel de expresión en sobrenadantes HEK, µg/ml
IL17A-WT	7,2
IL17A-M1	6,3
IL17A-M2	13,0
IL17A-M3	15,3
IL17A-M4	18,6
IL17A-M5	10,3
IL17A-M6	11,7
IL17A-M7	12,4
IL17A-M8	0,6
IL17A-M9	13,6
IL17A-M10	14,8
IL17A-M11	13,2
IL17A-M12	12,1
IL17F-WT	13,6
IL17F-M1	16,2
IL17F-M2	0,3
IL17F-M3	1,4
IL17F-M4	12,2
IL17F-M5	6,8
IL17F-M6	7,1
IL17F-M7	0,3
IL17F-M8	10,3
IL17F-M9	<0,1
IL17F-M10	15,0

Bioensayo IL-17 (Ensayo del indicador de luciferasa NIH/3T3/KZ170 NF-κB)

Una línea celular de fibroblastos murina (NIH/3T3, ATCC# CRL-1658) se transfectó de manera estable con un indicador de luciferasa NF-κB denominado KZ170 y se clonó. Las células del clon 1 NIH/3T3/KZ170 se sembraron a razón de 10.000 células/cavidad en placas de luciferasa opaca blancas de 96 cavidades y se incubaron durante la noche a 37 ^{o}C. Al día siguiente, se realizaron diluciones en serie de IL-17A, IL-17F, mutantes de alanina IL-17A y mutantes de alanina IL-17F humanos recombinantes, usando las concentraciones determinadas mediante Biacore, en un medio de ensayo, se agregaron a las placas que contenían las células y se incubaron a 37 °C durante 4 horas. Después de la incubación, se retiró el medio, y las células se lisaron antes de ser leídas en el luminómetro de Berthold Centro XS^3 usando sustrato flash de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El aumento de la intensidad de fluorescencia media (mediante la activación del indicador de luciferasa NF-κB) fue un indicio de la interacción entre el receptor de IL-17A o IL-17A/F y el ligando. Los valores CE_{50} (concentración eficaz al 50 %) se calcularon usando el software GraphPad Prism®4 para cada mutante de alanina IL-17A e IL-17F.

Todos los mutantes de IL-17A mostraron actividad funcional celular, aunque algunos perdieron parte de la actividad con respecto al tipo silvestre (Figura 16). Todos los mutantes de IL-17F, excepto M3, mostraron actividad funcional celular, aunque 3 de los mutantes (M2, M5, M10) mostraron una actividad considerablemente reducida (Figura 17).

Análisis de fijación Biacore de mutantes de IL-17A y F para la fijación a BiAb3 y otros anticuerpos relacionados

Los anticuerpos que se usaron para el ensayo de fijación Biacore fueron biAb3 (dominio variable de la cadena pesada, como se muestra en SEQ ID NO:7 y dominio variable de la cadena ligera, como se muestra en SEQ ID NO:9) y el anticuerpo parental de ratón 339.15.5.3 (que contiene las mismas secuencias de la región variable que 339.15.3.5 y 339.15.3.6). La isotipificación realizada con el kit de isotipificación de anticuerpos monoclonales de ratón IsoStrip (Roche, Indianapolis, IN, EE. UU) demuestra que el anticuerpo 339.15.5.3 es IgG2a/kappa tal como el 339.15.3.5 que se usó para la humanización. No se determinaron diferencias de secuencias o isotipos entre 339.15.3.5 y 339.15.5.3.

La fijación de los sobrenadantes de la expresión de 30 ml de los 12 mutantes de alanina 12 IL-17A y 10 IL-17F y un sobrenadante de control de tipo silvestre para cada uno (véase la Tabla 41 y la Tabla 42) se midió mediante resonancia de plasmones superficiales (SPR, Biacore)) en un Biacore T100 en HBS-EP (10 mM de HEPES, 3 mM de EDTA, 150 mM de NaCl, 0,0 5% de Tween 20, pH 7,4) a 25 ^{o}C. Los receptores y los anticuerpos relevantes se capturaron a un nivel de alrededor de 150-250 RU mediante la proteína A inmovilizada a 3000 RU en un chip sensor CM5. Además de biAb3 y el mAb parental (339.15.3.5), se usaron otros mAb anti-IL-17 como as controles para la fijación al dominio. Asimismo, se usó el receptor comercial de IL-17A como control: hIL-17RA-Fc (de R&D Systems), aunque no se identificó un reactivo de IL-17RC adecuado para este ensayo. Los sobrenadantes se diluyeron en función de la concentración determinada de cuantificación de anti-his en HBS-EP en una concentración de 9 nM, se diluyeron en serie 1:3, se inyectaron a 30 ul/min en la superficie del receptor o el mAb durante 90 segundos y, después de un tiempo de disociación, se regeneraron con 10 mM de glicina, pH 1.5. IL-17A M2 y IL-17F M1 también se hicieron correr a una mayor concentración (en el rango de 400-500 nM en el nivel de expresión del sobrenadante), porque se observó poca o ninguna señal para la superficie capturada de biAb. La fijación a una superficie de referencia de la Proteína A sin ningún anticuerpo capturado se sustrajo de todas las curvas de fijación específicas antes del análisis. Todas las curvas de titulación se ajustaron a un modelo de fijación de Langmuir 1:1, a fin de determinar los valores Kd que se muestran en la Figura 18 y en las Tablas 41 y 42.

Los resultados de Biacore demuestran que los mutantes IL-17A M1, M2, M6, M10 y M11 indican una reducción en la afinidad de fijación para el BiAb y contienen residuos que contribuyen a las diferencias de los epítopos de fijación en comparación con el anticuerpo parental. La mayoría de estos mutantes muestran una reducción de 3-15 veces (45 veces para M1) en la fijación al IL-17RA-Fc probablemente porque se ha alterado el sitio de fijación al receptor. Sin embargo, se mantuvo una parte de la potencia celular para todos los mutantes que tuvieron un impacto en la interacción con BiAb3, lo cual sugiere que estas alteraciones en los receptores no son significativas para la función.

Los mutantes IL-17F M1, M2, M7 y M8 muestran una reducción en la afinidad de fijación para el biAb; sin embargo, estos mutantes muestran una reducción en la afinidad de fijación similar a la del anticuerpo parental, lo cual indica que el cambio de epítopo entre el parental y el biAb en IL-17A no se traduce a IL-17F. Estos cuatro mutantes mantienen la potencia en el ensayo funcional celular, de manera similar a lo que sucede con la IL-17F de tipo silvestre; sin embargo, muchos de los otros mutantes no la mantienen, lo cual limita nuestra interpretación de la mutagénesis de IL-17F.

Tabla 41: Análisis cinético Biacore de mutantes de alanina IL-17A que se fijan a anticuerpos biAb3 y parentales de ratón

	biAb3			**Parental de ratón**		
Variante	**Kd (nM)**	**Desplazamiento de Kd (de WT)**	**ΔΔG (kcal/mol)**	**Kd (nM)**	**Desplazamiento de Kd (de WT)**	**ΔΔG (kcal/mol)**
WT	0,05	ninguno	0	0,03	ninguno	0
M1	0,23	4,5	0,9	0,02	ninguno	-0,3
M2	>1 uM	>20.000	>5,9	>1 uM	>35.000	>6,2
M3	0,05	ninguno	0	0,02	ninguno	-0,4
M4	0,09	2	0,4	0,02	ninguno	-0,3
M5	0,04	ninguno	-0,2	0,01	ninguno	-0,9
M6	0,11	2,2	0,5	0,02	ninguno	-0,3
M7	0,04	ninguno	-0,2	0,01	ninguno	-0,4
M8	0,05	ninguno	0	0,03	ninguno	0,1
M9	0,04	ninguno	-0,1	0,01	ninguno	-0,4
M10	0,3	5,7	1,0	0,02	ninguno	-0,3
M11	0,11	2,2	0,5	0,01	ninguno	-0,4
M12	0,06	ninguno	0,1	0,02	ninguno	-0,3

Tabla 42: Análisis cinético Biacore de mutantes de alanina IL-17F que se fijan a anticuerpos biAb3 y parentales de ratón

	biAb3			**Parental de ratón**		
Variante	**Kd (nM)**	**Desplazamiento de Kd (de WT)**	**ΔΔG (kcal/mol)**	**Kd (nM)**	**Desplazamiento de Kd (de WT)**	**ΔΔG (kcal/mol)**
WT	0,08	ninguno	0	0,005	ninguno	0
M1	>1uM	>12,000	>5,6	>1uM	>100,000	>7,3
M2	0,7	9,0	1,3	0,01	2	0,5
M3	0,15	2,0	0,4	<0,001	ninguno	-1,3
M4	0,08	ninguno	0	<0,001	ninguno	-0,8
M5	0,11	ninguno	0,2	<0,001	ninguno	-2,1
M6	0,08	ninguno	0	<0,001	ninguno	-1,6
M7	0,55	7,0	1,2	0,03	5,9	1,1
M8	0,2	2,5	0,6	0,02	3,7	0,8

M9	NM	NM	NM	NM	NM	NM
M10	0,09	ninguno	0	<0,001	ninguno	-1,6
NM - no medido, porque el mutante no estaba expresado en niveles detectables.						

Mutagénesis in silico

Se realizaron análisis energéticos para el Fab parental IL-17A, el Fab inicial IL-17A y el Fab inicial IL-17F. Debido a que las estructuras de rayos X de los complejos eran proteínas incompleta, se usó el modelado para completar los modelos estructurales construyendo las cadenas de aminoácidos faltantes mediante protocolos estándares (asistente para la preparación de proteínas Maestro y modelado de la cadena lateral Prime). Luego se usaron los modelos estructurales para calcular las energías de interacción para la proteína de tipo silvestre (IL-17A o IL-17F) o las moléculas de IL-17 mutantes con las Fab. Las energías de interacción son una medida de la afinidad calculada de las Fab hacia la IL-17 (tratada como ligando). A fin de calcular la estabilidad y la estabilidad delta de las proteínas mutantes, se usó el software MOE (versión 2012.10, Chemical Computing Group). Se utilizó el protocolo de barrido de residuos para llevar a cabo la mutagénesis dirigida al sitio computacional para generar mutaciones y realizar los cálculos de afinidad y estabilidad.

En la Figura 19, se muestra una comparación de las energías de fijación computacionales previstas con los valores calculados de $\Delta\Delta G$ determinados de las afinidades de Biacore para los mutantes IL-17A. Los mutantes IL-17A identificados en la Figura 19 se etiquetaron de manera errónea. En la numeración de SEQ ID NO:2 de los mutantes IL-17A identificados en la Figura 19, hay uno menos de los que debería haber. Los mutantes son como se identifican en la Tabla 38. Por ejemplo, N104A, Y107A y H108A deberían ser N105A, Y108A y H109A, y sucesivamente, en la Figura. Esta comparación muestra que la tendencia en el panel de mutantes para los energéticos Biacore concuerdan con la predicción energética computacional de la interfase de fijación. El análisis de la fijación de IL-17A al anticuerpo parental de ratón no fue posible, porque dicho complejo no se cristalizó, y no se pude generar un modelo aceptable. Un intento por generar resultados para los mutantes IL-17F que se fijan a BiAb3 produjo resultados inconsistentes, probablemente debido a que las estructuras utilizadas para estos tenían una resolución deficiente y carecían de la información de residuos necesaria.

Resumen del mapeo de epítopos IL-17A&F

En la estrategia para identificar las diferencias clave entre el epítopo de BiAb3 y el ratón parental (339.15.5.3) se utilizó cristalografía de rayos X, mutagénesis dirigida al sitio, mutagénesis *in-silico* y ensayos de fijación y funcionales para analizar los mutantes. Los dos mAb difieren en su cadena ligera; por lo tanto, los residuos en contacto con la cadena ligera de cada mAb fueron el centro de este estudio.

La mutagénesis de IL-17A dio como resultado un panel de mutantes con buena expresión y potencia celular razonable. Se midió un cambio significativo en los $\Delta\Delta G$ para la fijación al biAb3 para todos los mutantes que contienen Y108A con un cambio de 0,5 kcal/mol medido para el mutante de un solo punto Y108A. No se observaron estos cambios en $\Delta\Delta G$ para la fijación al anticuerpo parental, lo que indica que el Y108 es un residuo nuevo en el epítopo de IL-17A para el biAb3, en comparación con el mAb parental de ratón. Los datos energéticos coinciden con el análisis de la interfaz de las estructuras de cristal, lo que muestra que este residuo está interactuando con la cadena ligera, que es diferente en biAb3, en comparación con el parental de ratón y que Y108A se aproxima más al biAb3 debido a diferencias en la CDR3 de la cadena ligera del biAb3 en comparación con el parental de ratón. El único mutante IL-17A que se muestra en la presente y que tiene un impacto en la fijación del anticuerpo parental de ratón es aquel que interactúa con un residuo de la cadena pesada, lo que indica que la cadena ligera no cumple una función importante en la fijación del anticuerpo parental de ratón a IL-17A.

La mutagénesis de IL-17F dio como resultado un panel de mutantes con niveles de expresión más bajos y más variables y pérdidas significativas de potencia. Las estructuras de cristal obtenidas para IL-17F también tuvieron una resolución más deficiente que las estructuras de IL-17A. Esto sugiere que IL-17F no es susceptible de aplicarse a la mutagénesis y es potencialmente más dinámica en su naturaleza. Sin embargo, los mutantes con fijación reducida al biAb3 también redujeron la fijación al mAb parental de ratón. Y todos estos mutantes con fijación al mAb reducida tuvieron una potencia razonable y niveles de expresión menores, pero suficientes, para el análisis.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Bristol-Myers Squibb Company

<120> ANTICUERPOS ESPECÍFICOS Y MÉTODOS DE USAR LOS MISMOS

<130> 11921-PCT

<160> 128

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
<211> 468
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(468)

<220>
<221> Péptido sig
<222> (1)..(69)

<400> 1

```
atg act cct ggg aag acc tca ttg gtg tca ctg cta ctg ctg ctg agc          48
Met Thr Pro Gly Lys Thr Ser Leu Val Ser Leu Leu Leu Leu Ser
1               5                  10                  15

ctg gag gcc ata gtg aag gca gga atc aca atc cca cga aat cca gga          96
Leu Glu Ala Ile Val Lys Ala Gly Ile Thr Ile Pro Arg Asn Pro Gly
            20                  25                  30

tgc cca aat tct gag gac aag aac ttc ccc cgg act gtg atg gtc aac         144
Cys Pro Asn Ser Glu Asp Lys Asn Phe Pro Arg Thr Val Met Val Asn
        35                  40                  45

ctg aac atc cat aac cgg aat acc aat acc aat ccc aaa agg tcc tca         192
Leu Asn Ile His Asn Arg Asn Thr Asn Thr Asn Pro Lys Arg Ser Ser
    50                  55                  60

gat tac tac aac cga tcc acc tca cct tgg aat ctc cac cgc aat gag         240
Asp Tyr Tyr Asn Arg Ser Thr Ser Pro Trp Asn Leu His Arg Asn Glu
65                  70                  75                  80

gac cct gag aga tat ccc tct gtg atc tgg gag gca aag tgc cgc cac         288
Asp Pro Glu Arg Tyr Pro Ser Val Ile Trp Glu Ala Lys Cys Arg His
                85                  90                  95

ttg ggc tgc atc aac gct gat ggg aac gtg gac tac cac atg aac tct         336
Leu Gly Cys Ile Asn Ala Asp Gly Asn Val Asp Tyr His Met Asn Ser
            100                 105                 110

gtc ccc atc cag caa gag atc ctg gtc ctg cgc agg gag cct cca cac         384
Val Pro Ile Gln Gln Glu Ile Leu Val Leu Arg Arg Glu Pro Pro His
        115                 120                 125

tgc ccc aac tcc ttc cgg ctg gag aag ata ctg gtg tcc gtg ggc tgc         432
Cys Pro Asn Ser Phe Arg Leu Glu Lys Ile Leu Val Ser Val Gly Cys
    130                 135                 140

acc tgt gtc acc ccg att gtc cac cat gtg gcc taa                         468
Thr Cys Val Thr Pro Ile Val His His Val Ala
145                 150                 155
```

<210> 2
<211> 155
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 2

```
Met Thr Pro Gly Lys Thr Ser Leu Val Ser Leu Leu Leu Leu Leu Ser
1               5                  10                  15

Leu Glu Ala Ile Val Lys Ala Gly Ile Thr Ile Pro Arg Asn Pro Gly
            20                  25                  30

Cys Pro Asn Ser Glu Asp Lys Asn Phe Pro Arg Thr Val Met Val Asn
        35                  40                  45

Leu Asn Ile His Asn Arg Asn Thr Asn Thr Asn Pro Lys Arg Ser Ser
    50                  55                  60

Asp Tyr Tyr Asn Arg Ser Thr Ser Pro Trp Asn Leu His Arg Asn Glu
65                  70                  75                  80

Asp Pro Glu Arg Tyr Pro Ser Val Ile Trp Glu Ala Lys Cys Arg His
                85                  90                  95

Leu Gly Cys Ile Asn Ala Asp Gly Asn Val Asp Tyr His Met Asn Ser
            100                 105                 110

Val Pro Ile Gln Gln Glu Ile Leu Val Leu Arg Arg Glu Pro Pro His
        115                 120                 125

Cys Pro Asn Ser Phe Arg Leu Glu Lys Ile Leu Val Ser Val Gly Cys
    130                 135                 140

Thr Cys Val Thr Pro Ile Val His His Val Ala
145                 150                 155
```

<210> 3
<211> 492
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(492)

<220>
<221> Péptido sig
<222> (1)..(90)

<400> 3

```
atg aca gtg aag acc ctg cat ggc cca gcc atg gtc aag tac ttg ctg          48
Met Thr Val Lys Thr Leu His Gly Pro Ala Met Val Lys Tyr Leu Leu
1               5                   10                  15

ctg tcg ata ttg ggg ctt gcc ttt ctg agt gag gcg gca gct cgg aaa          96
Leu Ser Ile Leu Gly Leu Ala Phe Leu Ser Glu Ala Ala Ala Arg Lys
            20                  25                  30

atc ccc aaa gta gga cat act ttt ttc caa aag cct gag agt tgc ccg         144
Ile Pro Lys Val Gly His Thr Phe Phe Gln Lys Pro Glu Ser Cys Pro
        35                  40                  45

cct gtg cca gga ggt agt atg aag ctt gac att ggc atc atc aat gaa         192
Pro Val Pro Gly Gly Ser Met Lys Leu Asp Ile Gly Ile Ile Asn Glu
    50                  55                  60

aac cag cgc gtt tcc atg tca cgt aac atc gag agc cgc tcc acc tcc         240
Asn Gln Arg Val Ser Met Ser Arg Asn Ile Glu Ser Arg Ser Thr Ser
65                  70                  75                  80

ccc tgg aat tac act gtc act tgg gac ccc aac cgg tac ccc tcg gaa         288
Pro Trp Asn Tyr Thr Val Thr Trp Asp Pro Asn Arg Tyr Pro Ser Glu
                85                  90                  95

gtt gta cag gcc cag tgt agg aac ttg ggc tgc atc aat gct caa gga         336
Val Val Gln Ala Gln Cys Arg Asn Leu Gly Cys Ile Asn Ala Gln Gly
            100                 105                 110

aag gaa gac atc tcc atg aat tcc gtt ccc atc cag caa gag acc ctg         384
Lys Glu Asp Ile Ser Met Asn Ser Val Pro Ile Gln Gln Glu Thr Leu
        115                 120                 125

gtc gtc cgg agg aag cac caa ggc tgc tct gtt tct ttc cag ttg gag         432
Val Val Arg Arg Lys His Gln Gly Cys Ser Val Ser Phe Gln Leu Glu
    130                 135                 140

aag gtg ctg gtg act gtt ggc tgc acc tgc gtc acc cct gtc atc cac         480
Lys Val Leu Val Thr Val Gly Cys Thr Cys Val Thr Pro Val Ile His
145                 150                 155                 160

cat gtg cag taa                                                        492
His Val Gln
```

<210> 4
<211> 163
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 4

```
Met Thr Val Lys Thr Leu His Gly Pro Ala Met Val Lys Tyr Leu Leu
1               5                   10                  15

Leu Ser Ile Leu Gly Leu Ala Phe Leu Ser Glu Ala Ala Ala Arg Lys
            20                  25                  30
```

```
Ile Pro Lys Val Gly His Thr Phe Phe Gln Lys Pro Glu Ser Cys Pro
        35                  40                  45

Pro Val Pro Gly Gly Ser Met Lys Leu Asp Ile Gly Ile Ile Asn Glu
    50                  55                  60

Asn Gln Arg Val Ser Met Ser Arg Asn Ile Glu Ser Arg Ser Thr Ser
65                  70                  75                  80

Pro Trp Asn Tyr Thr Val Thr Trp Asp Pro Asn Arg Tyr Pro Ser Glu
                85                  90                  95

Val Val Gln Ala Gln Cys Arg Asn Leu Gly Cys Ile Asn Ala Gln Gly
            100                 105                 110

Lys Glu Asp Ile Ser Met Asn Ser Val Pro Ile Gln Gln Glu Thr Leu
        115                 120                 125

Val Val Arg Arg Lys His Gln Gly Cys Ser Val Ser Phe Gln Leu Glu
    130                 135                 140

Lys Val Leu Val Thr Val Gly Cys Thr Cys Val Thr Pro Val Ile His
145                 150                 155                 160

His Val Gln
```

<210> 5
<211> 570
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(570)

<220>
<221> Péptido sig
<222> (1)..(57)

<400> 5

```
atg ctg ggg agc aga gct gta atg ctg ctg ttg ctg ctg ccc tgg aca          48
Met Leu Gly Ser Arg Ala Val Met Leu Leu Leu Leu Pro Trp Thr
1               5                   10                  15

gct cag ggc aga gct gtg cct ggg ggc agc agc cct gcc tgg act cag          96
Ala Gln Gly Arg Ala Val Pro Gly Gly Ser Ser Pro Ala Trp Thr Gln
            20                  25                  30

tgc cag cag ctt tca cag aag ctc tgc aca ctg gcc tgg agt gca cat         144
Cys Gln Gln Leu Ser Gln Lys Leu Cys Thr Leu Ala Trp Ser Ala His
        35                  40                  45
```

```
cca cta gtg gga cac atg gat cta aga gaa gag gga gat gaa gag act        192
Pro Leu Val Gly His Met Asp Leu Arg Glu Glu Gly Asp Glu Glu Thr
    50                  55                  60

aca aat gat gtt ccc cat atc cag tgt gga gat ggc tgt gac ccc caa        240
Thr Asn Asp Val Pro His Ile Gln Cys Gly Asp Gly Cys Asp Pro Gln
65                  70                  75                  80

gga ctc agg gac aac agt cag ttc tgc ttg caa agg atc cac cag ggt        288
Gly Leu Arg Asp Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile His Gln Gly
                85                  90                  95

ctg att ttt tat gag aag ctg cta gga tcg gat att ttc aca ggg gag        336
Leu Ile Phe Tyr Glu Lys Leu Leu Gly Ser Asp Ile Phe Thr Gly Glu
            100                 105                 110

cct tct ctg ctc cct gat agc cct gtg ggc cag ctt cat gcc tcc cta        384
Pro Ser Leu Leu Pro Asp Ser Pro Val Gly Gln Leu His Ala Ser Leu
        115                 120                 125

ctg ggc ctc agc caa ctc ctg cag cct gag ggt cac cac tgg gag act        432
Leu Gly Leu Ser Gln Leu Leu Gln Pro Glu Gly His His Trp Glu Thr
    130                 135                 140

cag cag att cca agc ctc agt ccc agc cag cca tgg cag cgt ctc ctt        480
Gln Gln Ile Pro Ser Leu Ser Pro Ser Gln Pro Trp Gln Arg Leu Leu
145                 150                 155                 160

ctc cgc ttc aaa atc ctt cgc agc ctc cag gcc ttt gtg gct gta gcc        528
Leu Arg Phe Lys Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Val Ala Val Ala
                165                 170                 175

gcc cgg gtc ttt gcc cat gga gca gca acc ctg agt ccc taa                570
Ala Arg Val Phe Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Ser Pro
            180                 185
```

<210> 6
<211> 189
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 6

```
Met Leu Gly Ser Arg Ala Val Met Leu Leu Leu Leu Pro Trp Thr
1               5                   10                  15

Ala Gln Gly Arg Ala Val Pro Gly Gly Ser Ser Pro Ala Trp Thr Gln
            20                  25                  30

Cys Gln Gln Leu Ser Gln Lys Leu Cys Thr Leu Ala Trp Ser Ala His
        35                  40                  45

Pro Leu Val Gly His Met Asp Leu Arg Glu Glu Gly Asp Glu Glu Thr
    50                  55                  60

Thr Asn Asp Val Pro His Ile Gln Cys Gly Asp Gly Cys Asp Pro Gln
65                  70                  75                  80
```

Gly Leu Arg Asp Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile His Gln Gly
85 90 95

Leu Ile Phe Tyr Glu Lys Leu Leu Gly Ser Asp Ile Phe Thr Gly Glu
100 105 110

Pro Ser Leu Leu Pro Asp Ser Pro Val Gly Gln Leu His Ala Ser Leu
115 120 125

Leu Gly Leu Ser Gln Leu Leu Gln Pro Glu Gly His His Trp Glu Thr
130 135 140

Gln Gln Ile Pro Ser Leu Ser Pro Ser Gln Pro Trp Gln Arg Leu Leu
145 150 155 160

Leu Arg Phe Lys Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Val Ala Val Ala
165 170 175

Ala Arg Val Phe Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Ser Pro
180 185

<210> 7
<211> 122
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(30)
<223> FR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (31)..(35)
<223> CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (36)..(49)
<223> FR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(66)
<223> CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (67)..(98)
<223> FR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (99)..(111)
<223> CDR3

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (112)..(122)
<223> FR4

<400> 7

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

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

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

Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

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

<210> 8
<211> 327
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 8

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1               5                   10                  15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60
```

```
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
        115                 120                 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
    130                 135                 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145                 150                 155                 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
                165                 170                 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
            180                 185                 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
        195                 200                 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
    210                 215                 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225                 230                 235                 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
                245                 250                 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
            260                 265                 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
        275                 280                 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
    290                 295                 300

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

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 9
<211> 107
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(23)
<223> FR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (24)..(35)
<223> CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (36)..(50)
<223> FR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(57)
<223> CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (58)..(89)
<223> FR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(97)
<223> CDR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (98)..(107)
<223> FR4

<400> 9

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

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

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

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

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

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

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

<210> 10
<211> 107
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 10

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 11
<211> 329
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 11

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

```
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225                 230                 235                 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
```

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

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

<400> 12

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 13
<211> 123
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(30)
<223> FR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (31)..(35)
<223> CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (36)..(49)
<223> FR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(66)
<223> CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (67)..(98)
<223> FR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (99)..(112)
<223> CDR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (113)..(123)
<223> FR4

<400> 13

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

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

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

Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 14
<211> 103
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(103)
<223> IgG1 CH1

<400> 14

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45
```

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
100

<210> 15
<211> 98
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(98)
<223> IgG4 CH1

<400> 15

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val

<210> 16
<211> 680
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 16

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                  10                  15

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

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

Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

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

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

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

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

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
    210                 215                 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

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

```
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
        435                 440                 445

Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
    450                 455                 460

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
465                 470                 475                 480

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr Thr Met His Trp Val
                485                 490                 495

Lys Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Asn Pro
```

```
                500                 505                 510

Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Ala Thr
        515                 520                 525

Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
    530                 535                 540

Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Asp
545                 550                 555                 560

Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
                565                 570                 575

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
            580                 585                 590

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
        595                 600                 605

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
    610                 615                 620

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
625                 630                 635                 640

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
                645                 650                 655

Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
            660                 665                 670

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
        675                 680
```

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

<400> 17

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

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

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
```

35 40 45

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 18
<211> 687
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 18

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

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

Thr Met His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met

```
        35                  40                  45

Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

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

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145                 150                 155                 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

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

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

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala
225                 230                 235                 240

Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
                245                 250                 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
            260                 265                 270

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
        275                 280                 285
```

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

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305                 310                 315                 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser
                325                 330                 335

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
            340                 345                 350

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
        355                 360                 365

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
    370                 375                 380

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385                 390                 395                 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
                405                 410                 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
            420                 425                 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
        435                 440                 445

Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val
    450                 455                 460

Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu
465                 470                 475                 480

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr Ala Met
                485                 490                 495

His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val
            500                 505                 510

Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
        515                 520                 525

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
    530                 535                 540
```

```
Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
545                 550                 555                 560

Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
                565                 570                 575

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
            580                 585                 590

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
        595                 600                 605

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
    610                 615                 620

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
625                 630                 635                 640

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
                645                 650                 655

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
            660                 665                 670

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
        675                 680                 685
```

<210> 19
<211> 5
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 19

```
Ser Tyr Ala Met His
1               5
```

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

<400> 20

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

Gly
```

<210> 21
<211> 13
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 21

Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 22
<211> 12
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 22

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 23
<211> 7
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 23

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 24
<211> 8
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 24

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Tyr Thr
1 5

<210> 25
<211> 5
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 25

Glu Tyr Thr Met His
1 5

<210> 26
<211> 17
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 26

Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 27
<211> 14
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 27

Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 28
<211> 687

<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(30)
<223> FR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (31)..(35)
<223> CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (36)..(49)
<223> FR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(66)
<223> CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (67)..(98)
<223> FR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (99)..(111)
<223> CDR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (112)..(122)
<223> FR4

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (462)..(491)
<223> FR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (492)..(496)
<223> CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (497)..(510)
<223> FR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (511)..(527)
<223> CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (528)..(559)
<223> FR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (560)..(573)

<223> CDR3
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (574)..(584)
<223> FR4

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (585)..(687)
<223> IgG1 CH1

<400> 28

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                  10                  15

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

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

Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
```

100 105 110

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

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

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

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

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

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu
225 230 235 240

Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

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

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

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
450 455 460

Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys
465 470 475 480

Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr Thr Met His
485 490 495

Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile
500 505 510

Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys
515 520 525

Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu
530 535 540

Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly
545 550 555 560

Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr Trp Gly Gln
565 570 575

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
580 585 590

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
595 600 605

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
610 615 620

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
625 630 635 640

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
645 650 655

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
660 665 670

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
675 680 685

<210> 29
<211> 679
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(30)
<223> FR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (31)..(35)
<223> CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (36)..(49)
<223> FR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(66)
<223> CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (67)..(98)
<223> FR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (99)..(112)
<223> CDR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (113)..(123)
<223> FR4

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (461)..(490)
<223> FR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (491)..(495)
<223> CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (496)..(499)
<223> FR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (510)..(526)
<223> CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (527)..(558)
<223> FR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (559)..(571)
<223> CDR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (572)..(582)
<223> FR4

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (583)..(680)
<223> IgG4 CH1

<400> 29

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

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

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

Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60

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

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

```
Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

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

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145                 150                 155                 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

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

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
    210                 215                 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

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

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

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

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

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
```

```
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445

Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
    450                 455                 460

Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
465                 470                 475                 480

Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr Ala Met His Trp Val
                485                 490                 495

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Tyr
            500                 505                 510

Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
        515                 520                 525

Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
    530                 535                 540

Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Met Gly Tyr
545                 550                 555                 560

Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
                565                 570                 575

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
            580                 585                 590
```

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
595 600 605

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
610 615 620

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
625 630 635 640

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
645 650 655

Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
660 665 670

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
675

<210> 30
<211> 66
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<400> 30

atgcggcgga gaggctggtc ctggatcttc ctgtttctgc tgagcggaac agccggcgtg 60

ctgagc 66

<210> 31
<211> 22
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 31

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

Thr Ala Gly Val Leu Ser
20

<210> 32
<211> 369
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(369)

<400> 32

gag gtc cag ctg caa cag tca gga cct gag ctg gtg aag cct ggg gct 48
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

```
1               5                   10                  15

tca gtg aag ata tcc tgt aag act tct gga tac aca ttc aat gaa tac         96
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr
            20                  25                  30

acc atg cac tgg gtg aag cag agc cat gga aag cgc ctt gag tgg att        144
Thr Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Arg Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

gga ggt att aat cct aac agt ggt ggt gtt agc tac aac cag aac ttc        192
Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

aag ggc aag gcc aca ttg act gta gac aag tcc tcc agc aca gcc tcc        240
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Ser
65                  70                  75                  80

atg gag ctc cgc agc ctg aca tct gag gat tct gca gtc ttt tac tgt        288
Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Phe Tyr Cys
                85                  90                  95

gca aga ggg gga gat ggt tac tac acc aat tac ttt gat att gac tac        336
Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

tgg ggt caa gga acc tca gtc acc gtc tcc tca                            369
Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 33
<211> 123
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 33

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr
            20                  25                  30

Thr Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Arg Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Ser
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
```

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 34
<211> 318
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(318)

<400> 34

```
caa att gtt ctc acc cag tct cca gca atc atg tct gca tct cca ggg          48
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1               5                   10                  15

gag aag gtc acc atg tcc tgc agt gcc agc tca agt gta aat tac atg          96
Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
            20                  25                  30

cac tgg ttc cag cag aag tca ggc acc tcc ccc aaa cga tgg att tat         144
His Trp Phe Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
        35                  40                  45

gac aca tcc aaa ctg gct tct gga gtc cct gct cgc ttc agt ggc agt         192
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

ggg tct ggg acc tct tac tct ctc aca atc acc gac atg gag gct gag         240
Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Thr Asp Met Glu Ala Glu
65                  70                  75                  80

gat gct gcc act tat tac tgc cag cag tgg aat agt cac cca ctc acg         288
Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
                85                  90                  95

ttc ggt gct ggg acc aag ctg gag ctg ata                                 318
Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Ile
            100                 105
```

<210> 35
<211> 106
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 35

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

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Thr Asp Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
85 90 95

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

<210> 36
<211> 369
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(369)

<400> 36

```
cag gtg cag ctg gtg cag agc gga gcc gaa gtg aag aaa cct ggc gcc          48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

agc gtg aag gtg tcc tgc aag gcc agc ggc tac acc ttc acc gag tac          96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr
            20                  25                  30

acc atg cac tgg gtg cgc cag gct cca ggc cag aga ctg gaa tgg atg         144
Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

ggc ggc atc aac ccc aat agc gga ggc gtg agc tac aac cag aac ttc         192
Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

aag ggc aga gtg acc atc acc cgg gac aca agc gcc agc acc gcc tac         240
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

atg gaa ctg agc agc ctg aga agc gag gac acc gcc gtg tac tac tgc         288
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcc aga ggc ggc gac ggc tac tac acc aac tac ttc gac atc gac tac         336
Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

tgg ggc cag ggc acc acc gtg acc gtg tcc agc                            369
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 37
<211> 123
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 37

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

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

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

Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 38
<211> 318
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(318)

<400> 38

```
gag atc gtg ctg acc cag agc ccc gac ttc cag agc gtg acc ccc aaa         48
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1               5                   10                  15

gaa aaa gtg acc atc acc tgt agc gcc agc agc agc gtg aac tac atg         96
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
            20                  25                  30

cac tgg tat cag cag aag ccc gac cag agc ccc aag ctg ctg atc aag        144
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Lys
        35                  40                  45

gac acc agc aag ctg gcc agc ggc gtg ccc agc aga ttt tct ggc agc        192
```

```
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

ggc agc ggc acc gac ttc acc ctg acc atc aac agc ctg gaa gcc gag        240
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu
65                  70                  75                  80

gac gcc gcc acc tac tac tgc cag cag tgg aac agc cac ccc ctg acc        288
Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
                85                  90                  95

ttt ggc cag ggc acc aag ctg gaa atc aag                               318
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 39
<211> 106
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 39

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1               5                   10                  15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
            20                  25                  30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Lys
        35                  40                  45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

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

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
                85                  90                  95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 40
<211> 318
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(318)

<400> 40

```
gac atc cag atg acc cag tcc ccc tcc tcc ctg tcc gcc tcc gtg ggc         48
```

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

gac aga gtg acc atc acc tgc tcc gcc tcc agc tcc gtg aac tac atg          96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
            20                  25                  30

cac tgg tat cag cag aaa cct ggc aag gtg ccc aag ctg ctg atc tac         144
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
        35                  40                  45

gac acc tcc aag ctg gcc tcc ggc gtg cct tcc cgg ttc tcc ggc tcc         192
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

ggc tct ggc acc gac ttc acc ctg acc atc tcc agc ctg cag cct gag         240
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65                  70                  75                  80

gac gtg gcc acc tac tac tgc cag cag tgg aac tcc cac cct ctg acc         288
Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
                85                  90                  95

ttc gga cag ggc acc aag ctg gag atc aaa                                 318
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 41
<211> 106
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 41

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
            20                  25                  30

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

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

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

Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
                85                  90                  95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 42
<211> 318
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(318)

<400> 42

```
gat gtt gtg atg aca cag tcc cct gcc ttc ctg tcc gtg acc cct ggc          48
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly
1               5                   10                  15

gag aag gtg acc atc acc tgc tcc gcc tcc agc tcc gtg aac tac atg          96
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
            20                  25                  30

cac tgg tat cag cag aag cct gac cag gcc cct aag ctg ctg atc aag         144
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile Lys
        35                  40                  45

gac acc tcc aag ctg gcc tcc ggc gtg cct tcc cgg ttc tcc ggc tcc         192
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

ggc tct ggc acc gac ttc acc ttc acc atc tcc agc ctg gag gcc gag         240
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu
65                  70                  75                  80

gac gcc gcc acc tac tac tgc cag cag tgg aac tcc cac cct ctg acc         288
Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
                85                  90                  95

ttc gga cag ggc acc aag ctg gag atc aaa                                 318
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 43
<211> 106
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 43

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

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
            20                  25                  30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile Lys
        35                  40                  45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60
```

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

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
                85                  90                  95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 44
<211> 318
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(318)

<400> 44

```
gag atc gtg ctg acc cag agc cct gcc acc ctg tct ctg agc cct ggc          48
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                   10                  15

gag aga gcc aca ctg agc tgc agc gcc agc agc agc gtg aac tac atg          96
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
            20                  25                  30

cac tgg tat cag cag aag ccc ggc cag gcc ccc aga ctg ctg atc tac         144
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
        35                  40                  45

gac acc agc aag ctg gcc agc ggc atc cct gcc aga ttc agc ggc agc         192
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

ggc tcc ggc acc gac ttc acc ctg acc atc agc agc ctg gaa ccc gag         240
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
65                  70                  75                  80

gac ttc gcc gtg tac tac tgc cag cag tgg aac agc cac ccc ctg acc         288
Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
                85                  90                  95

ttt ggc cag ggc acc aag ctg gaa atc aag                                 318
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 45
<211> 106
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 45

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

```
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
            20                  25                  30

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

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

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

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
                85                  90                  95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 46
<211> 318
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(318)

<400> 46

```
aac atc cag atg acc cag agc cct agc gcc atg agc gcc agc gtg ggc        48
Asn Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ala Met Ser Ala Ser Val Gly
1               5                   10                  15

gac aga gtg acc atc acc tgt agc gcc agc agc agc gtg aac tac atg        96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
            20                  25                  30

cac tgg ttc cag cag aaa ccc ggc aag gtg ccc aag cac ctg atc tac       144
His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys His Leu Ile Tyr
        35                  40                  45

gac acc agc aag ctg gcc tcc ggc gtg ccc agc aga ttt tct ggc agc       192
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

ggc agc ggc acc gag ttc acc ctg acc atc agc agc ctg cag ccc gag       240
Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65                  70                  75                  80

gac ttc gcc acc tac tac tgc cag cag tgg aac agc cac ccc ctg acc       288
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
                85                  90                  95

ttt ggc cag ggc acc aag ctg gaa atc aag                              318
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 47
<211> 106
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 47

```
Asn Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ala Met Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
            20                  25                  30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys His Leu Ile Tyr
        35                  40                  45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65                  70                  75                  80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
                85                  90                  95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 48
<211> 369
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(369)

<400> 48

```
cag gtg cag ctg gtg cag agc gga gcc gaa gtg aag aaa cct ggc gcc          48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                  10                  15

agc gtg aag gtg tcc tgc aag gcc agc ggc tac acc ttc aac gag tac          96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr
            20                  25                  30

acc atg cac tgg gtg aag cag agc cac ggc cag aga ctg gaa tgg atg         144
Thr Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

ggc ggc atc aac ccc aat agc gga ggc gtg agc tac aac cag aac ttc         192
Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60
```

```
aag ggc aga gtg acc atc acc cgg gac aca agc gcc agc acc gcc tac        240
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

atg gaa ctg agc agc ctg aga agc gag gac acc gcc gtg tac tac tgc        288
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcc aga ggc ggc gac ggc tac tac acc aac tac ttc gac atc gac tac        336
Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

tgg ggc cag ggc acc acc gtg acc gtg tcc agc                           369
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 49
<211> 123
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 49

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

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

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

Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 50
<211> 369
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(369)

<400> 50

```
cag gtg cag ctg gtg cag agc gga gcc gaa gtg aag aaa cct ggc gcc          48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

agc gtg aag gtg tcc tgc aag gcc agc ggc tac acc ttc acc gag tac          96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr
            20                  25                  30

acc atg cac tgg gtg cgc cag gct cca ggc cag aga ctg gaa tgg atg         144
Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

ggc ggc atc aac ccc aat agc gga ggc gtg agc tac aac cag aac ttc         192
Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

aag ggc aag gcc acc ctg acc gtc gac aca agc gcc agc acc gcc tac         240
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

atg gaa ctg agc agc ctg aga agc gag gac acc gcc gtg tac tac tgc         288
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcc aga ggc ggc gac ggc tac tac acc aac tac ttc gac atc gac tac         336
Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

tgg ggc cag ggc acc acc gtg acc gtg tcc agc                            369
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 51
<211> 123
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 51

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

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

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

Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
```

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

Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 52
<211> 369
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(369)

<400> 52

```
cag gtg cag ctg gtg cag agc gga gcc gaa gtg aag aaa cct ggc gcc          48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

agc gtg aag gtg tcc tgc aag gcc agc ggc tac acc ttc acc gag tac          96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr
            20                  25                  30

acc atg cac tgg gtg cgc cag gct cca ggc cag aga ctg gaa tgg atg         144
Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

ggc ggc atc aac ccc aat agc gga ggc gtg agc tac aac cag aac ttc         192
Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

aag ggc aga gtg acc atc acc cgg gac aca agc tct agc acc gcc tac         240
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

atg gaa ctg agc agc ctg aga agc gag gac acc gcc gtg ttc tac tgc         288
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Phe Tyr Cys
                85                  90                  95

gcc aga ggc ggc gac ggc tac tac acc aac tac ttc gac atc gac tac         336
Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

tgg ggc cag ggc acc acc gtg acc gtg tcc agc                             369
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 53
<211> 123
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 53

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

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

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

Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 54
<211> 369
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(369)

<400> 54

```
cag gtg cag ctg gtg cag agc gga gcc gaa gtg aag aaa cct ggc gcc          48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

agc gtg aag gtg tcc tgc aag gcc agc ggc tac acc ttc aac gag tac          96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr
            20                  25                  30

acc atg cac tgg gtg aag cag agc cac ggc cag aga ctg gaa tgg atg         144
Thr Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

ggc ggc atc aac ccc aat agc gga ggc gtg agc tac aac cag aac ttc         192
Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

aag ggc aag gcc acc ctg acc gtc gac aca agc gcc agc acc gcc tac         240
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
```

```
atg gaa ctg agc agc ctg aga agc gag gac acc gcc gtg tac tac tgc        288
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcc aga ggc ggc gac ggc tac tac acc aac tac ttc gac atc gac tac        336
Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

tgg ggc cag ggc acc acc gtg acc gtg tcc agc                            369
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 55
<211> 123
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 55

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

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

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

Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 56
<211> 369
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(369)

<400> 56

```
cag gtg cag ctg gtg cag agc gga gcc gaa gtg aag aaa cct ggc gcc          48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

agc gtg aag gtg tcc tgc aag gcc agc ggc tac acc ttc aac gag tac          96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr
            20                  25                  30

acc atg cac tgg gtg aag cag agc cac ggc cag aga ctg gaa tgg atg         144
Thr Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

ggc ggc atc aac ccc aat agc gga ggc gtg agc tac aac cag aac ttc         192
Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

aag ggc aag gcc acc ctg acc gtc gac aca agc tct agc acc gcc tac         240
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

atg gaa ctg agc agc ctg aga agc gag gac acc gcc gtg ttc tac tgc         288
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Phe Tyr Cys
                85                  90                  95

gcc aga ggc ggc gac ggc tac tac acc aac tac ttc gac atc gac tac         336
Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

tgg ggc cag ggc acc acc gtg acc gtg tcc agc                            369
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 57
<211> 123
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 57

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

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

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

Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 58
<211> 369
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(369)

<400> 58

```
cag gtg cag ctg gtg cag agc gga gcc gaa gtg aag aaa cct ggc gcc          48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

agc gtg aag gtg tcc tgc aag gcc agc ggc tac acc ttc aac gag tac          96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr
            20                  25                  30

acc atg cac tgg gtg aag cag gcc ccc ggc cag aga ctg gaa tgg atg         144
Thr Met His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

ggc ggc atc aac ccc aat agc gga ggc gtg agc tac aac cag aac ttc         192
Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

aag ggc aag gcc acc ctg acc gtc gac aca agc gcc agc acc gcc tac         240
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

atg gaa ctg agc agc ctg aga agc gag gac acc gcc gtg tac tac tgc         288
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcc aga ggc ggc gac ggc tac tac acc aac tac ttc gac atc gac tac         336
Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

tgg ggc cag ggc acc acc gtg acc gtg tcc agc                            369
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 59
<211> 123
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 59

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

```
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr
            20                  25                  30

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

Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 60
<211> 1347
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1347)

<400> 60

```
cag gtg cag ctg gtg gaa agc ggc ggc ggc gtg gtg cag ccg ggc cgc          48
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

agc ctg cgc ctg agc tgc gcg gcg agc ggc ttt agc ttt agc agc tat          96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

gcg atg cat tgg gtg cgc cag gcg ccg ggc aaa ggc ctg gaa tgg gtg         144
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

gcg gtg att agc tat ggc ggc agc aaa aaa tat tat gcg gat agc gtg         192
Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

aaa ggc cgc ttt acc att agc cgc gat aac agc aaa aac acc ctg tat         240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

ctg cag atg aac agc ctg cgc gcg gaa gat acc gcg gtg tat tat tgc         288
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
```

```
                85                  90                  95

gcg cgc atg ggc tat tat gat att ctg acc ggc ccg ttt gat tat tgg        336
Ala Arg Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

ggc cag ggc acc ctg gtg acc gtg agc agc gcc tcc act aaa gga cct        384
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

agc gtg ttt ccg cta gcc ccc tgt tca aga agc aca agc gag tca acc        432
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
    130                 135                 140

gcc gca ctg gga tgc ctg gtg aag gac tac ttc cct gag cca gtc aca        480
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

gtg tcc tgg aac tct gga gcc ctg aca tct ggc gtc cac act ttt ccc        528
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

gct gtg ctg cag agc tcc gga ctg tac agc ctg tct agt gtg gtc acc        576
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

gtg cct tca agc tcc ctg ggc act aag acc tat aca tgc aac gtg gac        624
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
        195                 200                 205

cat aaa cca tcc aat aca aag gtc gat aaa cga gtg gag tct aag tac        672
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
    210                 215                 220

gga cca cct tgc cca cca tgt cca gct cct gag ttc ctg gga gga cct        720
Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

tcc gtg ttc ctg ttt cct cca aag cca aaa gac act ctg atg atc tcc        768
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

aga act cca gag gtc acc tgc gtg gtc gtg gac gtg tct cag gag gat        816
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
            260                 265                 270

ccc gaa gtc cag ttc aac tgg tac gtg gat ggg gtc gaa gtg cac aat        864
Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

gcc aag acc aaa ccc agg gag gaa cag ttt aac agc act tac cgc gtc        912
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

gtg tcc gtc ctg acc gtg ctg cat cag gat tgg ctg aac ggg aag gag        960
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

tat aag tgc aaa gtg agt aat aag gga ctg cct tct agt atc gag aaa       1008
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
                325                 330                 335

aca att tcc aag gca aaa ggc cag cca cgg gaa ccc cag gtg tac act       1056
```

```
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

ctg ccc cct agt cag gag gaa atg acc aag aac cag gtc tca ctg aca       1104
Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

tgt ctg gtg gat ggc ttc tat ccc tca gat atc gcc gtg gag tgg gaa       1152
Cys Leu Val Asp Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

agc aat ggg cag cct gag aac aat tac gat acc aca cca ccc gtg ctg       1200
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Asp Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

gac agt gat ggg tca ttc ttt ctg tat tct gat ctg acc gtg gat aaa       1248
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Asp Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

agt aga tgg cag gaa gga aat gtc ttt tca tgc agc gtg atg cac gaa       1296
Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

gca ctg cac aat cat tac act cag aag tcc ctg tca ctg tcc ctg ggc       1344
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
        435                 440                 445

aaa                                                                  1347
Lys
```

<210> 61
<211> 449
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 61

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

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

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

Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

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

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

```
Ala Arg Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

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

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

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

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

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
    210                 215                 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350
```

```
Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Asp Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Asp Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Asp Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
        435                 440                 445

Lys
```

<210> 62
<211> 1356
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1356)

<400> 62

```
cag gtg cag ctg gtg gaa agc ggc ggc ggc gtg gtg cag ccg ggc cgc         48
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

agc ctg cgc ctg agc tgc gcg gcg agc ggc ttt agc ttt agc agc tat         96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

gcg atg cat tgg gtg cgc cag gcg ccg ggc aaa ggc ctg gaa tgg gtg        144
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

gcg gtg att agc tat ggc ggc agc aaa aaa tat tat gcg gat agc gtg        192
Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

aaa ggc cgc ttt acc att agc cgc gat aac agc aaa aac acc ctg tat        240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

ctg cag atg aac agc ctg cgc gcg gaa gat acc gcg gtg tat tat tgc        288
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
```

```
gcg cgc atg ggc tat tat gat att ctg acc ggc ccg ttt gat tat tgg        336
Ala Arg Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

ggc cag ggc acc ctg gtg acc gtg agc agc gct tct acc aag ggc ccc        384
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

agc gtg ttc ccg cta gcc ccc agc agc aag agc aca agc gga ggc aca        432
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

gcc gcc ctg ggc tgc ctg gtg aag gac tac ttc ccc gag ccc gtg aca        480
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

gtg tcc tgg aac agc gga gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttt cca        528
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

gcc gtg ctg cag agc agc ggc ctg tac agc ctg agc agc gtg gtg acc        576
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

gtg cct agc agc agc ctg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aac        624
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aag gtg gag ccc aag agc        672
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

tgc gac aag acc cac acc tgt ccc cct tgt cct gcc cct gaa gcc gaa        720
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu
225                 230                 235                 240

ggc gcc cct tcc gtg ttc ctg ttc ccc cca aag ccc aag gac acc ctg        768
Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

atg atc agc cgg acc ccc gaa gtg acc tgc gtg gtg gtg gac gtg tcc        816
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

cac gag gac cct gaa gtg aag ttc aat tgg tac gtg gac ggc gtg gag        864
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

gtg cac aac gcc aag acc aag ccc cgg gag gaa cag tac aac agc acc        912
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300

tac cgg gtg gtg tcc gtg ctg acc gtg ctg cac cag gac tgg ctg aac        960
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

ggc aaa gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aag gcc ctg ccc agc agc       1008
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser
                325                 330                 335

atc gag aaa acc atc agc aag gcc aag ggc cag ccc aga gaa ccc cag       1056
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
```

```
            340                 345                 350

gtg tac acc ctg ccc cct agc agg gac gag ctg acc aag aac cag gtg       1104
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

tcc ctg acc tgt ctg gtg gat ggc ttc tac ccc agc gat atc gcc gtg       1152
Ser Leu Thr Cys Leu Val Asp Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

gag tgg gag agc aac ggc cag ccc gaa aac aac tac gat acc acc ccc       1200
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Asp Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400

cct gtg ctg gac agc gac ggc agc ttc ttc ctg tac tcc gat ctg acc       1248
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Asp Leu Thr
                405                 410                 415

gtg gac aag agc cgg tgg cag cag ggc aac gtg ttc agc tgc agc gtg       1296
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

atg cac gag gcc ctg cac aac cac tac acc cag aag tcc ctg agc ctg       1344
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445

agc ccc ggc aag                                                      1356
Ser Pro Gly Lys
    450
```

<210> 63
<211> 452
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 63

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

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

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

Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
```

```
            100                 105                 110

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

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

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

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

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

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu
225                 230                 235                 240

Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

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

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

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350
```

```
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Asp Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Asp Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Asp Leu Thr
                405                 410                 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Pro Gly Lys
    450
```

<210> 64
<211> 1359
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1359)

<400> 64

```
cag gtg cag ctg gtg cag agc gga gcc gaa gtg aag aaa cct ggc gcc          48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

agc gtg aag gtg tcc tgc aag gcc agc ggc tac acc ttc aac gag tac          96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr
            20                  25                  30

acc atg cac tgg gtg aag cag gcc ccc ggc cag aga ctg gaa tgg atg         144
Thr Met His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

ggc ggc atc aac ccc aat agc gga ggc gtg agc tac aac cag aac ttc         192
Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

aag ggc aag gcc acc ctg acc gtc gac aca agc gcc agc acc gcc tac         240
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

atg gaa ctg agc agc ctg aga agc gag gac acc gcc gtg tac tac tgc         288
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
```

```
gcc aga ggc ggc gac ggc tac tac acc aac tac ttc gac atc gac tac        336
Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

tgg ggc cag ggc acc acc gtg acc gtg tcc agc gct tct acc aag ggc        384
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

ccc agc gtg ttc ccg cta gcc ccc agc agc aag agc aca agc gga ggc        432
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
    130                 135                 140

aca gcc gcc ctg ggc tgc ctg gtg aag gac tac ttc ccc gag ccc gtg        480
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145                 150                 155                 160

aca gtg tcc tgg aac agc gga gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttt        528
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

cca gcc gtg ctg cag agc agc ggc ctg tac agc ctg agc agc gtg gtg        576
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

acc gtg cct agc agc agc ctg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg        624
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
        195                 200                 205

aac cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aag gtg gag ccc aag        672
Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
    210                 215                 220

agc tgc gac aag acc cac acc tgt ccc cct tgt cct gcc cct gaa gcc        720
Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala
225                 230                 235                 240

gaa ggc gcc cct tcc gtg ttc ctg ttc ccc cca aag ccc aag gac acc        768
Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
                245                 250                 255

ctg atg atc agc cgg acc ccc gaa gtg acc tgc gtg gtg gtg gac gtg        816
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
            260                 265                 270

tcc cac gag gac cct gaa gtg aag ttc aat tgg tac gtg gac ggc gtg        864
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
        275                 280                 285

gag gtg cac aac gcc aag acc aag ccc cgg gag gaa cag tac aac agc        912
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
    290                 295                 300

acc tac cgg gtg gtg tcc gtg ctg acc gtg ctg cac cag gac tgg ctg        960
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305                 310                 315                 320

aac ggc aaa gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aag gcc ctg ccc agc       1008
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser
                325                 330                 335

agc atc gag aaa acc atc agc aag gcc aag ggc cag ccc aga gaa ccc       1056
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
            340                 345                 350
```

```
cag gtg tac acc ctg ccc cct agc agg gac gag ctg acc aag aac cag       1104
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
        355                 360                 365

gtg tcc ctg acc tgt ctg gtg aag ggc ttc tac ccc agc gat atc gcc       1152
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
    370                 375                 380

gtg gag tgg gag agc aac ggc cag ccc gaa aac aac tac aag acc acc       1200
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385                 390                 395                 400

ccc cct gtg ctg gac agc gac ggc agc ttc ttc ctg tac tcc aaa ctg       1248
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
                405                 410                 415

acc gtg gac aag agc cgg tgg cag cag ggc aac gtg ttc agc tgc agc       1296
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
            420                 425                 430

gtg atg cac gag gcc ctg cac aac cac tac acc cag aag tcc ctg agc       1344
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
        435                 440                 445

ctg agc ccc ggc aag                                                  1359
Leu Ser Pro Gly Lys
    450
```

<210> 65
<211> 453
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 65

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

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

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

Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110
```

```
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

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

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145                 150                 155                 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

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

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

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala
225                 230                 235                 240

Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
                245                 250                 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
            260                 265                 270

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

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

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305                 310                 315                 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser
                325                 330                 335

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
            340                 345                 350

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
```

```
                355                 360                 365

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
    370                 375                 380

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385                 390                 395                 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
                405                 410                 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
            420                 425                 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
        435                 440                 445

Leu Ser Pro Gly Lys
    450
```

<210> 66
<211> 639
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(639)

<400> 66

```
gac atc cag atg acc cag tcc ccc tcc tcc ctg tcc gcc tcc gtg ggc        48
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                   10                  15

gac aga gtg acc atc acc tgc tcc gcc tcc agc tcc gtg aac tac atg        96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
            20                  25                  30

cac tgg tat cag cag aaa cct ggc aag gtg ccc aag ctg ctg atc tac       144
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
        35                  40                  45

gac acc tcc aag ctg gcc tcc ggc gtg cct tcc cgg ttc tcc ggc tcc       192
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

ggc tct ggc acc gac ttc acc ctg acc atc tcc agc ctg cag cct gag       240
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65                  70                  75                  80

gac gtg gcc acc tac tac tgc cag cag tgg aac tcc cac cct ctg acc       288
Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
                85                  90                  95

ttc gga cag ggc acc aag ctg gag atc aaa cga act gtg gct gca cca       336
```

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

tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag cag ttg aaa tct gga act        384
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
        115                 120                 125

gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc tat ccc aga gag gcc aaa        432
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
    130                 135                 140

gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa tcg ggt aac tcc cag gag        480
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145                 150                 155                 160

agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc acc tac agc ctc agc agc        528
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
                165                 170                 175

acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag aaa cac aaa gtc tac gcc        576
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
            180                 185                 190

tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg ccc gtc aca aag agc ttc        624
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
        195                 200                 205

aac agg gga gag tgt                                                    639
Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 67
<211> 213
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 67

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
            20                  25                  30

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

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

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

Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
                85                  90                  95
```

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 68
<211> 1356
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1356)

<400> 68

```
cag gtg cag ctg gtg gaa agc ggc ggc ggc gtg gtg cag ccg ggc cgc         48
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

agc ctg cgc ctg agc tgc gcg gcg agc ggc ttt agc ttt agc agc tat         96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

gcg atg cat tgg gtg cgc cag gcg ccg ggc aaa ggc ctg gaa tgg gtg        144
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

gcg gtg att agc tat ggc ggc agc aaa aaa tat tat gcg gat agc gtg        192
Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

aaa ggc cgc ttt acc att agc cgc gat aac agc aaa aac acc ctg tat        240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
```

```
ctg cag atg aac agc ctg cgc gcg gaa gat acc gcg gtg tat tat tgc        288
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg cgc atg ggc tat tat gat att ctg acc ggc ccg ttt gat tat tgg        336
Ala Arg Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

ggc cag ggc acc ctg gtg acc gtg agc agc gct tct acc aag ggc ccc        384
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

agc gtg ttc ccg cta gcc ccc agc agc aag agc aca agc gga ggc aca        432
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

gcc gcc ctg ggc tgc ctg gtg aag gac tac ttc ccc gag ccc gtg aca        480
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

gtg tcc tgg aac agc gga gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttt cca        528
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

gcc gtg ctg cag agc agc ggc ctg tac agc ctg agc agc gtg gtg acc        576
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

gtg cct agc agc agc ctg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aac        624
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aag gtg gag ccc aag agc        672
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

tgc gac aag acc cac acc tgt ccc cct tgt cct gcc cct gaa gcc gaa        720
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu
225                 230                 235                 240

ggc gcc cct tcc gtg ttc ctg ttc ccc cca aag ccc aag gac acc ctg        768
Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

atg atc agc cgg acc ccc gaa gtg acc tgc gtg gtg gtg gac gtg tcc        816
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

cac gag gac cct gaa gtg aag ttc aat tgg tac gtg gac ggc gtg gag        864
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

gtg cac aac gcc aag acc aag ccc cgg gag gaa cag tac aac agc acc        912
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300

tac cgg gtg gtg tcc gtg ctg acc gtg ctg cac cag gac tgg ctg aac        960
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

ggc aaa gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aag gcc ctg ccc agc agc       1008
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser
                325                 330                 335
```

```
atc gag aaa acc atc agc aag gcc aag ggc cag ccc aga gaa ccc cag       1056
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

gtg tac acc ctg ccc cct agc agg gac gag ctg acc aag aac cag gtg       1104
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

tcc ctg acc tgt ctg gtg aag ggc ttc tac ccc agc gat atc gcc gtg       1152
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

gag tgg gag agc aac ggc cag ccc gaa aac aac tac aag acc acc ccc       1200
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400

cct gtg ctg gac agc gac ggc agc ttc ttc ctg tac tcc aaa ctg acc       1248
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415

gtg gac aag agc cgg tgg cag cag ggc aac gtg ttc agc tgc agc gtg       1296
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

atg cac gag gcc ctg cac aac cac tac acc cag aag tcc ctg agc ctg       1344
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445

agc ccc ggc aag                                                      1356
Ser Pro Gly Lys
    450
```

<210> 69
<211> 452
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 69

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

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

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

Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

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

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

```
Ala Arg Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

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

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

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

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

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

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu
225                 230                 235                 240

Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

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

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

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
```

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly Lys
450

<210> 70
<211> 642
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<400> 70

gaaattgtgc tgacccagag cccgggcacc ctgagcctga gcccgggcga acgcgcgacc 60

ctgagctgcc gcgcgagcca gagcgtgagc agcagctatc tggcgtggta tcagcagaaa 120

ccgggccagg cgccgcgcct gctgatttat ggcgcgagca gccgcgcgac cggcattccg 180

gatcgcttta gcggcagcgg cagcggcacc gattttaccc tgaccattag ccgcctggaa 240

ccggaagatt ttgcggtgta ttattgccag cagtatggca gcagctatac ctttggccag 300

ggcaccaaac tggaaattaa acggaccgtg gccgctccca gcgtgttcat cttcccaccc 360

agcgacgagc agctgaagtc cggtaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420

ccgcgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caactcccag 480

gaaagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540

ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgac ccaccagggc 600

ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gt 642

<210> 71
<211> 2061
<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

<400> 71

caggtgcagc tggtggaaag cggcggcggc gtggtgcagc cgggccgcag cctgcgcctg 60

agctgcgcgg cgagcggctt tagctttagc agctatgcga tgcattgggt gcgccaggcg 120

ccgggcaaag gcctggaatg ggtggcggtg attagctatg gcggcagcaa aaaatattat 180

gcggatagcg tgaaaggccg ctttaccatt agccgcgata acagcaaaaa caccctgtat 240

ctgcagatga acagcctgcg cgcggaagat accgcggtgt attattgcgc gcgcatgggc 300

tattatgata ttctgaccgg cccgtttgat tattggggcc agggcaccct ggtgaccgtg 360

agcagcgctt ctaccaaggg ccccagcgtg ttcccgctag cccccagcag caagagcaca 420

agcggaggca cagccgccct gggctgcctg gtgaaggact acttccccga gcccgtgaca 480

gtgtcctgga acagcggagc cctgaccagc ggcgtgcaca cctttccagc cgtgctgcag 540

agcagcggcc tgtacagcct gagcagcgtg gtgaccgtgc ctagcagcag cctgggcacc 600

cagacctaca tctgcaacgt gaaccacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaggtg 660

gagcccaaga gctgcgacaa gacccacacc tgtccccctt gtcctgcccc tgaagccgaa 720

ggcgcccctt ccgtgttcct gttcccccca aagcccaagg acaccctgat gatcagccgg 780

acccccgaag tgacctgcgt ggtggtggac gtgtcccacg aggaccctga agtgaagttc 840

aattggtacg tggacggcgt ggaggtgcac aacgccaaga ccaagccccg ggaggaacag 900

tacaacagca cctaccgggt ggtgtccgtg ctgaccgtgc tgcaccagga ctggctgaac 960

ggcaaagagt acaagtgcaa ggtctccaac aaggccctgc ccagcagcat cgagaaaacc 1020

atcagcaagg ccaagggcca gcccagagaa ccccaggtgt acaccctgcc ccctagcagg 1080

gacgagctga ccaagaacca ggtgtccctg acctgtctgg tgaagggctt ctaccccagc 1140

gatatcgccg tggagtggga gagcaacggc cagcccgaaa acaactacaa gaccacccca 1200

cctgtgctgg acagcgacgg cagcttcttc ctgtactcca aactgaccgt ggacaagagc 1260

cggtggcagc agggcaacgt gttcagctgc agcgtgatgc acgaggccct gcacaaccac 1320

tacacccaga agtccctgag cctgagcccc ggcggtggcg ggggttcggg tggaggaggt 1380

tctcaggtgc agctggtgca gagcggagcc gaagtgaaga aacctggcgc cagcgtgaag 1440

gtgtcctgca aggccagcgg ctacaccttc aacgagtaca ccatgcactg ggtgaagcag 1500

gcccccggcc agagactgga atggatgggc ggcatcaacc ccaatagcgg aggcgtgagc 1560

tacaaccaga acttcaaggg caaggccacc ctgaccgtcg acacaagcgc cagcaccgcc 1620

tacatggaac tgagcagcct gagaagcgag gacaccgccg tgtactactg cgccagaggc 1680

ggcgacggct actacaccaa ctacttcgac atcgactact ggggccaggg caccaccgtg 1740

accgtgtcca gcgcctctac caagggcccc agcgtgttcc ctctggcccc cagcagcaag 1800

agcacaagcg gaggcacagc cgccctgggc tgcctggtga aggactactt ccccgagccc 1860

gtgacagtgt cctggaacag cggagccctg accagcggcg tgcacacctt tccagccgtg 1920

ctgcagagca gcggcctgta cagcctgagc agcgtggtga ccgtgcctag cagcagcctg 1980

ggcacccaga cctacatctg caacgtgaac cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 2040

aaggtggagc ccaagagctg c 2061

<210> 72
<211> 2061
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<400> 72

caggtgcagc tggtgcagag cggagccgaa gtgaagaaac ctggcgccag cgtgaaggtg 60

tcctgcaagg ccagcggcta caccttcaac gagtacacca tgcactgggt gaagcaggcc 120

cccggccaga gactggaatg gatgggcggc atcaacccca atagcggagg cgtgagctac 180

aaccagaact tcaagggcaa ggccaccctg accgtcgaca caagcgccag caccgcctac 240

atggaactga gcagcctgag aagcgaggac accgccgtgt actactgcgc cagaggcggc 300

gacggctact acaccaacta cttcgacatc gactactggg gccagggcac caccgtgacc 360

gtgtccagcg cttctaccaa gggccccagc gtgttcccgc tagccccag cagcaagagc 420

acaagcggag gcacagccgc cctgggctgc ctggtgaagg actacttccc cgagcccgtg 480

acagtgtcct ggaacagcgg agccctgacc agcggcgtgc acacctttcc agccgtgctg 540

cagagcagcg gcctgtacag cctgagcagc gtggtgaccg tgcctagcag cagcctgggc 600

acccagacct acatctgcaa cgtgaaccac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaag 660

gtggagccca agagctgcga caagacccac acctgtcccc cttgtcctgc ccctgaagcc 720

gaaggcgccc cttccgtgtt cctgttcccc ccaaagccca aggacaccct gatgatcagc 780

cggacccccg aagtgacctg cgtggtggtg gacgtgtccc acgaggaccc tgaagtgaag 840

ttcaattggt acgtggacgg cgtggaggtg cacaacgcca agaccaagcc ccgggaggaa 900

cagtacaaca gcacctaccg ggtggtgtcc gtgctgaccg tgctgcacca ggactggctg 960

aacggcaaag agtacaagtg caaggtctcc aacaaggccc tgcccagcag catcgagaaa 1020

accatcagca aggccaaggg ccagcccaga gaaccccagg tgtacaccct gccccctagc 1080

agggacgagc tgaccaagaa ccaggtgtcc ctgacctgtc tggtgaaggg cttctacccc 1140

agcgatatcg ccgtggagtg ggagagcaac ggccagcccg aaaacaacta caagaccacc 1200

ccccctgtgc tggacagcga cggcagcttc ttcctgtact ccaaactgac cgtggacaag 1260

agccggtggc agcagggcaa cgtgttcagc tgcagcgtga tgcacgaggc cctgcacaac 1320

cactacaccc agaagtccct gagcctgagc cccggcggtg gcgggggttc gggtggagga 1380

ggttctcagg tgcagctggt ggaaagcggc ggcggcgtgg tgcagccggg ccgcagcctg 1440

cgcctgagct gcgcggcgag cggctttagc tttagcagct atgcgatgca ttgggtgcgc 1500

caggcgccgg gcaaaggcct ggaatgggtg gcggtgatta gctatggcgg cagcaaaaaa 1560

tattatgcgg atagcgtgaa aggccgcttt accattagcc gcgataacag caaaaacacc 1620

ctgtatctgc agatgaacag cctgcgcgcg gaagataccg cggtgtatta ttgcgcgcgc 1680

atgggctatt atgatattct gaccggcccg tttgattatt ggggccaggg caccctggtg 1740

accgtgagca gcgcctctac caagggcccc agcgtgttcc ctctggcccc cagcagcaag 1800

agcacaagcg gaggcacagc cgccctgggc tgcctggtga aggactactt ccccgagccc 1860

gtgacagtgt cctggaacag cggagccctg accagcggcg tgcacacctt tccagccgtg 1920

ctgcagagca gcggcctgta cagcctgagc agcgtggtga ccgtgcctag cagcagcctg 1980

ggcacccaga cctacatctg caacgtgaac cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 2040

aaggtggagc ccaagagctg c 2061

<210> 73
<211> 2037
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(2037)

<400> 73

```
cag gtg cag ctg gtg gaa agc ggc ggc ggc gtg gtg cag ccg ggc cgc          48
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

agc ctg cgc ctg agc tgc gcg gcg agc ggc ttt agc ttt agc agc tat          96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

gcg atg cat tgg gtg cgc cag gcg ccg ggc aaa ggc ctg gaa tgg gtg         144
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

gcg gtg att agc tat ggc ggc agc aaa aaa tat tat gcg gat agc gtg         192
Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

aaa ggc cgc ttt acc att agc cgc gat aac agc aaa aac acc ctg tat         240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

ctg cag atg aac agc ctg cgc gcg gaa gat acc gcg gtg tat tat tgc         288
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg cgc atg ggc tat tat gat att ctg acc ggc ccg ttt gat tat tgg         336
Ala Arg Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110
```

```
ggc cag ggc acc ctg gtg acc gtg agc agc gct tcc acc aag ggc cca        384
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

tcc gtc ttc ccc ctg gcg ccc tgc tcc agg agc acc tcc gag agc aca        432
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
    130                 135                 140

gcc gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg        480
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttc ccg        528
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc ctc agc agc gtg gtg acc        576
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acg aag acc tac acc tgc aac gta gat        624
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
        195                 200                 205

cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aga gtt gag tcc aaa tat        672
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
    210                 215                 220

ggt ccc cca tgc cca cca tgc cca gca cct gag ttc ctg ggg gga cca        720
Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

tca gtc ttc ctg ttc ccc cca aaa ccc aag gac act ctc atg atc tcc        768
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

cgg acc cct gag gtc acg tgc gtg gtg gtg gac gtg agc cag gaa gac        816
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
            260                 265                 270

ccc gag gtc cag ttc aac tgg tac gtg gat ggc gtg gag gtg cat aat        864
Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag ttc aac agc acg tac cgt gtg        912
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aac ggc aag gag        960
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa ggc ctc ccg tcc tcc atc gag aaa       1008
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
                325                 330                 335

acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gag cca cag gtg tac acc       1056
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

ctg ccc cca tcc cag gag gag atg acc aag aac cag gtc agc ctg acc       1104
Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
```

```
        355                 360                 365

tgc ctg gtc aaa ggc ttc tac ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag       1152
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg       1200
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc agg cta acc gtg gac aag       1248
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

agc agg tgg cag gag ggg aat gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag       1296
Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

gct ctg cac aac cac tac aca cag aag agc ctc tcc ctg tct ctg ggt       1344
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
        435                 440                 445

ggt ggc ggg ggt tcg ggt gga gga ggt tct cag gtg cag ctg gtg cag       1392
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln
    450                 455                 460

agc gga gcc gaa gtg aag aaa cct ggc gcc agc gtg aag gtg tcc tgc       1440
Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys
465                 470                 475                 480

aag gcc agc ggc tac acc ttc aac gag tac acc atg cac tgg gtg aag       1488
Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr Thr Met His Trp Val Lys
                485                 490                 495

cag gcc ccc ggc cag aga ctg gaa tgg atg ggc ggc atc aac ccc aat       1536
Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Asn Pro Asn
            500                 505                 510

agc gga ggc gtg agc tac aac cag aac ttc aag ggc aag gcc acc ctg       1584
Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu
        515                 520                 525

acc gtc gac aca agc gcc agc acc gcc tac atg gaa ctg agc agc ctg       1632
Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu
    530                 535                 540

aga agc gag gac acc gcc gtg tac tac tgc gcc aga ggc ggc gac ggc       1680
Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Asp Gly
545                 550                 555                 560

tac tac acc aac tac ttc gac atc gac tac tgg ggc cag ggc acc acc       1728
Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
                565                 570                 575

gtg acc gtg tcc agc gct tcc acc aag ggc cca tcc gtc ttc ccc ctg       1776
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
            580                 585                 590

gcg ccc tgc tcc agg agc acc tcc gag agc aca gcc gcc ctg ggc tgc       1824
Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
        595                 600                 605

ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca       1872
```

```
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
    610                 615                 620

ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc       1920
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
625                 630                 635                 640

tca gga ctc tac tcc ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc       1968
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
                645                 650                 655

ttg ggc acg aag acc tac acc tgc aac gta gat cac aag ccc agc aac       2016
Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
            660                 665                 670

acc aag gtg gac aag aga gtt                                          2037
Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
        675
```

<210> 74
<211> 679
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 74

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

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

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

Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
    130                 135                 140
```

```
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

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

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
    210                 215                 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400
```

```
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
        435                 440                 445

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln
    450                 455                 460

Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys
465                 470                 475                 480

Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr Thr Met His Trp Val Lys
                485                 490                 495

Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Asn Pro Asn
            500                 505                 510

Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu
        515                 520                 525

Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu
    530                 535                 540

Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Asp Gly
545                 550                 555                 560

Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
                565                 570                 575

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
            580                 585                 590

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
        595                 600                 605

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
    610                 615                 620

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
625                 630                 635                 640

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
                645                 650                 655
```

Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
660 665 670

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
675

<210> 75
<211> 2037
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<400> 75

caggtgcagc tggtgcagag cggagccgaa gtgaagaaac ctggcgccag cgtgaaggtg 60

tcctgcaagg ccagcggcta caccttcaac gagtacacca tgcactgggt gaagcaggcc 120

cccggccaga gactggaatg gatgggcggc atcaacccca atagcggagg cgtgagctac 180

aaccagaact tcaagggcaa ggccaccctg accgtcgaca caagcgccag caccgcctac 240

atggaactga gcagcctgag aagcgaggac accgccgtgt actactgcgc cagaggcggc 300

gacggctact acaccaacta cttcgacatc gactactggg gccagggcac caccgtgacc 360

gtgtccagcg cttccaccaa gggcccatcc gtcttccccc tggcgccctg ctccaggagc 420

acctccgaga gcacagccgc cctgggctgc ctggtcaagg actacttccc cgaaccggtg 480

acggtgtcgt ggaactcagg cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta 540

cagtcctcag gactctactc cctcagcagc gtggtgaccg tgccctccag cagcttgggc 600

acgaagacct acacctgcaa cgtagatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga 660

gttgagtcca aatatggtcc cccatgccca ccatgcccag cacctgagtt cctgggggga 720

ccatcagtct tcctgttccc cccaaaaccc aaggacactc tcatgatctc ccggacccct 780

gaggtcacgt gcgtggtggt ggacgtgagc caggaagacc ccgaggtcca gttcaactgg 840

tacgtggatg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagttcaac 900

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaacggcaag 960

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaaggc ctcccgtcct ccatcgagaa aaccatctcc 1020

aaagccaaag ggcagccccg agagccacag gtgtacaccc tgccccatc ccaggaggag 1080

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctaccc cagcgacatc 1140

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaggctaa ccgtggacaa gagcaggtgg 1260

caggagggga atgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacaca 1320

cagaagagcc tctccctgtc tctgggtggt ggcgggggtt cgggtggagg aggttctcag 1380

gtgcagctgg tggaaagcgg cggcggcgtg gtgcagccgg gccgcagcct gcgcctgagc 1440

tgcgcggcga gcggctttag ctttagcagc tatgcgatgc attgggtgcg ccaggcgccg 1500

ggcaaaggcc tggaatgggt ggcggtgatt agctatggcg gcagcaaaaa atattatgcg 1560

gatagcgtga aaggccgctt taccattagc cgcgataaca gcaaaaacac cctgtatctg 1620

cagatgaaca gcctgcgcgc ggaagatacc gcggtgtatt attgcgcgcg catgggctat 1680

tatgatattc tgaccggccc gtttgattat tggggccagg gcaccctggt gaccgtgagc 1740

agcgcttcca ccaagggccc atccgtcttc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc 1800

gagagcacag ccgccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 1860

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 1920

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacgaag 1980

acctacacct gcaacgtaga tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gagagtt 2037

<210> 76
<211> 2064
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(2064)

<400> 76

```
cag gtg cag ctg gtg gaa agc ggc ggc ggc gtg gtg cag ccg ggc cgc      48
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                  10                  15

agc ctg cgc ctg agc tgc gcg gcg agc ggc ttt agc ttt agc agc tat      96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

gcg atg cat tgg gtg cgc cag gcg ccg ggc aaa ggc ctg gaa tgg gtg     144
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

gcg gtg att agc tat ggc ggc agc aaa aaa tat tat gcg gat agc gtg     192
Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

aaa ggc cgc ttt acc att agc cgc gat aac agc aaa aac acc ctg tat     240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

ctg cag atg aac agc ctg cgc gcg gaa gat acc gcg gtg tat tat tgc     288
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg cgc atg ggc tat tat gat att ctg acc ggc ccg ttt gat tat tgg     336
Ala Arg Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

ggc cag ggc acc ctg gtg acc gtg agc agc gcc tct acc aag ggc ccc     384
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
```

```
        115                 120                 125

agc gtg ttc cct ctg gcc ccc agc agc aag agc aca agc gga ggc aca        432
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

gcc gcc ctg ggc tgc ctg gtg aag gac tac ttc ccc gag ccc gtg aca        480
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

gtg tcc tgg aac agc gga gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttt cca        528
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

gcc gtg ctg cag agc agc ggc ctg tac agc ctg agc agc gtg gtg acc        576
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

gtg cct agc agc agc ctg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aac        624
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aag gtg gag ccc aag agc        672
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

tgc ggt ggc ggg ggt tcg ggt gga gga ggt tct cag gtg cag ctg gtg        720
Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
225                 230                 235                 240

cag agc gga gcc gaa gtg aag aaa cct ggc gcc agc gtg aag gtg tcc        768
Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
                245                 250                 255

tgc aag gcc agc ggc tac acc ttc aac gag tac acc atg cac tgg gtg        816
Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr Thr Met His Trp Val
            260                 265                 270

aag cag gcc ccc ggc cag aga ctg gaa tgg atg ggc ggc atc aac ccc        864
Lys Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Asn Pro
        275                 280                 285

aat agc gga ggc gtg agc tac aac cag aac ttc aag ggc aag gcc acc        912
Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Ala Thr
    290                 295                 300

ctg acc gtc gac aca agc gcc agc acc gcc tac atg gaa ctg agc agc        960
Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
305                 310                 315                 320

ctg aga agc gag gac acc gcc gtg tac tac tgc gcc aga ggc ggc gac       1008
Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Asp
                325                 330                 335

ggc tac tac acc aac tac ttc gac atc gac tac tgg ggc cag ggc acc       1056
Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            340                 345                 350

acc gtg acc gtg tcc agc gct tct acc aag ggc ccc agc gtg ttc ccg       1104
Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
        355                 360                 365

cta gcc ccc agc agc aag agc aca agc gga ggc aca gcc gcc ctg ggc       1152
```

```
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
    370                 375                 380

tgc ctg gtg aag gac tac ttc ccc gag ccc gtg aca gtg tcc tgg aac       1200
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
385                 390                 395                 400

agc gga gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttt cca gcc gtg ctg cag       1248
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
                405                 410                 415

agc agc ggc ctg tac agc ctg agc agc gtg gtg acc gtg cct agc agc       1296
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
            420                 425                 430

agc ctg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aac cac aag ccc agc       1344
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
        435                 440                 445

aac acc aag gtg gac aag aag gtg gag ccc aag agc tgc gac aag acc       1392
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
    450                 455                 460

cac acc tgt ccc cct tgt cct gcc cct gaa gcc gaa ggc gcc cct tcc       1440
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser
465                 470                 475                 480

gtg ttc ctg ttc ccc cca aag ccc aag gac acc ctg atg atc agc cgg       1488
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
                485                 490                 495

acc ccc gaa gtg acc tgc gtg gtg gtg gac gtg tcc cac gag gac cct       1536
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
            500                 505                 510

gaa gtg aag ttc aat tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cac aac gcc       1584
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
        515                 520                 525

aag acc aag ccc cgg gag gaa cag tac aac agc acc tac cgg gtg gtg       1632
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
    530                 535                 540

tcc gtg ctg acc gtg ctg cac cag gac tgg ctg aac ggc aaa gag tac       1680
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
545                 550                 555                 560

aag tgc aag gtc tcc aac aag gcc ctg ccc agc agc atc gag aaa acc       1728
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
                565                 570                 575

atc agc aag gcc aag ggc cag ccc aga gaa ccc cag gtg tac acc ctg       1776
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
            580                 585                 590

ccc cct agc agg gac gag ctg acc aag aac cag gtg tcc ctg acc tgt       1824
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
        595                 600                 605

ctg gtg aag ggc ttc tac ccc agc gat atc gcc gtg gag tgg gag agc       1872
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
    610                 615                 620
```

```
aac ggc cag ccc gaa aac aac tac aag acc acc ccc cct gtg ctg gac       1920
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
625                 630                 635                 640

agc gac ggc agc ttc ttc ctg tac tcc aaa ctg acc gtg gac aag agc       1968
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
                645                 650                 655

cgg tgg cag cag ggc aac gtg ttc agc tgc agc gtg atg cac gag gcc       2016
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
            660                 665                 670

ctg cac aac cac tac acc cag aag tcc ctg agc ctg agc ccc ggc aag       2064
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
        675                 680                 685
```

<210> 77
<211> 688
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 77

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

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

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

Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

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

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

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160
```

```
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

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

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

Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
225                 230                 235                 240

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
                245                 250                 255

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr Thr Met His Trp Val
            260                 265                 270

Lys Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Asn Pro
        275                 280                 285

Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Ala Thr
    290                 295                 300

Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
305                 310                 315                 320

Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Asp
                325                 330                 335

Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            340                 345                 350

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
        355                 360                 365

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
    370                 375                 380

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
385                 390                 395                 400

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
                405                 410                 415
```

```
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
            420                 425                 430

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
        435                 440                 445

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
    450                 455                 460

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser
465                 470                 475                 480

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
                485                 490                 495

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
            500                 505                 510

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
        515                 520                 525

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
    530                 535                 540

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
545                 550                 555                 560

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
                565                 570                 575

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
            580                 585                 590

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
        595                 600                 605

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
    610                 615                 620

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
625                 630                 635                 640

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
                645                 650                 655

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
```

660 665 670

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
675 680 685

<210> 78
<211> 1311
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1311)

<400> 78

```
gaa att gtg ctg acc cag agc ccg ggc acc ctg agc ctg agc ccg ggc          48
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                  10                  15

gaa cgc gcg acc ctg agc tgc cgc gcg agc cag agc gtg agc agc agc          96
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
            20                  25                  30

tat ctg gcg tgg tat cag cag aaa ccg ggc cag gcg ccg cgc ctg ctg         144
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
        35                  40                  45

att tat ggc gcg agc agc cgc gcg acc ggc att ccg gat cgc ttt agc         192
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

ggc agc ggc agc ggc acc gat ttt acc ctg acc att agc cgc ctg gaa         240
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65                  70                  75                  80

ccg gaa gat ttt gcg gtg tat tat tgc cag cag tat ggc agc agc tat         288
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Tyr
                85                  90                  95

acc ttt ggc cag ggc acc aaa ctg gaa att aaa cga act gtg gct gca         336
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag cag ttg aaa tct gga         384
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc tat ccc aga gag gcc         432
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa tcg ggt aac tcc cag         480
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc acc tac agc ctc agc         528
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag aaa cac aaa gtc tac         576
```

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

gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg ccc gtc aca aag agc        624
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

ttc aac agg gga gag tgt ggt ggc ggg ggt tcg ggt gga gga ggt tct        672
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    210                 215                 220

gac atc cag atg acc cag tcc ccc tcc tcc ctg tcc gcc tcc gtg ggc        720
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
225                 230                 235                 240

gac aga gtg acc atc acc tgc tcc gcc tcc agc tcc gtg aac tac atg        768
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
                245                 250                 255

cac tgg tat cag cag aaa cct ggc aag gtg ccc aag ctg ctg atc tac        816
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
            260                 265                 270

gac acc tcc aag ctg gcc tcc ggc gtg cct tcc cgg ttc tcc ggc tcc        864
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
        275                 280                 285

ggc tct ggc acc gac ttc acc ctg acc atc tcc agc ctg cag cct gag        912
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
    290                 295                 300

gac gtg gcc acc tac tac tgc cag cag tgg aac tcc cac cct ctg acc        960
Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
305                 310                 315                 320

ttc gga cag ggc acc aag ctg gag atc aaa cgg acc gtg gcc gct ccc       1008
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
                325                 330                 335

agc gtg ttc atc ttc cca ccc agc gac gag cag ctg aag tcc ggt acc       1056
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
            340                 345                 350

gcc agc gtg gtg tgc ctg ctg aac aac ttc tac ccg cgg gag gcc aag       1104
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
        355                 360                 365

gtg cag tgg aag gtg gac aac gcc ctg cag agc ggc aac tcc cag gaa       1152
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
    370                 375                 380

agc gtc acc gag cag gac agc aag gac tcc acc tac agc ctg agc agc       1200
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
385                 390                 395                 400

acc ctg acc ctg agc aag gcc gac tac gag aag cac aag gtg tac gcc       1248
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
                405                 410                 415

tgc gaa gtg acc cac cag ggc ctg tcc agc ccc gtg acc aag agc ttc       1296
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
            420                 425                 430
```

aac cgg ggc gag tgt 1311
Asn Arg Gly Glu Cys
435

<210> 79
<211> 437
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 79

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

```
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    210                 215                 220

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
225                 230                 235                 240

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
                245                 250                 255

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
            260                 265                 270

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
        275                 280                 285

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
    290                 295                 300

Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
305                 310                 315                 320

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
                325                 330                 335

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
            340                 345                 350

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
        355                 360                 365

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
    370                 375                 380

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
385                 390                 395                 400

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
                405                 410                 415

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
            420                 425                 430

Asn Arg Gly Glu Cys
        435
```

<210> 80
<211> 1350
<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1350)

<400> 80

```
cag gtg cag ctg gtg cag agc gga gcc gaa gtg aag aaa cct ggc gcc          48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

agc gtg aag gtg tcc tgc aag gcc agc ggc tac acc ttc aac gag tac          96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr
            20                  25                  30

acc atg cac tgg gtg aag cag gcc ccc ggc cag aga ctg gaa tgg atg         144
Thr Met His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

ggc ggc atc aac ccc aat agc gga ggc gtg agc tac aac cag aac ttc         192
Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

aag ggc aag gcc acc ctg acc gtc gac aca agc gcc agc acc gcc tac         240
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

atg gaa ctg agc agc ctg aga agc gag gac acc gcc gtg tac tac tgc         288
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcc aga ggc ggc gac ggc tac tac acc aac tac ttc gac atc gac tac         336
Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

tgg ggc cag ggc acc acc gtg acc gtg tcc agc gcc tcc act aaa gga         384
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

cct agc gtg ttt ccg cta gcc ccc tgt tca aga agc aca agc gag tca         432
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
    130                 135                 140

acc gcc gca ctg gga tgc ctg gtg aag gac tac ttc cct gag cca gtc         480
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145                 150                 155                 160

aca gtg tcc tgg aac tct gga gcc ctg aca tct ggc gtc cac act ttt         528
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

ccc gct gtg ctg cag agc tcc gga ctg tac agc ctg tct agt gtg gtc         576
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

acc gtg cct tca agc tcc ctg ggc act aag acc tat aca tgc aac gtg         624
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val
        195                 200                 205

gac cat aaa cca tcc aat aca aag gtc gat aaa cga gtg gag tct aag         672
Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
```

```
    210                 215                 220

tac gga cca cct tgc cca cca tgt cca gct cct gag ttc ctg gga gga        720
Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

cct tcc gtg ttc ctg ttt cct cca aag cca aaa gac act ctg atg atc        768
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

tcc aga act cca gag gtc acc tgc gtg gtc gtg gac gtg tct cag gag        816
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
            260                 265                 270

gat ccc gaa gtc cag ttc aac tgg tac gtg gat ggg gtc gaa gtg cac        864
Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

aat gcc aag acc aaa ccc agg gag gaa cag ttt aac agc act tac cgc        912
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

gtc gtg tcc gtc ctg acc gtg ctg cat cag gat tgg ctg aac ggg aag        960
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

gag tat aag tgc aaa gtg agt aat aag gga ctg cct tct agt atc gag       1008
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
                325                 330                 335

aaa aca att tcc aag gca aaa ggc cag cca cgg gaa ccc cag gtg tac       1056
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

act ctg ccc cct agt cag aag aag atg acc aag aac cag gtc tca ctg       1104
Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Lys Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

aca tgt ctg gtg aaa ggc ttc tat ccc tca gat atc gcc gtg gag tgg       1152
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

gaa agc aat ggg cag cct gag aac aat tac aag acc aca cca ccc gtg       1200
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400

ctg aag agt gat ggg tca ttc ttt ctg tat tct cgg ctg acc gtg gat       1248
Leu Lys Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

aaa agt aga tgg cag gaa gga aat gtc ttt tca tgc agc gtg atg cac       1296
Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

gaa gca ctg cac aat cat tac act cag aag tcc ctg tca ctg tcc ctg       1344
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445

ggc aaa                                                              1350
Gly Lys
    450
```

<210> 81
<211> 450
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 81

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

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

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

Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

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

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145                 150                 155                 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

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

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
    210                 215                 220
```

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly
225 230 235 240

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

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

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

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

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Lys Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Lys Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 82
<211> 990
<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

<400> 82

gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 60

ggcacagcag ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 240

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 300

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaagc cgaggggggca 360

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 420

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 600

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccatcct ccatcgagaa aaccatctcc 660

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag 720

ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 900

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 960

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 990

<210> 83
<211> 321
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<400> 83

cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcatc ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60

ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120

tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180

agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240

aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag 300

agcttcaaca ggggagagtg t 321

<210> 84
<211> 679
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(30)
<223> FR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (31)..(35)
<223> CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (36)..(49)
<223> FR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(66)
<223> CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (67)..(98)
<223> FR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (99)..(112)
<223> CDR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (113)..(123)
<223> FR4

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (460)..(489)
<223> FR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (490)..(494)
<223> CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (495)..(498)
<223> FR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (509)..(525)
<223> CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (526)..(557)
<223> FR3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (558)..(570)
<223> CDR3

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (571)..(581)
<223> FR4

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (584)..(679)
<223> IgG4 CH1

<400> 84

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

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

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

Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

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

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145                 150                 155                 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val
```

```
        195                 200                 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
    210                 215                 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

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

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

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

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

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445
```

```
Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
    450                 455                 460

Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
465                 470                 475                 480

Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr Ala Met His Trp Val
                485                 490                 495

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Tyr
            500                 505                 510

Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
        515                 520                 525

Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
    530                 535                 540

Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Met Gly Tyr
545                 550                 555                 560

Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
                565                 570                 575

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
            580                 585                 590

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
        595                 600                 605

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
    610                 615                 620

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
625                 630                 635                 640

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
                645                 650                 655

Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
            660                 665                 670

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
        675
```

<210> 85
<211> 7
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 85

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser
1 5

<210> 86
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 86

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
1 5

<210> 87
<211> 1770
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1770)

<400> 87

```
cag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc gtg gtc cag cct ggg agg          48
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc tcc ttc agt agc tat          96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

gct atg cac tgg gtc cgc cag gct cca ggc aag ggg ctg gag tgg gtg         144
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

gca gtt ata tca tat ggt gga agc aaa aaa tac tac gca gac tcc gtg         192
Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat         240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

ctg caa atg aac agc ctg aga gct gag gac acg gct gtg tat tac tgt         288
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga atg ggg tat tac gat att ttg act ggt ccc ttt gac tac tgg         336
Ala Arg Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

ggc cag gga acc ctg gtc acc gtc tcc tca gcc tct acc aag ggc ccc         384
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

agc gtg ttc cct ctg gcc ccc agc agc aag agc aca agc gga ggc aca         432
```

```
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

gcc gcc ctg ggc tgc ctg gtg aag gac tac ttc ccc gag ccc gtg aca        480
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

gtg tcc tgg aac agc gga gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttt cca        528
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

gcc gtg ctg cag agc agc ggc ctg tac agc ctg agc agc gtg gtg acc        576
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

gtg cct agc agc agc ctg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aac        624
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aag gtg gag ccc aag agc        672
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

tgc ggt ggc ggg ggt tcg ggt gga gga ggt tct cag gtg cag ctg gtg        720
Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
225                 230                 235                 240

cag agc gga gcc gaa gtg aag aaa cct ggc gcc agc gtg aag gtg tcc        768
Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
                245                 250                 255

tgc aag gcc agc ggc tac acc ttc aac gag tac acc atg cac tgg gtg        816
Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr Thr Met His Trp Val
            260                 265                 270

aag cag gcc ccc ggc cag aga ctg gaa tgg atg ggc ggc atc aac ccc        864
Lys Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Asn Pro
        275                 280                 285

aat agc gga ggc gtg agc tac aac cag aac ttc aag ggc aag gcc acc        912
Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Ala Thr
    290                 295                 300

ctg acc gtc gac aca agc gcc agc acc gcc tac atg gaa ctg agc agc        960
Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
305                 310                 315                 320

ctg aga agc gag gac acc gcc gtg tac tac tgc gcc aga ggc ggc gac       1008
Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Asp
                325                 330                 335

ggc tac tac acc aac tac ttc gac atc gac tac tgg ggc cag ggc acc       1056
Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            340                 345                 350

acc gtg acc gtg tcc agc gag ccc aag agc agc gac aag acc cac acc       1104
Thr Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
        355                 360                 365

tgt ccc cct tgt cct gcc cct gaa gcc gaa ggc gcg cct tcc gtg ttc       1152
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe
    370                 375                 380
```

```
ctg ttc ccc cca aag ccc aag gac acc ctg atg atc agc cgg acc ccc       1200
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
385                 390                 395                 400

gaa gtg acc tgc gtg gtg gtg gac gtg tcc cac gag gac cct gaa gtg       1248
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
                405                 410                 415

aag ttc aat tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cac aac gcc aag acc       1296
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
            420                 425                 430

aag ccc cgg gag gaa cag tac aac agc acc tac cgg gtg gtg tcc gtg       1344
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
        435                 440                 445

ctg acc gtg ctg cac cag gac tgg ctg aac ggc aaa gag tac aag tgc       1392
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
    450                 455                 460

aag gtc tcc aac aag gcc ctg ccc agc agc atc gag aaa acc atc agc       1440
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
465                 470                 475                 480

aag gcc aag ggc cag ccc aga gaa ccc cag gtg tac acc ctg ccc cct       1488
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
                485                 490                 495

agc agg gac gag ctg acc aag aac cag gtg tcc ctg acc tgt ctg gtg       1536
Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
            500                 505                 510

aag ggc ttc tac ccc agc gat atc gcc gtg gag tgg gag agc aac ggc       1584
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
        515                 520                 525

cag ccc gaa aac aac tac aag acc acc ccc cct gtg ctg gac agc gac       1632
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
    530                 535                 540

ggc agc ttc ttc ctg tac tcc aaa ctg acc gtg gac aag agc cgg tgg       1680
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
545                 550                 555                 560

cag cag ggc aac gtg ttc agc tgc agc gtg atg cac gag gcc ctg cac       1728
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
                565                 570                 575

aac cac tac acc cag aag tcc ctg agc ctg agc ccc ggc aag               1770
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
            580                 585                 590
```

<210> 88
<211> 590
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 88

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15
```

```
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

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

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

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

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

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

Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
225                 230                 235                 240

Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser
                245                 250                 255

Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr Thr Met His Trp Val
            260                 265                 270
```

```
Lys Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Asn Pro
        275                 280                 285

Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Ala Thr
    290                 295                 300

Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser
305                 310                 315                 320

Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Asp
                325                 330                 335

Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            340                 345                 350

Thr Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
        355                 360                 365

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe
    370                 375                 380

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
385                 390                 395                 400

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
                405                 410                 415

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
            420                 425                 430

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
        435                 440                 445

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
    450                 455                 460

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
465                 470                 475                 480

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
                485                 490                 495

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
            500                 505                 510

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
```

```
                515                 520                 525

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
    530                 535                 540

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
545                 550                 555                 560

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
                565                 570                 575

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
            580                 585                 590
```

<210> 89
<211> 990
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(990)

<400> 89

```
gaa att gtg ttg acg cag tct cca ggc acc ctg tct ttg tct cca ggg        48
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                   10                  15

gaa aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag agt gtt agc agc agc        96
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
            20                  25                  30

tac tta gcc tgg tat cag cag aaa cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc       144
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
        35                  40                  45

atc tat ggt gca tcc agc agg gcc act ggc atc cca gac agg ttc agt       192
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

ggc agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc aga ctg gag       240
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65                  70                  75                  80

cct gaa gat ttt gca gtg tat tac tgt cag cag tat ggt agc tca tac       288
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Tyr
                85                  90                  95

act ttt ggc cag ggg acc aag ctg gag atc aaa cgg acc gtg gcc gct       336
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

ccc agc gtg ttc atc ttc cca ccc agc gac gag cag ctg aag tcc ggt       384
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

acc gcc agc gtg gtg tgc ctg ctg aac aac ttc tac ccg cgg gag gcc       432
```

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

aag gtg cag tgg aag gtg gac aac gcc ctg cag agc ggc aac tcc cag        480
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

gaa agc gtc acc gag cag gac agc aag gac tcc acc tac agc ctg agc        528
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

agc acc ctg acc ctg agc aag gcc gac tac gag aag cac aag gtg tac        576
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

gcc tgc gaa gtg acc cac cag ggc ctg tcc agc ccc gtg acc aag agc        624
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

ttc aac cgg ggc gag tgt ggt ggc ggg ggt tcg ggt gga gga ggt tct        672
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    210                 215                 220

gac atc cag atg acc cag tcc ccc tcc tcc ctg tcc gcc tcc gtg ggc        720
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
225                 230                 235                 240

gac aga gtg acc atc acc tgc tcc gcc tcc agc tcc gtg aac tac atg        768
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
                245                 250                 255

cac tgg tat cag cag aaa cct ggc aag gtg ccc aag ctg ctg atc tac        816
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
            260                 265                 270

gac acc tcc aag ctg gcc tcc ggc gtg cct tcc cgg ttc tcc ggc tcc        864
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
        275                 280                 285

ggc tct ggc acc gac ttc acc ctg acc atc tcc agc ctg cag cct gag        912
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
    290                 295                 300

gac gtg gcc acc tac tac tgc cag cag tgg aac tcc cac cct ctg acc        960
Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
305                 310                 315                 320

ttc gga cag ggc acc aag ctg gag atc aaa                                990
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
                325                 330
```

<210> 90
<211> 330
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 90

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

```
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
            20                  25                  30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    210                 215                 220

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
225                 230                 235                 240

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
                245                 250                 255

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
            260                 265                 270
```

```
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
        275                 280                 285

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
    290                 295                 300

Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
305                 310                 315                 320

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
                325                 330
```

<210> 91
<211> 1770
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1770)

<400> 91

```
cag gtg cag ctg gtg cag agc gga gcc gaa gtg aag aaa cct ggc gcc          48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

agc gtg aag gtg tcc tgc aag gcc agc ggc tac acc ttc aac gag tac          96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr
            20                  25                  30

acc atg cac tgg gtg aag cag gcc ccc ggc cag aga ctg gaa tgg atg         144
Thr Met His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

ggc ggc atc aac ccc aat agc gga ggc gtg agc tac aac cag aac ttc         192
Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

aag ggc aag gcc acc ctg acc gtc gac aca agc gcc agc acc gcc tac         240
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

atg gaa ctg agc agc ctg aga agc gag gac acc gcc gtg tac tac tgc         288
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcc aga ggc ggc gac ggc tac tac acc aac tac ttc gac atc gac tac         336
Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

tgg ggc cag ggc acc acc gtg acc gtg tcc agc gcc tct acc aag ggc         384
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

ccc agc gtg ttc cct ctg gcc ccc agc agc aag agc aca agc gga ggc         432
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
    130                 135                 140
```

```
aca gcc gcc ctg ggc tgc ctg gtg aag gac tac ttc ccc gag ccc gtg        480
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145                 150                 155                 160

aca gtg tcc tgg aac agc gga gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttt        528
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

cca gcc gtg ctg cag agc agc ggc ctg tac agc ctg agc agc gtg gtg        576
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

acc gtg cct agc agc agc ctg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg        624
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
        195                 200                 205

aac cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aag gtg gag ccc aag        672
Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
    210                 215                 220

agc tgc ggt ggc ggg ggt tcg ggt gga gga ggt tct cag gtg cag ctg        720
Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu
225                 230                 235                 240

gtg gag tct ggg gga ggc gtg gtc cag cct ggg agg tcc ctg aga ctc        768
Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu
                245                 250                 255

tcc tgt gca gcc tct gga ttc tcc ttc agt agc tat gct atg cac tgg        816
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr Ala Met His Trp
            260                 265                 270

gtc cgc cag gct cca ggc aag ggg ctg gag tgg gtg gca gtt ata tca        864
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Ser
        275                 280                 285

tat ggt gga agc aaa aaa tac tac gca gac tcc gtg aag ggc cga ttc        912
Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
    290                 295                 300

acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat ctg caa atg aac        960
Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
305                 310                 315                 320

agc ctg aga gct gag gac acg gct gtg tat tac tgt gcg aga atg ggg       1008
Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Met Gly
                325                 330                 335

tat tac gat att ttg act ggt ccc ttt gac tac tgg ggc cag gga acc       1056
Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            340                 345                 350

ctg gtc acc gtc tcc tca gag ccc aag agc agc gac aag acc cac acc       1104
Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
        355                 360                 365

tgt ccc cct tgt cct gcc cct gaa gcc gaa ggc gcg cct tcc gtg ttc       1152
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe
    370                 375                 380

ctg ttc ccc cca aag ccc aag gac acc ctg atg atc agc cgg acc ccc       1200
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
```

```
385                 390                 395                 400

gaa gtg acc tgc gtg gtg gtg gac gtg tcc cac gag gac cct gaa gtg       1248
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
                405                 410                 415

aag ttc aat tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cac aac gcc aag acc       1296
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
            420                 425                 430

aag ccc cgg gag gaa cag tac aac agc acc tac cgg gtg gtg tcc gtg       1344
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
        435                 440                 445

ctg acc gtg ctg cac cag gac tgg ctg aac ggc aaa gag tac aag tgc       1392
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
    450                 455                 460

aag gtc tcc aac aag gcc ctg ccc agc agc atc gag aaa acc atc agc       1440
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
465                 470                 475                 480

aag gcc aag ggc cag ccc aga gaa ccc cag gtg tac acc ctg ccc cct       1488
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
                485                 490                 495

agc agg gac gag ctg acc aag aac cag gtg tcc ctg acc tgt ctg gtg       1536
Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
            500                 505                 510

aag ggc ttc tac ccc agc gat atc gcc gtg gag tgg gag agc aac ggc       1584
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
        515                 520                 525

cag ccc gaa aac aac tac aag acc acc ccc cct gtg ctg gac agc gac       1632
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
    530                 535                 540

ggc agc ttc ttc ctg tac tcc aaa ctg acc gtg gac aag agc cgg tgg       1680
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
545                 550                 555                 560

cag cag ggc aac gtg ttc agc tgc agc gtg atg cac gag gcc ctg cac       1728
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
                565                 570                 575

aac cac tac acc cag aag tcc ctg agc ctg agc ccc ggc aag               1770
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
            580                 585                 590
```

<210> 92
<211> 590
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 92

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr
```

```
            20                  25                  30

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

Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

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

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145                 150                 155                 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

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

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

Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu
225                 230                 235                 240

Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu
                245                 250                 255

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr Ala Met His Trp
            260                 265                 270
```

```
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Ser
        275                 280                 285

Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
    290                 295                 300

Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
305                 310                 315                 320

Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Met Gly
                325                 330                 335

Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            340                 345                 350

Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
        355                 360                 365

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe
    370                 375                 380

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
385                 390                 395                 400

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
                405                 410                 415

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
            420                 425                 430

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
        435                 440                 445

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
    450                 455                 460

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
465                 470                 475                 480

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
                485                 490                 495

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
            500                 505                 510

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
        515                 520                 525
```

```
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
    530                 535                 540

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
545                 550                 555                 560

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
                565                 570                 575

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
            580                 585                 590
```

<210> 93
<211> 990
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(990)

<400> 93

```
gac atc cag atg acc cag tcc ccc tcc tcc ctg tcc gcc tcc gtg ggc        48
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                   10                  15

gac aga gtg acc atc acc tgc tcc gcc tcc agc tcc gtg aac tac atg        96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
            20                  25                  30

cac tgg tat cag cag aaa cct ggc aag gtg ccc aag ctg ctg atc tac       144
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
        35                  40                  45

gac acc tcc aag ctg gcc tcc ggc gtg cct tcc cgg ttc tcc ggc tcc       192
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

ggc tct ggc acc gac ttc acc ctg acc atc tcc agc ctg cag cct gag       240
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65                  70                  75                  80

gac gtg gcc acc tac tac tgc cag cag tgg aac tcc cac cct ctg acc       288
Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
                85                  90                  95

ttc gga cag ggc acc aag ctg gag atc aaa cgg acc gtg gcc gct ccc       336
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
            100                 105                 110

agc gtg ttc atc ttc cca ccc agc gac gag cag ctg aag tcc ggt acc       384
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
        115                 120                 125

gcc agc gtg gtg tgc ctg ctg aac aac ttc tac ccg cgg gag gcc aag       432
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
    130                 135                 140
```

```
gtg cag tgg aag gtg gac aac gcc ctg cag agc ggc aac tcc cag gaa        480
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145                 150                 155                 160

agc gtc acc gag cag gac agc aag gac tcc acc tac agc ctg agc agc        528
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
                165                 170                 175

acc ctg acc ctg agc aag gcc gac tac gag aag cac aag gtg tac gcc        576
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
            180                 185                 190

tgc gaa gtg acc cac cag ggc ctg tcc agc ccc gtg acc aag agc ttc        624
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
        195                 200                 205

aac cgg ggc gag tgt ggt ggc ggg ggt tcg ggt gga gga ggt tct gaa        672
Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
    210                 215                 220

att gtg ttg acg cag tct cca ggc acc ctg tct ttg tct cca ggg gaa        720
Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu
225                 230                 235                 240

aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag agt gtt agc agc agc tac        768
Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr
                245                 250                 255

tta gcc tgg tat cag cag aaa cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc atc        816
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
            260                 265                 270

tat ggt gca tcc agc agg gcc act ggc atc cca gac agg ttc agt ggc        864
Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
        275                 280                 285

agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc aga ctg gag cct        912
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
    290                 295                 300

gaa gat ttt gca gtg tat tac tgt cag cag tat ggt agc tca tac act        960
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Tyr Thr
305                 310                 315                 320

ttt ggc cag ggg acc aag ctg gag atc aaa                                990
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
                325                 330
```

<210> 94
<211> 330
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 94

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
            20                  25                  30
```

```
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
        35                  40                  45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

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

Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
                85                  90                  95

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
    210                 215                 220

Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu
225                 230                 235                 240

Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr
                245                 250                 255

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
            260                 265                 270

Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
```

```
                275                 280                 285

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
    290                 295                 300

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
                325                 330
```

<210> 95
<211> 1746
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1746)

<400> 95

```
cag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc gtg gtc cag cct ggg agg        48
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc tcc ttc agt agc tat        96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

gct atg cac tgg gtc cgc cag gct cca ggc aag ggg ctg gag tgg gtg       144
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

gca gtt ata tca tat ggt gga agc aaa aaa tac tac gca gac tcc gtg       192
Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat       240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

ctg caa atg aac agc ctg aga gct gag gac acg gct gtg tat tac tgt       288
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga atg ggg tat tac gat att ttg act ggt ccc ttt gac tac tgg       336
Ala Arg Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

ggc cag gga acc ctg gtc acc gtc tcc tca gcc tcc act aaa gga cct       384
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

agc gtg ttt ccg cta gcc ccc tgt tca aga agc aca agc gag tca acc       432
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
    130                 135                 140

gcc gca ctg gga tgc ctg gtg aag gac tac ttc cct gag cca gtc aca       480
```

```
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

gtg tcc tgg aac tct gga gcc ctg aca tct ggc gtc cac act ttt ccc        528
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

gct gtg ctg cag agc tcc gga ctg tac agc ctg tct agt gtg gtc acc        576
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

gtg cct tca agc tcc ctg ggc act aag acc tat aca tgc aac gtg gac        624
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
        195                 200                 205

cat aaa cca tcc aat aca aag gtc gat aaa cga gtg ggt ggc ggg ggt        672
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Gly Gly Gly Gly
    210                 215                 220

tcg ggt gga gga ggt tct cag gtg cag ctg gtg cag agc gga gcc gaa        720
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
225                 230                 235                 240

gtg aag aaa cct ggc gcc agc gtg aag gtg tcc tgc aag gcc agc ggc        768
Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
                245                 250                 255

tac acc ttc aac gag tac acc atg cac tgg gtg aag cag gcc ccc ggc        816
Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr Thr Met His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly
            260                 265                 270

cag aga ctg gaa tgg atg ggc ggc atc aac ccc aat agc gga ggc gtg        864
Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val
        275                 280                 285

agc tac aac cag aac ttc aag ggc aag gcc acc ctg acc gtc gac aca        912
Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr
    290                 295                 300

agc gcc agc acc gcc tac atg gaa ctg agc agc ctg aga agc gag gac        960
Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
305                 310                 315                 320

acc gcc gtg tac tac tgc gcc aga ggc ggc gac ggc tac tac acc aac       1008
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn
                325                 330                 335

tac ttc gac atc gac tac tgg ggc cag ggc acc acc gtg acc gtg tcc       1056
Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
            340                 345                 350

agc gag tct aag tac gga cca cct tgc cca cca tgt cca gct cct gag       1104
Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
        355                 360                 365

ttc ctg gga gga cct tcc gtg ttc ctg ttt cct cca aag cca aaa gac       1152
Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
    370                 375                 380

act ctg atg atc tcc aga act cca gag gtc acc tgc gtg gtc gtg gac       1200
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
385                 390                 395                 400
```

```
gtg tct cag gag gat ccc gaa gtc cag ttc aac tgg tac gtg gat ggg       1248
Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
                405                 410                 415

gtc gaa gtg cac aat gcc aag acc aaa ccc agg gag gaa cag ttt aac       1296
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
            420                 425                 430

agc act tac cgc gtc gtg tcc gtc ctg acc gtg ctg cat cag gat tgg       1344
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
        435                 440                 445

ctg aac ggg aag gag tat aag tgc aaa gtg agt aat aag gga ctg cct       1392
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
    450                 455                 460

tct agt atc gag aaa aca att tcc aag gca aaa ggc cag cca cgg gaa       1440
Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
465                 470                 475                 480

ccc cag gtg tac act ctg ccc cct agt cag gag gaa atg acc aag aac       1488
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn
                485                 490                 495

cag gtc tca ctg aca tgt ctg gtg aaa ggc ttc tat ccc tca gat atc       1536
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
            500                 505                 510

gcc gtg gag tgg gaa agc aat ggg cag cct gag aac aat tac aag acc       1584
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
        515                 520                 525

aca cca ccc gtg ctg gac agt gat ggg tca ttc ttt ctg tat tct cgg       1632
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg
    530                 535                 540

ctg acc gtg gat aaa agt aga tgg cag gaa gga aat gtc ttt tca tgc       1680
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys
545                 550                 555                 560

agc gtg atg cac gaa gca ctg cac aat cat tac act cag aag tcc ctg       1728
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
                565                 570                 575

tca ctg tcc ctg ggc aaa                                              1746
Ser Leu Ser Leu Gly Lys
            580
```

<210> 96
<211> 582
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 96

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
```

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

Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

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

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

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

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

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Gly Gly Gly Gly
    210                 215                 220

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
225                 230                 235                 240

Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
                245                 250                 255

Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr Thr Met His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly
            260                 265                 270

Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val
        275                 280                 285
```

```
Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr
    290                 295                 300

Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
305                 310                 315                 320

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn
                325                 330                 335

Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
            340                 345                 350

Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
        355                 360                 365

Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
    370                 375                 380

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
385                 390                 395                 400

Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
                405                 410                 415

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
            420                 425                 430

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
        435                 440                 445

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
    450                 455                 460

Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
465                 470                 475                 480

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn
                485                 490                 495

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
            500                 505                 510

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
        515                 520                 525

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg
```

```
            530                 535                 540

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys
545                 550                 555                 560

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
                565                 570                 575

Ser Leu Ser Leu Gly Lys
            580
```

<210> 97
<211> 1746
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1746)

<400> 97

```
cag gtg cag ctg gtg cag agc gga gcc gaa gtg aag aaa cct ggc gcc        48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

agc gtg aag gtg tcc tgc aag gcc agc ggc tac acc ttc aac gag tac        96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr
            20                  25                  30

acc atg cac tgg gtg aag cag gcc ccc ggc cag aga ctg gaa tgg atg       144
Thr Met His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

ggc ggc atc aac ccc aat agc gga ggc gtg agc tac aac cag aac ttc       192
Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

aag ggc aag gcc acc ctg acc gtc gac aca agc gcc agc acc gcc tac       240
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

atg gaa ctg agc agc ctg aga agc gag gac acc gcc gtg tac tac tgc       288
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcc aga ggc ggc gac ggc tac tac acc aac tac ttc gac atc gac tac       336
Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

tgg ggc cag ggc acc acc gtg acc gtg tcc agc gcc tcc act aaa gga       384
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

cct agc gtg ttt ccg cta gcc ccc tgt tca aga agc aca agc gag tca       432
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
    130                 135                 140

acc gcc gca ctg gga tgc ctg gtg aag gac tac ttc cct gag cca gtc       480
```

```
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145                 150                 155                 160

aca gtg tcc tgg aac tct gga gcc ctg aca tct ggc gtc cac act ttt        528
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

ccc gct gtg ctg cag agc tcc gga ctg tac agc ctg tct agt gtg gtc        576
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

acc gtg cct tca agc tcc ctg ggc act aag acc tat aca tgc aac gtg        624
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val
        195                 200                 205

gac cat aaa cca tcc aat aca aag gtc gat aaa cga gtg ggt ggc ggg        672
Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Gly Gly Gly
    210                 215                 220

ggt tcg ggt gga gga ggt tct cag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga        720
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

ggc gtg gtc cag cct ggg agg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct        768
Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
                245                 250                 255

gga ttc tcc ttc agt agc tat gct atg cac tgg gtc cgc cag gct cca        816
Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro
            260                 265                 270

ggc aag ggg ctg gag tgg gtg gca gtt ata tca tat ggt gga agc aaa        864
Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys
        275                 280                 285

aaa tac tac gca gac tcc gtg aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac        912
Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
    290                 295                 300

aat tcc aag aac acg ctg tat ctg caa atg aac agc ctg aga gct gag        960
Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu
305                 310                 315                 320

gac acg gct gtg tat tac tgt gcg aga atg ggg tat tac gat att ttg       1008
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu
                325                 330                 335

act ggt ccc ttt gac tac tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc gtc tcc       1056
Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
            340                 345                 350

tca gag tct aag tac gga cca cct tgc cca cca tgt cca gct cct gag       1104
Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
        355                 360                 365

ttc ctg gga gga cct tcc gtg ttc ctg ttt cct cca aag cca aaa gac       1152
Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
    370                 375                 380

act ctg atg atc tcc aga act cca gag gtc acc tgc gtg gtc gtg gac       1200
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
385                 390                 395                 400
```

```
gtg tct cag gag gat ccc gaa gtc cag ttc aac tgg tac gtg gat ggg       1248
Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
                405                 410                 415

gtc gaa gtg cac aat gcc aag acc aaa ccc agg gag gaa cag ttt aac       1296
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
            420                 425                 430

agc act tac cgc gtc gtg tcc gtc ctg acc gtg ctg cat cag gat tgg       1344
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
        435                 440                 445

ctg aac ggg aag gag tat aag tgc aaa gtg agt aat aag gga ctg cct       1392
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
    450                 455                 460

tct agt atc gag aaa aca att tcc aag gca aaa ggc cag cca cgg gaa       1440
Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
465                 470                 475                 480

ccc cag gtg tac act ctg ccc cct agt cag gag gaa atg acc aag aac       1488
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn
                485                 490                 495

cag gtc tca ctg aca tgt ctg gtg aaa ggc ttc tat ccc tca gat atc       1536
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
            500                 505                 510

gcc gtg gag tgg gaa agc aat ggg cag cct gag aac aat tac aag acc       1584
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
        515                 520                 525

aca cca ccc gtg ctg gac agt gat ggg tca ttc ttt ctg tat tct cgg       1632
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg
    530                 535                 540

ctg acc gtg gat aaa agt aga tgg cag gaa gga aat gtc ttt tca tgc       1680
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys
545                 550                 555                 560

agc gtg atg cac gaa gca ctg cac aat cat tac act cag aag tcc ctg       1728
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
                565                 570                 575

tca ctg tcc ctg ggc aaa                                              1746
Ser Leu Ser Leu Gly Lys
            580
```

<210> 98
<211> 582
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 98

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr
            20                  25                  30
```

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

Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

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

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145                 150                 155                 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

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

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Gly Gly Gly
    210                 215                 220

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
                245                 250                 255

Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro
            260                 265                 270

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys
        275                 280                 285
```

```
Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
    290                 295                 300

Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu
305                 310                 315                 320

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu
                325                 330                 335

Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
            340                 345                 350

Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
        355                 360                 365

Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
    370                 375                 380

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
385                 390                 395                 400

Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
                405                 410                 415

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
            420                 425                 430

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
        435                 440                 445

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
    450                 455                 460

Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
465                 470                 475                 480

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn
                485                 490                 495

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
            500                 505                 510

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
        515                 520                 525

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg
```

```
          530                 535                 540

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys
545                 550                 555                 560

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
                565                 570                 575

Ser Leu Ser Leu Gly Lys
            580
```

<210> 99
<211> 1767
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1767)

<400> 99

```
cag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc gtg gtc cag cct ggg agg        48
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc tcc ttc agt agc tat        96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

gct atg cac tgg gtc cgc cag gct cca ggc aag ggg ctg gag tgg gtg       144
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

gca gtt ata tca tat ggt gga agc aaa aaa tac tac gca gac tcc gtg       192
Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat       240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

ctg caa atg aac agc ctg aga gct gag gac acg gct gtg tat tac tgt       288
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga atg ggg tat tac gat att ttg act ggt ccc ttt gac tac tgg       336
Ala Arg Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

ggc cag gga acc ctg gtc acc gtc tcc tca gcc tct acc aag ggc ccc       384
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

agc gtg ttc cct ctg gcc ccc agc agc aag agc aca agc gga ggc aca       432
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

gcc gcc ctg ggc tgc ctg gtg aag gac tac ttc ccc gag ccc gtg aca       480
```

```
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

gtg tcc tgg aac agc gga gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttt cca        528
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

gcc gtg ctg cag agc agc ggc ctg tac agc ctg agc agc gtg gtg acc        576
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

gtg cct agc agc agc ctg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aac        624
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aag gtg gag ccc aag agc        672
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

tgc agc agc gct tcc acc aag ggc cca tcg cag gtg cag ctg gtg cag        720
Cys Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Gln Val Gln Leu Val Gln
225                 230                 235                 240

agc gga gcc gaa gtg aag aaa cct ggc gcc agc gtg aag gtg tcc tgc        768
Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys
                245                 250                 255

aag gcc agc ggc tac acc ttc aac gag tac acc atg cac tgg gtg aag        816
Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr Thr Met His Trp Val Lys
            260                 265                 270

cag gcc ccc ggc cag aga ctg gaa tgg atg ggc ggc atc aac ccc aat        864
Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Asn Pro Asn
        275                 280                 285

agc gga ggc gtg agc tac aac cag aac ttc aag ggc aag gcc acc ctg        912
Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu
    290                 295                 300

acc gtc gac aca agc gcc agc acc gcc tac atg gaa ctg agc agc ctg        960
Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu
305                 310                 315                 320

aga agc gag gac acc gcc gtg tac tac tgc gcc aga ggc ggc gac ggc       1008
Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Asp Gly
                325                 330                 335

tac tac acc aac tac ttc gac atc gac tac tgg ggc cag ggc acc acc       1056
Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
            340                 345                 350

gtg acc gtg tcc agc gag ccc aag agc agc gac aag acc cac acc tgt       1104
Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
        355                 360                 365

ccc cct tgt cct gcc cct gaa gcc gaa ggc gcg cct tcc gtg ttc ctg       1152
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
    370                 375                 380

ttc ccc cca aag ccc aag gac acc ctg atg atc agc cgg acc ccc gaa       1200
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
385                 390                 395                 400
```

```
gtg acc tgc gtg gtg gtg gac gtg tcc cac gag gac cct gaa gtg aag       1248
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
                405                 410                 415

ttc aat tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cac aac gcc aag acc aag       1296
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
            420                 425                 430

ccc cgg gag gaa cag tac aac agc acc tac cgg gtg gtg tcc gtg ctg       1344
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
        435                 440                 445

acc gtg ctg cac cag gac tgg ctg aac ggc aaa gag tac aag tgc aag       1392
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
    450                 455                 460

gtc tcc aac aag gcc ctg ccc agc agc atc gag aaa acc atc agc aag       1440
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
465                 470                 475                 480

gcc aag ggc cag ccc aga gaa ccc cag gtg tac acc ctg ccc cct agc       1488
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
                485                 490                 495

agg gac gag ctg acc aag aac cag gtg tcc ctg acc tgt ctg gtg aag       1536
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
            500                 505                 510

ggc ttc tac ccc agc gat atc gcc gtg gag tgg gag agc aac ggc cag       1584
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
        515                 520                 525

ccc gaa aac aac tac aag acc acc ccc cct gtg ctg gac agc gac ggc       1632
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
    530                 535                 540

agc ttc ttc ctg tac tcc aaa ctg acc gtg gac aag agc cgg tgg cag       1680
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
545                 550                 555                 560

cag ggc aac gtg ttc agc tgc agc gtg atg cac gag gcc ctg cac aac       1728
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
                565                 570                 575

cac tac acc cag aag tcc ctg agc ctg agc ccc ggc aag                   1767
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
            580                 585
```

<210> 100
<211> 589
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 100

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
```

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

Ala Val Ile Ser Tyr Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Met Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

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

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

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

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

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

Cys Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Gln Val Gln Leu Val Gln
225                 230                 235                 240

Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys
                245                 250                 255

Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr Thr Met His Trp Val Lys
            260                 265                 270

Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Asn Pro Asn
        275                 280                 285
```

```
Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu
    290                 295                 300

Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu
305                 310                 315                 320

Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Asp Gly
                325                 330                 335

Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
            340                 345                 350

Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
        355                 360                 365

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
    370                 375                 380

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
385                 390                 395                 400

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
                405                 410                 415

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
            420                 425                 430

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
        435                 440                 445

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
    450                 455                 460

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
465                 470                 475                 480

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
                485                 490                 495

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
            500                 505                 510

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
        515                 520                 525

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
```

530 535 540

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
545 550 555 560

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
565 570 575

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
580 585

<210> 101
<211> 981
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(981)

<400> 101

```
gaa att gtg ttg acg cag tct cca ggc acc ctg tct ttg tct cca ggg          48
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                   10                  15

gaa aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag agt gtt agc agc agc          96
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
            20                  25                  30

tac tta gcc tgg tat cag cag aaa cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc         144
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
        35                  40                  45

atc tat ggt gca tcc agc agg gcc act ggc atc cca gac agg ttc agt         192
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

ggc agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc aga ctg gag         240
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65                  70                  75                  80

cct gaa gat ttt gca gtg tat tac tgt cag cag tat ggt agc tca tac         288
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Tyr
                85                  90                  95

act ttt ggc cag ggg acc aag ctg gag atc aaa cgg acc gtg gcc gct         336
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

ccc agc gtg ttc atc ttc cca ccc agc gac gag cag ctg aag tcc ggt         384
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

acc gcc agc gtg gtg tgc ctg ctg aac aac ttc tac ccg cgg gag gcc         432
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

aag gtg cag tgg aag gtg gac aac gcc ctg cag agc ggc aac tcc cag         480
```

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

gaa agc gtc acc gag cag gac agc aag gac tcc acc tac agc ctg agc        528
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

agc acc ctg acc ctg agc aag gcc gac tac gag aag cac aag gtg tac        576
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

gcc tgc gaa gtg acc cac cag ggc ctg tcc agc ccc gtg acc aag agc        624
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

ttc aac cgg ggc gag tgt cga act gtg gct gca cca tct gac atc cag        672
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Asp Ile Gln
    210                 215                 220

atg acc cag tcc ccc tcc tcc ctg tcc gcc tcc gtg ggc gac aga gtg        720
Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
225                 230                 235                 240

acc atc acc tgc tcc gcc tcc agc tcc gtg aac tac atg cac tgg tat        768
Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met His Trp Tyr
                245                 250                 255

cag cag aaa cct ggc aag gtg ccc aag ctg ctg atc tac gac acc tcc        816
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Thr Ser
            260                 265                 270

aag ctg gcc tcc ggc gtg cct tcc cgg ttc tcc ggc tcc ggc tct ggc        864
Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
        275                 280                 285

acc gac ttc acc ctg acc atc tcc agc ctg cag cct gag gac gtg gcc        912
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala
    290                 295                 300

acc tac tac tgc cag cag tgg aac tcc cac cct ctg acc ttc gga cag        960
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr Phe Gly Gln
305                 310                 315                 320

ggc acc aag ctg gag atc aaa                                            981
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
                325
```

<210> 102
<211> 327
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 102

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
            20                  25                  30
```

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Asp Ile Gln
    210                 215                 220

Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
225                 230                 235                 240

Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met His Trp Tyr
                245                 250                 255

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Thr Ser
            260                 265                 270

Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
        275                 280                 285
```

```
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala
    290                 295                 300

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr Phe Gly Gln
305                 310                 315                 320

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
                325
```

<210> 103
<211> 1767
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1767)

<400> 103

```
cag gtg cag ctg gtg cag agc gga gcc gaa gtg aag aaa cct ggc gcc          48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

agc gtg aag gtg tcc tgc aag gcc agc ggc tac acc ttc aac gag tac          96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr
            20                  25                  30

acc atg cac tgg gtg aag cag gcc ccc ggc cag aga ctg gaa tgg atg         144
Thr Met His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

ggc ggc atc aac ccc aat agc gga ggc gtg agc tac aac cag aac ttc         192
Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

aag ggc aag gcc acc ctg acc gtc gac aca agc gcc agc acc gcc tac         240
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

atg gaa ctg agc agc ctg aga agc gag gac acc gcc gtg tac tac tgc         288
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcc aga ggc ggc gac ggc tac tac acc aac tac ttc gac atc gac tac         336
Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

tgg ggc cag ggc acc acc gtg acc gtg tcc agc gcc tct acc aag ggc         384
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

ccc agc gtg ttc cct ctg gcc ccc agc agc aag agc aca agc gga ggc         432
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
    130                 135                 140

aca gcc gcc ctg ggc tgc ctg gtg aag gac tac ttc ccc gag ccc gtg         480
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145                 150                 155                 160
```

```
aca gtg tcc tgg aac agc gga gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttt        528
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

cca gcc gtg ctg cag agc agc ggc ctg tac agc ctg agc agc gtg gtg        576
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

acc gtg cct agc agc agc ctg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg        624
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
        195                 200                 205

aac cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aag gtg gag ccc aag        672
Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
    210                 215                 220

agc tgc agc agc gct tcc acc aag ggc cca tcg cag gtg cag ctg gtg        720
Ser Cys Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Gln Val Gln Leu Val
225                 230                 235                 240

gag tct ggg gga ggc gtg gtc cag cct ggg agg tcc ctg aga ctc tcc        768
Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
                245                 250                 255

tgt gca gcc tct gga ttc tcc ttc agt agc tat gct atg cac tgg gtc        816
Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr Ala Met His Trp Val
            260                 265                 270

cgc cag gct cca ggc aag ggg ctg gag tgg gtg gca gtt ata tca tat        864
Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Tyr
        275                 280                 285

ggt gga agc aaa aaa tac tac gca gac tcc gtg aag ggc cga ttc acc        912
Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
    290                 295                 300

atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg tat ctg caa atg aac agc        960
Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
305                 310                 315                 320

ctg aga gct gag gac acg gct gtg tat tac tgt gcg aga atg ggg tat       1008
Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Met Gly Tyr
                325                 330                 335

tac gat att ttg act ggt ccc ttt gac tac tgg ggc cag gga acc ctg       1056
Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            340                 345                 350

gtc acc gtc tcc tca gag ccc aag agc agc gac aag acc cac acc tgt       1104
Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
        355                 360                 365

ccc cct tgt cct gcc cct gaa gcc gaa ggc gcg cct tcc gtg ttc ctg       1152
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
    370                 375                 380

ttc ccc cca aag ccc aag gac acc ctg atg atc agc cgg acc ccc gaa       1200
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
385                 390                 395                 400

gtg acc tgc gtg gtg gtg gac gtg tcc cac gag gac cct gaa gtg aag       1248
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
```

```
                405                 410                 415

ttc aat tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cac aac gcc aag acc aag       1296
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
            420                 425                 430

ccc cgg gag gaa cag tac aac agc acc tac cgg gtg gtg tcc gtg ctg       1344
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
        435                 440                 445

acc gtg ctg cac cag gac tgg ctg aac ggc aaa gag tac aag tgc aag       1392
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
    450                 455                 460

gtc tcc aac aag gcc ctg ccc agc agc atc gag aaa acc atc agc aag       1440
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
465                 470                 475                 480

gcc aag ggc cag ccc aga gaa ccc cag gtg tac acc ctg ccc cct agc       1488
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
                485                 490                 495

agg gac gag ctg acc aag aac cag gtg tcc ctg acc tgt ctg gtg aag       1536
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
            500                 505                 510

ggc ttc tac ccc agc gat atc gcc gtg gag tgg gag agc aac ggc cag       1584
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
        515                 520                 525

ccc gaa aac aac tac aag acc acc ccc cct gtg ctg gac agc gac ggc       1632
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
    530                 535                 540

agc ttc ttc ctg tac tcc aaa ctg acc gtg gac aag agc cgg tgg cag       1680
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
545                 550                 555                 560

cag ggc aac gtg ttc agc tgc agc gtg atg cac gag gcc ctg cac aac       1728
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
                565                 570                 575

cac tac acc cag aag tcc ctg agc ctg agc ccc ggc aag                   1767
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
            580                 585
```

<210> 104
<211> 589
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 104

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

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

Thr Met His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
```

```
        35                  40                  45

Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

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

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145                 150                 155                 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

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

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

Ser Cys Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Gln Val Gln Leu Val
225                 230                 235                 240

Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
                245                 250                 255

Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr Ala Met His Trp Val
            260                 265                 270

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Tyr
        275                 280                 285
```

```
Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
    290                 295                 300

Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
305                 310                 315                 320

Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Met Gly Tyr
                325                 330                 335

Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            340                 345                 350

Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
        355                 360                 365

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
    370                 375                 380

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
385                 390                 395                 400

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
                405                 410                 415

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
            420                 425                 430

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
        435                 440                 445

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
    450                 455                 460

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
465                 470                 475                 480

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
                485                 490                 495

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
            500                 505                 510

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
        515                 520                 525

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
    530                 535                 540
```

```
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
545                 550                 555                 560

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
                565                 570                 575

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
            580                 585
```

<210> 105
<211> 981
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(981)

<400> 105

```
gac atc cag atg acc cag tcc ccc tcc tcc ctg tcc gcc tcc gtg ggc          48
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                   10                  15

gac aga gtg acc atc acc tgc tcc gcc tcc agc tcc gtg aac tac atg          96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
            20                  25                  30

cac tgg tat cag cag aaa cct ggc aag gtg ccc aag ctg ctg atc tac         144
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
        35                  40                  45

gac acc tcc aag ctg gcc tcc ggc gtg cct tcc cgg ttc tcc ggc tcc         192
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

ggc tct ggc acc gac ttc acc ctg acc atc tcc agc ctg cag cct gag         240
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65                  70                  75                  80

gac gtg gcc acc tac tac tgc cag cag tgg aac tcc cac cct ctg acc         288
Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
                85                  90                  95

ttc gga cag ggc acc aag ctg gag atc aaa cgg acc gtg gcc gct ccc         336
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
            100                 105                 110

agc gtg ttc atc ttc cca ccc agc gac gag cag ctg aag tcc ggt acc         384
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
        115                 120                 125

gcc agc gtg gtg tgc ctg ctg aac aac ttc tac ccg cgg gag gcc aag         432
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
    130                 135                 140

gtg cag tgg aag gtg gac aac gcc ctg cag agc ggc aac tcc cag gaa         480
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145                 150                 155                 160
```

```
agc gtc acc gag cag gac agc aag gac tcc acc tac agc ctg agc agc        528
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
                165                 170                 175

acc ctg acc ctg agc aag gcc gac tac gag aag cac aag gtg tac gcc        576
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
            180                 185                 190

tgc gaa gtg acc cac cag ggc ctg tcc agc ccc gtg acc aag agc ttc        624
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
        195                 200                 205

aac cgg ggc gag tgt cga act gtg gct gca cca tct gaa att gtg ttg        672
Asn Arg Gly Glu Cys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Glu Ile Val Leu
    210                 215                 220

acg cag tct cca ggc acc ctg tct ttg tct cca ggg gaa aga gcc acc        720
Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr
225                 230                 235                 240

ctc tcc tgc agg gcc agt cag agt gtt agc agc agc tac tta gcc tgg        768
Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala Trp
                245                 250                 255

tat cag cag aaa cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc atc tat ggt gca        816
Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala
            260                 265                 270

tcc agc agg gcc act ggc atc cca gac agg ttc agt ggc agt ggg tct        864
Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
        275                 280                 285

ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc aga ctg gag cct gaa gat ttt        912
Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe
    290                 295                 300

gca gtg tat tac tgt cag cag tat ggt agc tca tac act ttt ggc cag        960
Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Tyr Thr Phe Gly Gln
305                 310                 315                 320

ggg acc aag ctg gag atc aaa                                            981
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
                325
```

<210> 106
<211> 327
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 106

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
            20                  25                  30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
        35                  40                  45
```

```
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

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

Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
                85                  90                  95

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Glu Ile Val Leu
    210                 215                 220

Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr
225                 230                 235                 240

Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala Trp
                245                 250                 255

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala
            260                 265                 270

Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
        275                 280                 285

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe
```

290 295 300

Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Tyr Thr Phe Gly Gln
305 310 315 320

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
325

<210> 107
<211> 1350
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1350)

<400> 107

```
gag gag cag ctg gtg cag tct gga gca gag gtg aaa aag ccc ggg gag          48
Glu Glu Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1               5                   10                  15

tct ctg aag atc tcc tgt aag ggt tct gga ttc agc ttt gac agc tac          96
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Phe Ser Phe Asp Ser Tyr
            20                  25                  30

tgg atc ggc tgg gtg cgc cag ctg ccc ggg aaa ggc ctg gag tgg atg         144
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Leu Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

ggg atc atc ttg cct ggt aac tct gat acc aga tac agc ccg tcc ttc         192
Gly Ile Ile Leu Pro Gly Asn Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
    50                  55                  60

caa ggc cag gtc acc atc tca gcc gac aag tcc atc agc acc gcc tac         240
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

ctg cag tgg agc agc ctg gag gcc tcg gac acc gcc atg tat tat tgt         288
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Glu Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcg aga cag gcc tat tac gat ctt ttg act ggt ccc ttt gac tac tgg         336
Ala Arg Gln Ala Tyr Tyr Asp Leu Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

ggc cag gga acc ctg gtc acc gtc tcc tca gct agc acc aag ggc cca         384
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

tcc gtc ttc ccc ctg gcg ccc tgc tcc agg agc acc tcc gag agc aca         432
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
    130                 135                 140

gcc gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg         480
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttc ccg         528
```

```
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc ctc agc agc gtg gtg acc        576
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acg aag acc tac acc tgc aac gta gat        624
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
        195                 200                 205

cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aga gtt gag tcc aaa tat        672
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
    210                 215                 220

ggt ccc cca tgc cca cca tgc cca gca cct gag ttc ctg ggg gga cca        720
Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

tca gtc ttc ctg ttc ccc cca aaa ccc aag gac act ctc atg atc tcc        768
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

cgg acc cct gag gtc acg tgc gtg gtg gtg gac gtg agc cag gaa gac        816
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
            260                 265                 270

ccc gag gtc cag ttc aac tgg tac gtg gat ggc gtg gag gtg cat aat        864
Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag ttc aac agc acg tac cgt gtg        912
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aac ggc aag gag        960
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa ggc ctc ccg tcc tcc atc gag aaa       1008
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
                325                 330                 335

acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gag cca cag gtg tac acc       1056
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

ctg ccc cca tcc cag gag gag atg acc aag aac cag gtc agc ctg acc       1104
Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

tgc ctg gtc aaa ggc ttc tac ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag       1152
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg       1200
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc agg cta acc gtg gac aag       1248
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415
```

```
agc agg tgg cag gag ggg aat gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag       1296
Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

gct ctg cac aac cac tac aca cag aag agc ctc tcc ctg tct ctg ggt       1344
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
        435                 440                 445

aaa tga                                                               1350
Lys
```

<210> 108
<211> 449
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 108

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175
```

```
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

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

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
    210                 215                 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430
```

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
435 440 445

Lys

<210> 109
<211> 645
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(645)

<400> 109

```
gaa att gtg ttg acg cag tct cca ggc acc ctg tct ttg tct cca ggg          48
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                   10                  15

gaa aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag agt gtt agc agc agc          96
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
            20                  25                  30

tac tta gcc tgg tac cag cag aaa cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc         144
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
        35                  40                  45

atc tat ggt gca tcc agc agg gcc act ggc atc cca gac agg ttc agt         192
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

ggc agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc aga ctg gag         240
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65                  70                  75                  80

cct gaa gat ttt gca gtg tat tac tgt cag cag tat ggt agc tca cct         288
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
                85                  90                  95

act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa cgt acg gtg gct gca         336
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag cag ttg aaa tct gga         384
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc tat ccc aga gag gcc         432
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa tcg ggt aac tcc cag         480
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc acc tac agc ctc agc         528
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
```

```
                165                 170                 175

agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag aaa cac aaa gtc tac        576
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg ccc gtc aca aag agc        624
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

ttc aac agg gga gag tgt tag                                            645
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 110
<211> 214
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

165 170 175

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 111
<211> 1770
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1770)

<400> 111

```
gag gaa cag ctg gtc cag agc gga gct gag gtg aag aaa cca ggg gaa          48
Glu Glu Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1               5                   10                  15

tct ctg aag atc agt tgt aaa ggt tct ggc ttc agt ttt gac tca tat          96
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Phe Ser Phe Asp Ser Tyr
            20                  25                  30

tgg att gga tgg gtg agg cag ctg cca gga aag ggg ctg gag tgg atg         144
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Leu Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

ggt atc att ctg cca ggc aac agc gac acc cga tac tcc cct agc ttt         192
Gly Ile Ile Leu Pro Gly Asn Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
    50                  55                  60

cag ggc cag gtg aca atc tct gct gat aag tct att agt act gcc tat         240
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

ctg cag tgg agt tca ctg gag gca tct gat aca gcc atg tac tat tgc         288
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Glu Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gcc cga cag gct tac tat gac ctg ctg act ggt ccc ttc gat tac tgg         336
Ala Arg Gln Ala Tyr Tyr Asp Leu Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

ggt cag ggc acc ctg gtc aca gtg tcc agc gcc tct acc aag ggc ccc         384
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

agc gtg ttc cct ctg gcc ccc agc agc aag agc aca agc gga ggc aca         432
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

gcc gcc ctg ggc tgc ctg gtg aag gac tac ttc ccc gag ccc gtg aca         480
```

```
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

gtg tcc tgg aac agc gga gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttt cca        528
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

gcc gtg ctg cag agc agc ggc ctg tac agc ctg agc agc gtg gtg acc        576
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

gtg cct agc agc agc ctg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aac        624
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aag gtg gag ccc aag agc        672
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

tgc ggt ggc ggg ggt tcg ggt gga gga ggt tct gag gtc cag ctg caa        720
Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Gln
225                 230                 235                 240

cag tca gga cct gag ctg gtg aag cct ggg gct tca gtg aag ata tcc        768
Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser
                245                 250                 255

tgt aag act tct gga tac aca ttc aat gaa tac acc atg cac tgg gtg        816
Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr Thr Met His Trp Val
            260                 265                 270

aag cag agc cat gga aag cgc ctt gag tgg att gga ggt att aat cct        864
Lys Gln Ser His Gly Lys Arg Leu Glu Trp Ile Gly Gly Ile Asn Pro
        275                 280                 285

aac agt ggt ggt gtt agc tac aac cag aac ttc aag ggc aag gcc aca        912
Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Ala Thr
    290                 295                 300

ttg act gta gac aag tcc tcc agc aca gcc tcc atg gag ctc cgc agc        960
Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Ser Met Glu Leu Arg Ser
305                 310                 315                 320

ctg aca tct gag gat tct gca gtc ttt tac tgt gca aga ggg gga gat       1008
Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Phe Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Asp
                325                 330                 335

ggt tac tac acc aat tac ttt gat att gac tac tgg ggt caa gga acc       1056
Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            340                 345                 350

tca gtc acc gtc tcc tca gag ccc aag agc agc gac aag acc cac acc       1104
Ser Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
        355                 360                 365

tgt ccc cct tgt cct gcc cct gaa gcc gaa ggc gcg cct tcc gtg ttc       1152
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe
    370                 375                 380

ctg ttc ccc cca aag ccc aag gac acc ctg atg atc agc cgg acc ccc       1200
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
385                 390                 395                 400
```

```
gaa gtg acc tgc gtg gtg gtg gac gtg tcc cac gag gac cct gaa gtg       1248
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
                405                 410                 415

aag ttc aat tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cac aac gcc aag acc       1296
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
            420                 425                 430

aag ccc cgg gag gaa cag tac aac agc acc tac cgg gtg gtg tcc gtg       1344
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
        435                 440                 445

ctg acc gtg ctg cac cag gac tgg ctg aac ggc aaa gag tac aag tgc       1392
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
    450                 455                 460

aag gtc tcc aac aag gcc ctg ccc agc agc atc gag aaa acc atc agc       1440
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
465                 470                 475                 480

aag gcc aag ggc cag ccc aga gaa ccc cag gtg tac acc ctg ccc cct       1488
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
                485                 490                 495

agc agg gac gag ctg acc aag aac cag gtg tcc ctg acc tgt ctg gtg       1536
Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
            500                 505                 510

aag ggc ttc tac ccc agc gat atc gcc gtg gag tgg gag agc aac ggc       1584
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
        515                 520                 525

cag ccc gaa aac aac tac aag acc acc ccc cct gtg ctg gac agc gac       1632
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
    530                 535                 540

ggc agc ttc ttc ctg tac tcc aaa ctg acc gtg gac aag agc cgg tgg       1680
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
545                 550                 555                 560

cag cag ggc aac gtg ttc agc tgc agc gtg atg cac gag gcc ctg cac       1728
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
                565                 570                 575

aac cac tac acc cag aag tcc ctg agc ctg agc ccc ggc aag               1770
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
            580                 585                 590
```

<210> 112
<211> 590
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 112

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Phe Ser Phe Asp Ser Tyr
            20                  25                  30
```

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

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

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

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

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

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

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

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

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

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

Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Gln
225                 230                 235                 240

Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser
                245                 250                 255

Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr Thr Met His Trp Val
            260                 265                 270

Lys Gln Ser His Gly Lys Arg Leu Glu Trp Ile Gly Gly Ile Asn Pro
        275                 280                 285
```

```
Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Ala Thr
    290                 295                 300

Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Ser Met Glu Leu Arg Ser
305                 310                 315                 320

Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Phe Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Asp
                325                 330                 335

Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            340                 345                 350

Ser Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
        355                 360                 365

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe
    370                 375                 380

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
385                 390                 395                 400

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
                405                 410                 415

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
            420                 425                 430

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
        435                 440                 445

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
    450                 455                 460

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
465                 470                 475                 480

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
                485                 490                 495

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
            500                 505                 510

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
        515                 520                 525

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
```

```
          530                 535                 540

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
545                 550                 555                 560

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
                565                 570                 575

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
            580                 585                 590
```

<210> 113
<211> 990
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(990)

<400> 113

```
gag att gtc ctg acc cag agc cct ggg aca ctg agc ctg tct cca ggc         48
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                   10                  15

gag agg gct act ctg tcc tgc cgg gca agt cag tca gtg tcc agc tct         96
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
            20                  25                  30

tac ctg gcc tgg tat cag cag aag cca ggg cag gct ccc aga ctg ctg        144
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
        35                  40                  45

atc tac ggc gca agt tca aga gcc acc ggc atc ccc gac cgc ttc tcc        192
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

ggt agc ggc tct gga aca gat ttt acc ctg aca atc agc cga ctg gag        240
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65                  70                  75                  80

ccc gaa gac ttc gcc gtg tac tat tgc cag cag tat ggc tcc agc cct        288
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
                85                  90                  95

aca ttt ggc gga ggg act aag gtc gag atc aaa cgg acc gtg gcc gct        336
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

ccc agc gtg ttc atc ttc cca ccc agc gac gag cag ctg aag tcc ggt        384
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

acc gcc agc gtg gtg tgc ctg ctg aac aac ttc tac ccg cgg gag gcc        432
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

aag gtg cag tgg aag gtg gac aac gcc ctg cag agc ggc aac tcc cag        480
```

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

gaa agc gtc acc gag cag gac agc aag gac tcc acc tac agc ctg agc        528
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

agc acc ctg acc ctg agc aag gcc gac tac gag aag cac aag gtg tac        576
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

gcc tgc gaa gtg acc cac cag ggc ctg tcc agc ccc gtg acc aag agc        624
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

ttc aac cgg ggc gag tgt ggt ggc ggg ggt tcg ggt gga gga ggt tct        672
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    210                 215                 220

caa att gtt ctc acc cag tct cca gca atc atg tct gca tct cca ggg        720
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
225                 230                 235                 240

gag aag gtc acc atg tcc tgc agt gcc agc tca agt gta aat tac atg        768
Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
                245                 250                 255

cac tgg ttc cag cag aag tca ggc acc tcc ccc aaa cga tgg att tat        816
His Trp Phe Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
            260                 265                 270

gac aca tcc aaa ctg gct tct gga gtc cct gct cgc ttc agt ggc agt        864
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
        275                 280                 285

ggg tct ggg acc tct tac tct ctc aca atc acc gac atg gag gct gag        912
Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Thr Asp Met Glu Ala Glu
    290                 295                 300

gat gct gcc act tat tac tgc cag cag tgg aat agt cac cca ctc acg        960
Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
305                 310                 315                 320

ttc ggt gct ggg acc aag ctg gag ctg ata                                990
Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Ile
                325                 330
```

<210> 114
<211> 330
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 114

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
            20                  25                  30
```

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    210                 215                 220

Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
225                 230                 235                 240

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
                245                 250                 255

His Trp Phe Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
            260                 265                 270

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
        275                 280                 285
```

```
Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Thr Asp Met Glu Ala Glu
    290                 295                 300

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
305                 310                 315                 320

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Ile
                    325                 330
```

<210> 115
<211> 1770
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1770)

<400> 115

```
gag gtc cag ctg caa cag tca gga cct gag ctg gtg aag cct ggg gct         48
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

tca gtg aag ata tcc tgt aag act tct gga tac aca ttc aat gaa tac         96
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr
            20                  25                  30

acc atg cac tgg gtg aag cag agc cat gga aag cgc ctt gag tgg att        144
Thr Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Arg Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

gga ggt att aat cct aac agt ggt ggt gtt agc tac aac cag aac ttc        192
Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

aag ggc aag gcc aca ttg act gta gac aag tcc tcc agc aca gcc tcc        240
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Ser
65                  70                  75                  80

atg gag ctc cgc agc ctg aca tct gag gat tct gca gtc ttt tac tgt        288
Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Phe Tyr Cys
                85                  90                  95

gca aga ggg gga gat ggt tac tac acc aat tac ttt gat att gac tac        336
Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

tgg ggt caa gga acc tca gtc acc gtc tcc tca gcc tct acc aag ggc        384
Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

ccc agc gtg ttc cct ctg gcc ccc agc agc aag agc aca agc gga ggc        432
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
    130                 135                 140

aca gcc gcc ctg ggc tgc ctg gtg aag gac tac ttc ccc gag ccc gtg        480
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145                 150                 155                 160
```

```
aca gtg tcc tgg aac agc gga gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttt        528
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

cca gcc gtg ctg cag agc agc ggc ctg tac agc ctg agc agc gtg gtg        576
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

acc gtg cct agc agc agc ctg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg        624
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
        195                 200                 205

aac cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aag gtg gag ccc aag        672
Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
    210                 215                 220

agc tgc ggt ggc ggg ggt tcg ggt gga gga ggt tct gag gaa cag ctg        720
Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Glu Gln Leu
225                 230                 235                 240

gtc cag agc gga gct gag gtg aag aaa cca ggg gaa tct ctg aag atc        768
Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile
                245                 250                 255

agt tgt aaa ggt tct ggc ttc agt ttt gac tca tat tgg att gga tgg        816
Ser Cys Lys Gly Ser Gly Phe Ser Phe Asp Ser Tyr Trp Ile Gly Trp
            260                 265                 270

gtg agg cag ctg cca gga aag ggg ctg gag tgg atg ggt atc att ctg        864
Val Arg Gln Leu Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Leu
        275                 280                 285

cca ggc aac agc gac acc cga tac tcc cct agc ttt cag ggc cag gtg        912
Pro Gly Asn Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val
    290                 295                 300

aca atc tct gct gat aag tct att agt act gcc tat ctg cag tgg agt        960
Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser
305                 310                 315                 320

tca ctg gag gca tct gat aca gcc atg tac tat tgc gcc cga cag gct       1008
Ser Leu Glu Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Ala
                325                 330                 335

tac tat gac ctg ctg act ggt ccc ttc gat tac tgg ggt cag ggc acc       1056
Tyr Tyr Asp Leu Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            340                 345                 350

ctg gtc aca gtg tcc agc gag ccc aag agc agc gac aag acc cac acc       1104
Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
        355                 360                 365

tgt ccc cct tgt cct gcc cct gaa gcc gaa ggc gcg cct tcc gtg ttc       1152
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe
    370                 375                 380

ctg ttc ccc cca aag ccc aag gac acc ctg atg atc agc cgg acc ccc       1200
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
385                 390                 395                 400

gaa gtg acc tgc gtg gtg gtg gac gtg tcc cac gag gac cct gaa gtg       1248
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
```

```
                405                 410                 415

aag ttc aat tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cac aac gcc aag acc       1296
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
            420                 425                 430

aag ccc cgg gag gaa cag tac aac agc acc tac cgg gtg gtg tcc gtg       1344
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
        435                 440                 445

ctg acc gtg ctg cac cag gac tgg ctg aac ggc aaa gag tac aag tgc       1392
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
    450                 455                 460

aag gtc tcc aac aag gcc ctg ccc agc agc atc gag aaa acc atc agc       1440
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
465                 470                 475                 480

aag gcc aag ggc cag ccc aga gaa ccc cag gtg tac acc ctg ccc cct       1488
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
                485                 490                 495

agc agg gac gag ctg acc aag aac cag gtg tcc ctg acc tgt ctg gtg       1536
Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
            500                 505                 510

aag ggc ttc tac ccc agc gat atc gcc gtg gag tgg gag agc aac ggc       1584
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
        515                 520                 525

cag ccc gaa aac aac tac aag acc acc ccc cct gtg ctg gac agc gac       1632
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
    530                 535                 540

ggc agc ttc ttc ctg tac tcc aaa ctg acc gtg gac aag agc cgg tgg       1680
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
545                 550                 555                 560

cag cag ggc aac gtg ttc agc tgc agc gtg atg cac gag gcc ctg cac       1728
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
                565                 570                 575

aac cac tac acc cag aag tcc ctg agc ctg agc ccc ggc aag               1770
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
            580                 585                 590
```

<210> 116
<211> 590
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 116

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Glu Tyr
            20                  25                  30

Thr Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Arg Leu Glu Trp Ile
```

```
        35                  40                  45

Gly Gly Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Val Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Ser
65                  70                  75                  80

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

Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asn Tyr Phe Asp Ile Asp Tyr
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

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

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145                 150                 155                 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165                 170                 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180                 185                 190

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

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

Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Glu Gln Leu
225                 230                 235                 240

Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile
                245                 250                 255

Ser Cys Lys Gly Ser Gly Phe Ser Phe Asp Ser Tyr Trp Ile Gly Trp
            260                 265                 270

Val Arg Gln Leu Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Leu
        275                 280                 285
```

```
Pro Gly Asn Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val
    290                 295                 300

Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser
305                 310                 315                 320

Ser Leu Glu Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Ala
                325                 330                 335

Tyr Tyr Asp Leu Leu Thr Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            340                 345                 350

Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
        355                 360                 365

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe
    370                 375                 380

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
385                 390                 395                 400

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
                405                 410                 415

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
            420                 425                 430

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
        435                 440                 445

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
    450                 455                 460

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
465                 470                 475                 480

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
                485                 490                 495

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
            500                 505                 510

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
        515                 520                 525

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
    530                 535                 540
```

```
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
545                 550                 555                 560

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
                565                 570                 575

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
            580                 585                 590
```

<210> 117
<211> 990
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(990)

<400> 117

```
caa att gtt ctc acc cag tct cca gca atc atg tct gca tct cca ggg          48
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1               5                   10                  15

gag aag gtc acc atg tcc tgc agt gcc agc tca agt gta aat tac atg          96
Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
            20                  25                  30

cac tgg ttc cag cag aag tca ggc acc tcc ccc aaa cga tgg att tat         144
His Trp Phe Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
        35                  40                  45

gac aca tcc aaa ctg gct tct gga gtc cct gct cgc ttc agt ggc agt         192
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

ggg tct ggg acc tct tac tct ctc aca atc acc gac atg gag gct gag         240
Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Thr Asp Met Glu Ala Glu
65                  70                  75                  80

gat gct gcc act tat tac tgc cag cag tgg aat agt cac cca ctc acg         288
Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
                85                  90                  95

ttc ggt gct ggg acc aag ctg gag ctg ata cgg acc gtg gcc gct ccc         336
Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Ile Arg Thr Val Ala Ala Pro
            100                 105                 110

agc gtg ttc atc ttc cca ccc agc gac gag cag ctg aag tcc ggt acc         384
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
        115                 120                 125

gcc agc gtg gtg tgc ctg ctg aac aac ttc tac ccg cgg gag gcc aag         432
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
    130                 135                 140

gtg cag tgg aag gtg gac aac gcc ctg cag agc ggc aac tcc cag gaa         480
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145                 150                 155                 160
```

```
agc gtc acc gag cag gac agc aag gac tcc acc tac agc ctg agc agc        528
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
                165                 170                 175

acc ctg acc ctg agc aag gcc gac tac gag aag cac aag gtg tac gcc        576
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
            180                 185                 190

tgc gaa gtg acc cac cag ggc ctg tcc agc ccc gtg acc aag agc ttc        624
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
        195                 200                 205

aac cgg ggc gag tgt ggt ggc ggg ggt tcg ggt gga gga ggt tct gag        672
Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
    210                 215                 220

att gtc ctg acc cag agc cct ggg aca ctg agc ctg tct cca ggc gag        720
Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu
225                 230                 235                 240

agg gct act ctg tcc tgc cgg gca agt cag tca gtg tcc agc tct tac        768
Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr
                245                 250                 255

ctg gcc tgg tat cag cag aag cca ggg cag gct ccc aga ctg ctg atc        816
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
            260                 265                 270

tac ggc gca agt tca aga gcc acc ggc atc ccc gac cgc ttc tcc ggt        864
Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
        275                 280                 285

agc ggc tct gga aca gat ttt acc ctg aca atc agc cga ctg gag ccc        912
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
    290                 295                 300

gaa gac ttc gcc gtg tac tat tgc cag cag tat ggc tcc agc cct aca        960
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Thr
305                 310                 315                 320

ttt ggc gga ggg act aag gtc gag atc aaa                                990
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
                325                 330
```

<210> 118
<211> 330
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 118

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

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
            20                  25                  30

His Trp Phe Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
        35                  40                  45
```

```
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Thr Asp Met Glu Ala Glu
65                  70                  75                  80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Ser His Pro Leu Thr
                85                  90                  95

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
    210                 215                 220

Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu
225                 230                 235                 240

Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr
                245                 250                 255

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
            260                 265                 270

Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
        275                 280                 285

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
```

290 295 300

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Thr
305 310 315 320

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
325 330

<210> 119
<211> 1776
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1776)

<400> 119

```
cag atc cag ttg gtg cag tct gga cct gag ctg aag aag cct gga gag          48
Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
1               5                  10                  15

aca gtc gag atc tcc tgc aag gct tct ggt tat acc ttc aca gac tat          96
Thr Val Glu Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
            20                  25                  30

tta ata ttc tgg gtg aag cag gct cca gga aag ggt tta aac tgg atg         144
Leu Ile Phe Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Asn Trp Met
        35                  40                  45

ggc tgg ata aac act gag act gtt gag cct aca tat gca gat gac ttc         192
Gly Trp Ile Asn Thr Glu Thr Val Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
    50                  55                  60

aag gga cga ttt gcc ttc tct ttg gaa acc tct gcc agc act gcc cat         240
Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala His
65                  70                  75                  80

ttg ctg atc aac aac ctc aaa aaa gag gac acg tct aca tac ttc tgt         288
Leu Leu Ile Asn Asn Leu Lys Lys Glu Asp Thr Ser Thr Tyr Phe Cys
                85                  90                  95

gca aga gtc cct cac ctc ggg ccc tat tat tat gct atg gac tac tgg         336
Ala Arg Val Pro His Leu Gly Pro Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

ggt caa gga acc tca gtc acc gtc tct tca gcc tct acc aag ggc ccc         384
Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

agc gtg ttc cct ctg gcc ccc agc agc aag agc aca agc gga ggc aca         432
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

gcc gcc ctg ggc tgc ctg gtg aag gac tac ttc ccc gag ccc gtg aca         480
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

gtg tcc tgg aac agc gga gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttt cca         528
```

```
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

gcc gtg ctg cag agc agc ggc ctg tac agc ctg agc agc gtg gtg acc        576
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

gtg cct agc agc agc ctg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aac        624
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aag gtg gag ccc aag agc        672
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

tgc ggt ggc ggg ggt tcg ggt gga gga ggt tct cag gtt act ctg aaa        720
Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Thr Leu Lys
225                 230                 235                 240

gag tct ggc cct ggg ata ttg cag ccc tcc cag acc ctc agt ctg act        768
Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr
                245                 250                 255

tgt tct ttc tct ggg ttt tca ctg agc act tct ggt atg ggt gta ggc        816
Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Gly Val Gly
            260                 265                 270

tgg att cgt cag cct tca ggg aag ggt ctg gag tgg ctg gca aac att        864
Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala Asn Ile
        275                 280                 285

tgg tgg gat gat gac aag cgc tat aac cca gcc ctg aag agc cga ctg        912
Trp Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser Arg Leu
    290                 295                 300

aca atc tcc aag gac acc tcc agc aac cag gtt ttc ctc aag att gcc        960
Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Ser Asn Gln Val Phe Leu Lys Ile Ala
305                 310                 315                 320

agt gtg gac act gca gat act gcc aca tac tac tgt gct cga ata gac       1008
Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Asp
                325                 330                 335

tat gat tac gac agg ggg gcc tac cat gtt atg gac tac tgg ggt caa       1056
Tyr Asp Tyr Asp Arg Gly Ala Tyr His Val Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            340                 345                 350

ggc acc tca gtc acc gtc tcc tca gag ccc aag agc agc gac aag acc       1104
Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr
        355                 360                 365

cac acc tgt ccc cct tgt cct gcc cct gaa gcc gaa ggc gcg cct tcc       1152
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser
    370                 375                 380

gtg ttc ctg ttc ccc cca aag ccc aag gac acc ctg atg atc agc cgg       1200
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
385                 390                 395                 400

acc ccc gaa gtg acc tgc gtg gtg gtg gac gtg tcc cac gag gac cct       1248
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
                405                 410                 415
```

```
gaa gtg aag ttc aat tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cac aac gcc       1296
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
            420                 425                 430

aag acc aag ccc cgg gag gaa cag tac aac agc acc tac cgg gtg gtg       1344
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
        435                 440                 445

tcc gtg ctg acc gtg ctg cac cag gac tgg ctg aac ggc aaa gag tac       1392
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
    450                 455                 460

aag tgc aag gtc tcc aac aag gcc ctg ccc agc agc atc gag aaa acc       1440
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
465                 470                 475                 480

atc agc aag gcc aag ggc cag ccc aga gaa ccc cag gtg tac acc ctg       1488
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
                485                 490                 495

ccc cct agc agg gac gag ctg acc aag aac cag gtg tcc ctg acc tgt       1536
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
            500                 505                 510

ctg gtg aag ggc ttc tac ccc agc gat atc gcc gtg gag tgg gag agc       1584
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
        515                 520                 525

aac ggc cag ccc gaa aac aac tac aag acc acc ccc cct gtg ctg gac       1632
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
    530                 535                 540

agc gac ggc agc ttc ttc ctg tac tcc aaa ctg acc gtg gac aag agc       1680
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
545                 550                 555                 560

cgg tgg cag cag ggc aac gtg ttc agc tgc agc gtg atg cac gag gcc       1728
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
                565                 570                 575

ctg cac aac cac tac acc cag aag tcc ctg agc ctg agc ccc ggc aag       1776
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
            580                 585                 590
```

<210> 120
<211> 592
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 120

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

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

Leu Ile Phe Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Asn Trp Met
        35                  40                  45
```

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

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala His
65                  70                  75                  80

Leu Leu Ile Asn Asn Leu Lys Lys Glu Asp Thr Ser Thr Tyr Phe Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Val Pro His Leu Gly Pro Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

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

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

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

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

Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Thr Leu Lys
225                 230                 235                 240

Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr
                245                 250                 255

Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Gly Val Gly
            260                 265                 270

Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala Asn Ile
        275                 280                 285

Trp Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser Arg Leu
    290                 295                 300
```

```
Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Ser Asn Gln Val Phe Leu Lys Ile Ala
305                 310                 315                 320

Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Asp
                325                 330                 335

Tyr Asp Tyr Asp Arg Gly Ala Tyr His Val Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            340                 345                 350

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr
        355                 360                 365

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser
    370                 375                 380

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
385                 390                 395                 400

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
                405                 410                 415

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
            420                 425                 430

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
        435                 440                 445

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
    450                 455                 460

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
465                 470                 475                 480

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
                485                 490                 495

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
            500                 505                 510

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
        515                 520                 525

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
    530                 535                 540

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
```

```
545                 550                 555                 560

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
                565                 570                 575

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
            580                 585                 590
```

<210> 121
<211> 1005
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1005)

<400> 121

```
gac att gtg ctg aaa cag tct cct gct tcc tta ggt gtg gct ctg ggg        48
Asp Ile Val Leu Lys Gln Ser Pro Ala Ser Leu Gly Val Ala Leu Gly
1               5                   10                  15

cag agg gcc acc atc tca tgc agg gcc agc aaa agt gtc agt aca tct        96
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20                  25                  30

gac ttt agt tat atg cac tgg tat caa cag aaa cca ggg cag cca ccc       144
Asp Phe Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
        35                  40                  45

gaa ctc ctc atc tac ctt gca tcc aac ctc gaa tct ggg gtc cct gcc       192
Glu Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
    50                  55                  60

agg ttc agt ggc agt ggg tct ggg aca gac ttc acc ctc aac atc cat       240
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65                  70                  75                  80

cct gtg gag gag gag gat gct gca acc tat tac tgt cag cac agt agg       288
Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85                  90                  95

gaa ttt cct ccc aca ttc ggt gct ggg acc aaa ctg gag ctg aaa cgg       336
Glu Phe Pro Pro Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
            100                 105                 110

acc gtg gcc gct ccc agc gtg ttc atc ttc cca ccc agc gac gag cag       384
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
        115                 120                 125

ctg aag tcc ggt acc gcc agc gtg gtg tgc ctg ctg aac aac ttc tac       432
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
    130                 135                 140

ccg cgg gag gcc aag gtg cag tgg aag gtg gac aac gcc ctg cag agc       480
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145                 150                 155                 160

ggc aac tcc cag gaa agc gtc acc gag cag gac agc aag gac tcc acc       528
```

```
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
                165                 170                 175

tac agc ctg agc agc acc ctg acc ctg agc aag gcc gac tac gag aag        576
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
            180                 185                 190

cac aag gtg tac gcc tgc gaa gtg acc cac cag ggc ctg tcc agc ccc        624
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
        195                 200                 205

gtg acc aag agc ttc aac cgg ggc gag tgt ggt ggc ggg ggt tcg ggt        672
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly
    210                 215                 220

gga gga ggt tct gac atc cag atg act cag tct cca gcc tcc cta tct        720
Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser
225                 230                 235                 240

gta tct gtg gga gaa act gtc acc atc aca tgt cgg aca agt gag aat        768
Val Ser Val Gly Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn
                245                 250                 255

att ttc agt aat tta gca tgg tat caa cag aaa cag gga aaa tct ccc        816
Ile Phe Ser Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro
            260                 265                 270

cag ctc ctg gtc tat gat gca aca aac tta gca gat ggt gtt cca tca        864
Gln Leu Leu Val Tyr Asp Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser
        275                 280                 285

agg ttc agt ggc agt gga tca ggc aca cag tat tcc ctc aag atc aac        912
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn
    290                 295                 300

agc ctg cag tct gaa gat ttt ggg act tat tac tgt caa cat ttt tgg        960
Ser Leu Gln Ser Glu Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp
305                 310                 315                 320

tat act ccg tgg acg ttc ggt gga ggc acc aag ctg gaa atc aaa           1005
Tyr Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
                325                 330                 335
```

<210> 122
<211> 335
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 122

```
Asp Ile Val Leu Lys Gln Ser Pro Ala Ser Leu Gly Val Ala Leu Gly
1               5                   10                  15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20                  25                  30

Asp Phe Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
        35                  40                  45
```

```
Glu Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
    50                  55                  60

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

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85                  90                  95

Glu Phe Pro Pro Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
            100                 105                 110

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

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
    130                 135                 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145                 150                 155                 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
                165                 170                 175

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

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly
    210                 215                 220

Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser
225                 230                 235                 240

Val Ser Val Gly Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn
                245                 250                 255

Ile Phe Ser Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro
            260                 265                 270

Gln Leu Leu Val Tyr Asp Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser
        275                 280                 285

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn
    290                 295                 300
```

```
Ser Leu Gln Ser Glu Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp
305                 310                 315                 320

Tyr Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
                    325                 330                 335
```

<210> 123
<211> 1737
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1737)

<400> 123

```
gaa gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc tta gtg aag cct gga ggg          48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

tcc ctg aaa ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc gct ttc agt agc tat          96
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

gcc atg tct tgg gtt cgc cag agt ccg gaa aag agg ctg gag tgg gtc         144
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

gca acc att agc agt ggt ggt cat tac acc ttc tat cca gac agt gtg         192
Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly His Tyr Thr Phe Tyr Pro Asp Ser Val
    50                  55                  60

aag ggt cgc ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac acc ctg tac         240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

ctg caa atg agc agt ctg agg tct gag gac acg gcc att tat tac tgt         288
Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gca aga cgt tac tat gct ctg gac tac tgg ggt caa gga acc tca gtc         336
Ala Arg Arg Tyr Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
            100                 105                 110

acc gtc tcc tca gcc tct acc aag ggc ccc agc gtg ttc cct ctg gcc         384
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
        115                 120                 125

ccc agc agc aag agc aca agc gga ggc aca gcc gcc ctg ggc tgc ctg         432
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
    130                 135                 140

gtg aag gac tac ttc ccc gag ccc gtg aca gtg tcc tgg aac agc gga         480
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145                 150                 155                 160

gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttt cca gcc gtg ctg cag agc agc         528
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
                165                 170                 175
```

```
ggc ctg tac agc ctg agc agc gtg gtg acc gtg cct agc agc agc ctg        576
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
            180                 185                 190

ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aac cac aag ccc agc aac acc        624
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
        195                 200                 205

aag gtg gac aag aag gtg gag ccc aag agc tgc ggt ggc ggg ggt tcg        672
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser
    210                 215                 220

ggt gga gga ggt tct gag gtc cag ctg cag cag tct gga cct gag cta        720
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu
225                 230                 235                 240

gtg aag act ggg gct tca gtg aag ata tcc tgc aag gct tct ggt tat        768
Val Lys Thr Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
                245                 250                 255

tca ttc att aat cac tac atg aac tgg gtc aag cag agc cgt gga aag        816
Ser Phe Ile Asn His Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Arg Gly Lys
            260                 265                 270

agc ctt gag tgg att gga tat gtt agt tgt tac aat ggt gct act ggc        864
Ser Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Val Ser Cys Tyr Asn Gly Ala Thr Gly
        275                 280                 285

tac aac cag aag ttt aag gac aag gcc aca ttt act gta gac aca tcc        912
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr Phe Thr Val Asp Thr Ser
    290                 295                 300

tcc agc aca gcc tac atg cag ttc aac aac ctg aca tct gaa gac tct        960
Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Phe Asn Asn Leu Thr Ser Glu Asp Ser
305                 310                 315                 320

gcg gtc tac tat tgt gca cga aga ggg ttt atg gag gct atg gac tac       1008
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Phe Met Glu Ala Met Asp Tyr
                325                 330                 335

tgg ggt caa gga acc tca gtc acc gtc tcc tca gag ccc aag agc agc       1056
Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser
            340                 345                 350

gac aag acc cac acc tgt ccc cct tgt cct gcc cct gaa gcc gaa ggc       1104
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
        355                 360                 365

gcg cct tcc gtg ttc ctg ttc ccc cca aag ccc aag gac acc ctg atg       1152
Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
    370                 375                 380

atc agc cgg acc ccc gaa gtg acc tgc gtg gtg gtg gac gtg tcc cac       1200
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
385                 390                 395                 400

gag gac cct gaa gtg aag ttc aat tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg       1248
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
                405                 410                 415

cac aac gcc aag acc aag ccc cgg gag gaa cag tac aac agc acc tac       1296
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
```

```
            420                 425                 430

cgg gtg gtg tcc gtg ctg acc gtg ctg cac cag gac tgg ctg aac ggc       1344
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
        435                 440                 445

aaa gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aag gcc ctg ccc agc agc atc       1392
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
    450                 455                 460

gag aaa acc atc agc aag gcc aag ggc cag ccc aga gaa ccc cag gtg       1440
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
465                 470                 475                 480

tac acc ctg ccc cct agc agg gac gag ctg acc aag aac cag gtg tcc       1488
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
                485                 490                 495

ctg acc tgt ctg gtg aag ggc ttc tac ccc agc gat atc gcc gtg gag       1536
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
            500                 505                 510

tgg gag agc aac ggc cag ccc gaa aac aac tac aag acc acc ccc cct       1584
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
        515                 520                 525

gtg ctg gac agc gac ggc agc ttc ttc ctg tac tcc aaa ctg acc gtg       1632
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
    530                 535                 540

gac aag agc cgg tgg cag cag ggc aac gtg ttc agc tgc agc gtg atg       1680
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
545                 550                 555                 560

cac gag gcc ctg cac aac cac tac acc cag aag tcc ctg agc ctg agc       1728
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
                565                 570                 575

ccc ggc aag                                                          1737
Pro Gly Lys
```

<210> 124
<211> 579
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 124

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly His Tyr Thr Phe Tyr Pro Asp Ser Val
```

```
    50                  55                  60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser
    210                 215                 220

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu
225                 230                 235                 240

Val Lys Thr Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
                245                 250                 255

Ser Phe Ile Asn His Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Arg Gly Lys
            260                 265                 270

Ser Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Val Ser Cys Tyr Asn Gly Ala Thr Gly
        275                 280                 285

Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr Phe Thr Val Asp Thr Ser
    290                 295                 300
```

```
Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Phe Asn Asn Leu Thr Ser Glu Asp Ser
305                 310                 315                 320

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Phe Met Glu Ala Met Asp Tyr
                325                 330                 335

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser
            340                 345                 350

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
        355                 360                 365

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
    370                 375                 380

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
385                 390                 395                 400

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
                405                 410                 415

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
            420                 425                 430

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

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
    450                 455                 460

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
465                 470                 475                 480

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
                485                 490                 495

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
            500                 505                 510

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
        515                 520                 525

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
    530                 535                 540

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
545                 550                 555                 560
```

```
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
                565                 570                 575

Pro Gly Lys
```

<210> 125
<211> 1008
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*
<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1008)
<400> 125

```
gac att gtg atg acc cag tct caa aaa ttc atg tcc aca tca cta gga          48
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Leu Gly
1               5                   10                  15

gac agg gtc agc gtc tcc tgc aag gcc agt cag aat gtg ctt act aat          96
Asp Arg Val Ser Val Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Leu Thr Asn
            20                  25                  30

gta gcc tgg tat caa caa aaa cca ggg caa tct cct aaa act ctg att         144
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Thr Leu Ile
        35                  40                  45

tat tcg gca tcc tac cgg tac agt gga gtc cct gat cgc ttc aca ggc         192
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
    50                  55                  60

agt gga tct ggg aca gat ttc act ctc acc atc agc att gtt cag tct         240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ile Val Gln Ser
65                  70                  75                  80

gaa gac ttg gca gag tat ttc tgt caa caa tat aac atc tat ccg tgg         288
Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Trp
                85                  90                  95

acg ttc ggt gga ggc acc aag ctg gaa atc aaa cgg acc gtg gcc gct         336
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

ccc agc gtg ttc atc ttc cca ccc agc gac gag cag ctg aag tcc ggt         384
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

acc gcc agc gtg gtg tgc ctg ctg aac aac ttc tac ccg cgg gag gcc         432
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

aag gtg cag tgg aag gtg gac aac gcc ctg cag agc ggc aac tcc cag         480
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

gaa agc gtc acc gag cag gac agc aag gac tcc acc tac agc ctg agc         528
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175
```

```
agc acc ctg acc ctg agc aag gcc gac tac gag aag cac aag gtg tac        576
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

gcc tgc gaa gtg acc cac cag ggc ctg tcc agc ccc gtg acc aag agc        624
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

ttc aac cgg ggc gag tgt ggt ggc ggg ggt tcg ggt gga gga ggt tct        672
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    210                 215                 220

gac att gtg atg aca cag tct cca ttc tcc ctg act gtg aca gta gga        720
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Phe Ser Leu Thr Val Thr Val Gly
225                 230                 235                 240

gag aag gtc act atg agc tgc aaa tcc agt cag agt ctg ctc aac agt        768
Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
                245                 250                 255

aga acc cga aag aac tac ttg gct tgg tac cag cag aaa cca ggg cag        816
Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
            260                 265                 270

tct cct aaa ctt ctg atc tat tgg gca tcc act agg gaa tct ggg gtc        864
Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
        275                 280                 285

cct gat cgc ttc aca ggc agt gga tct ggg aca gat ttc act ctc acc        912
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
    290                 295                 300

atc agc agt gtg cag gct gaa gac ctg gca gtt tat tac tgc aag caa        960
Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
305                 310                 315                 320

tct tat aat ctt tat acg ttc gga ggg ggg acc aag ctg gaa ata aaa       1008
Ser Tyr Asn Leu Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
                325                 330                 335
```

<210> 126
<211> 336
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 126

```
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Leu Gly
1               5                   10                  15

Asp Arg Val Ser Val Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Leu Thr Asn
            20                  25                  30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
    50                  55                  60
```

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

Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Trp
                85                  90                  95

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    210                 215                 220

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Phe Ser Leu Thr Val Thr Val Gly
225                 230                 235                 240

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
            260                 265                 270

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
        275                 280                 285

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
    290                 295                 300

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
```

305 310 315 320

Ser Tyr Asn Leu Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
325 330 335

<210> 127
<211> 329
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> VARIANT
<222> (97)..(97)
<223> variante de alótipo

<220>
<221> MOD_RES
<222> (117)..(117)
<223> L117A

<220>
<221> MOD_RES
<222> (118)..(118)
<223> L118E

<220>
<221> MOD_RES
<222> (120)..(120)
<223> G120A

<220>
<221> MOD_RES
<222> (213)..(213)
<223> A213S

<220>
<221> MOD_RES
<222> (214)..(214)
<223> P214S

<220>
<221> VARIANT
<222> (239)..(239)
<223> variante de alótipo

<220>
<221> VARIANT
<222> (241)..(241)
<223> variante de alotipo

<400> 127

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

```
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285
```

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 128
<211> 330
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> VARIANT
<222> (97)..(97)
<223> variante de alótipo

<220>
<221> MOD_RES
<222> (117)..(117)
<223> L117A

<220>
<221> MOD_RES
<222> (118)..(118)
<223> L117E

<220>
<221> MOD_RES
<222> (120)..(120)
<223> G120A

<220>
<221> MOD_RES
<222> (213)..(213)
<223> A213S

<220>
<221> MOD_RES
<222> (214)..(214)
<223> P214S

<220>
<221> VARIANT
<222> (239)..(239)
<223> variante de alótipo

<220>
<221> VARIANT
<222> (241)..(241)
<223> variante de alotipo

<400> 128

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

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

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo biespecífico que comprende una entidad de fijación a IL-17A/F y una entidad de fijación a IL-23, en el que la entidad de fijación a IL-17A/F comprende dos pares de cadenas de inmunoglobulinas, teniendo cada par una cadena ligera y una cadena pesada;
en el que el dominio variable de la cadena ligera de IL-23 comprende una CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de de la SEQ ID NO: 22, una CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23 y una CDR3 que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 24, y en donde el dominio variable de la cadena pesada de IL-23 comprende una CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, una CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20 y una CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEC. ID NO: 21,
y en el que la entidad de unión a IL-17A/F comprende dos fragmentos Fab unidos al extremo C de la cadena pesada de IL-23;
en el que el dominio variable de cadena ligera del Fab de la entidad de unión IL-17A/F comprende una CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22, una CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23 y una CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24, y en donde el dominio variable de la cadena pesada del Fab de la entidad de unión IL-17A/F comprende una CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25, una CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26, y una CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 27.

2. El anticuerpo biespecífico de acuerdo con la reivindicación 1, en el que las cadenas ligeras del Fab de la entidad de unión IL-17A/F y la entidad de unión IL-23 comprenden un dominio variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9.

3. El anticuerpo biespecífico de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en el que las cadenas ligeras de la Fab de la entidad de fijación a IL-17A/F y la entidad de fijación a IL-23 comprenden un dominio variable que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10.

4. El anticuerpo biespecífico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el dominio variable de la cadena pesada de la entidad de fijación a IL-23 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7.

5. El anticuerpo biespecífico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que el isotipo del dominio constante de la cadena pesada de la entidad de fijación a IL-23 es IgG.

6. El anticuerpo biespecífico de acuerdo con la reivindicación 5, en el que el isotipo del dominio constante de la cadena pesada de la entidad de fijación a IL-23 es IgG1 o IgG4.

7. El anticuerpo biespecífico de acuerdo con la reivindicación 6, en el que el isotipo del dominio constante de la cadena pesada de la entidad de fijación a IL-23 es IgG4.

8. El anticuerpo biespecífico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que el dominio constante de la cadena pesada de la entidad de fijación a IL-23 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8 o los restos de aminoácidos 1-326 de SEQ ID NO:8.

9. El anticuerpo biespecífico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que la cadena ligera del Fab de la entidad de fijación a IL-17A/F y la entidad de fijación a IL-23 comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:17.

10. El anticuerpo biespecífico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en el que el dominio variable de la cadena pesada del Fab de la entidad de fijación a IL-17A/F comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:13.

11. El anticuerpo biespecífico según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en el que la cadena pesada C_{H1} del Fab de la entidad de unión a IL-17A/F comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15.

12. El anticuerpo biespecífico según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en el que la cadena pesada del anticuerpo biespecífico, que comprende la entidad de unión a IL-23 y la entidad de unión a IL-17A/F, comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 74.

13. El anticuerpo biespecífico según una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en el que la cadena ligera del anticuerpo biespecífico comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, y en el que la cadena pesada del anticuerpo biespecífico, que comprende la entidad de unión a IL-23 y la entidad de unión a IL-17A/F, comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 74.

14. Una composición que comprende el anticuerpo biespecífico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15. Un ácido nucleico aislado que codifica la cadena ligera y la cadena pesada del anticuerpo biespecífico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-13.

16. Un vector de expresión que comprende los siguientes elementos unidos operativamente:

(a) un promotor de la transcripción; un polinucleótido que codifica la cadena ligera del anticuerpo biespecífico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-13; y un terminador de la transcripción; o
(b) un promotor de la transcripción; un polinucleótido que codifica la cadena pesada del anticuerpo biespecífico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-13; y un terminador de la transcripción; o
(c) un promotor de la transcripción; un primer polinucleótido que codifica la cadena ligera del anticuerpo biespecífico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-13; un segundo polinucleótido que codifica la cadena pesada del anticuerpo biespecífico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-13; y un terminador de la transcripción.

17. U na célula huésped recombinante que comprende:

(a) el vector de expresión de la reivindicación 16(a), en donde la célula expresa la cadena ligera; o
(b) el vector de expresión de la reivindicación 16(a) y el vector de expresión de la reivindicación 16 (b), en donde la célula expresa tanto la cadena ligera como la cadena pesada; o
(c) el vector de expresión de la reivindicación 16(c), en donde la célula expresa tanto la cadena ligera como la cadena pesada.

18. Un método para producir el anticuerpo biespecífico según una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, comprendiendo el método:

cultivar la célula de acuerdo con las reivindicaciones 17(a) o 17(b) en condiciones en las que las cadenas pesada y ligera codificadas se expresan y forman el anticuerpo biespecífico; y
recuperar el anticuerpo biespecífico producido por la célula.

19. El anticuerpo biespecífico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, o la composición de acuerdo con la reivindicación 14, para uso como un medicamento.

20. El anticuerpo biespecífico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, o la composición de acuerdo con la reivindicación 14, para su uso en el tratamiento para uso en el tratamiento de una enfermedad **caracterizado por** expresión elevada de uno o más de IL-17A, IL-17F e IL-23 en un mamífero que necesita tal tratamiento; en donde la enfermedad es esclerosis múltiple (EM), síndrome del intestino irritable (SII), enfermedad inflamatoria del intestino (EII), colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, dermatitis atópica, dermatitis de contacto, esclerosis sistémica, lupus eritematoso sistémico (LES), vasculitis asociada a anticuerpos antineutrófilos citoplásmicos (ANCA) (AAV), arteritis de células gigantes, esclerosis múltiple (EM), esclerosis múltiple recurrente-recurrente, esclerosis múltiple secundaria-progresiva, esclerosis múltiple primaria progresiva, esclerosis múltiple progresiva-recurrente, colitis, endotoxemia, artritis, artritis reumatoide (AR), artrosis, síndrome de Sjögren, psoriasis, artritis psoriásica, enfermedad respiratoria del adulto (ARD), shock séptico, insuficiencia orgánica múltiple, fibrosis pulmonar idiopática, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), hipersensibilidad de las vías respiratorias, bronquitis crónica, asma alérgica, eczema, infección por *Helicobacter pylori*, inflamación peritoneal, polineuropatía desmielinizante idiopática, síndrome de Guillain-Barré, rechazo de aloinjerto de órganos, enfermedad de injerto contra huésped (GVHD), nefritis por lupus, nefropatía por IgA, enfermedad renal diabética, enfermedad por cambios mínimos (nefritis lipoidea), glomerosclerosis focal segmentaria (GESF), fibrosis sistémica nefrogénica (FSN), dermopatía nefrogénica fibrosante, hepatitis colestásica fibrosante, fascitis eosinofílica (síndrome de Shulman), escleromixedema (mucinosis popular), esclerodermia, liquen escleroatrófico, síndrome de POEM (síndrome de Crow-Fukase, enfermedad de Takatsuki o síndrome de PEP), síndrome nefrótico, enfermedad ósea lítica, enfermedad ósea lítica inducida por mieloma múltiple, fibrosis quística, degeneración macular relacionada con la edad, degeneración macular relacionada con la edad húmeda, degeneración macular relacionada con la edad seca, fibrosis hepática, fibrosis pulmonar, aterosclerosis, isquemia cardíaca/lesión por reperfusión, insuficiencia cardíaca, miocarditis, fibrosis cardíaca, remodelación adversa del miocardio, rechazo del trasplante, artritis inducida por la ared celular de estreptococos (SCW), gingivitis/periodontitis, queratitis del estroma herpética, reestenosis por enteropatía sensible al gluten, enfermedad de Kawasaki o una enfermedad renal mediada por el sistema inmunitario.

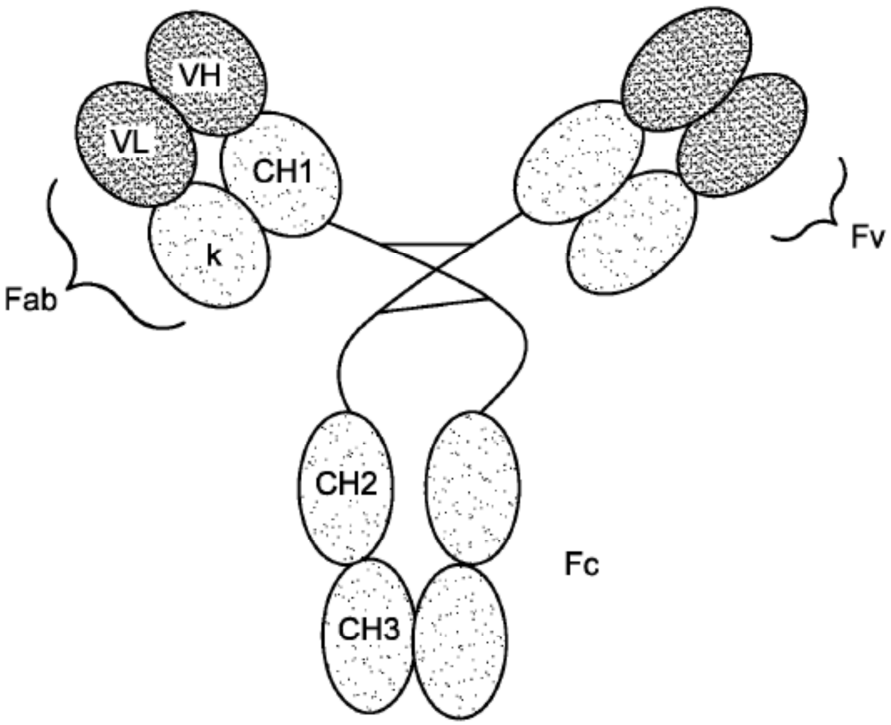


FIG. 1

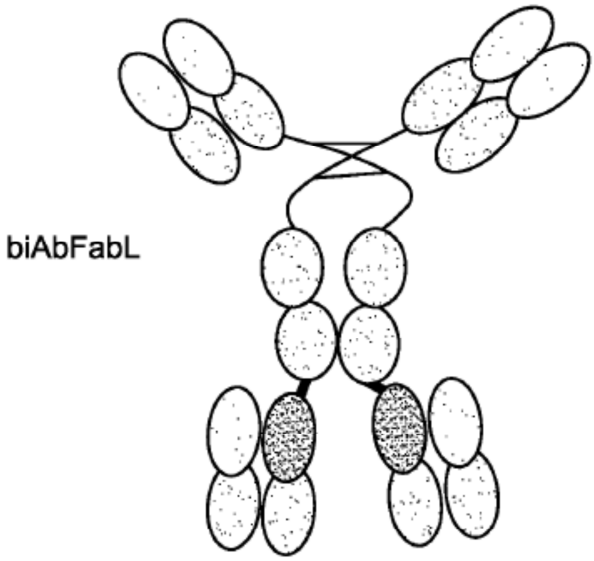


FIG. 2

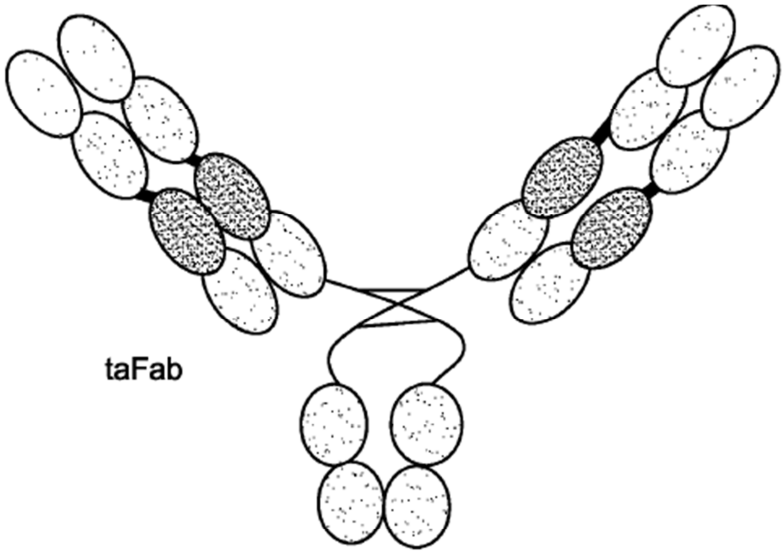


FIG. 3

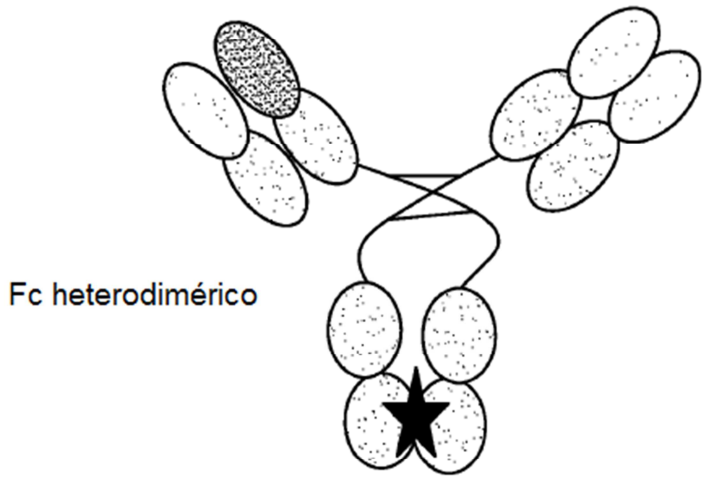


FIG. 4

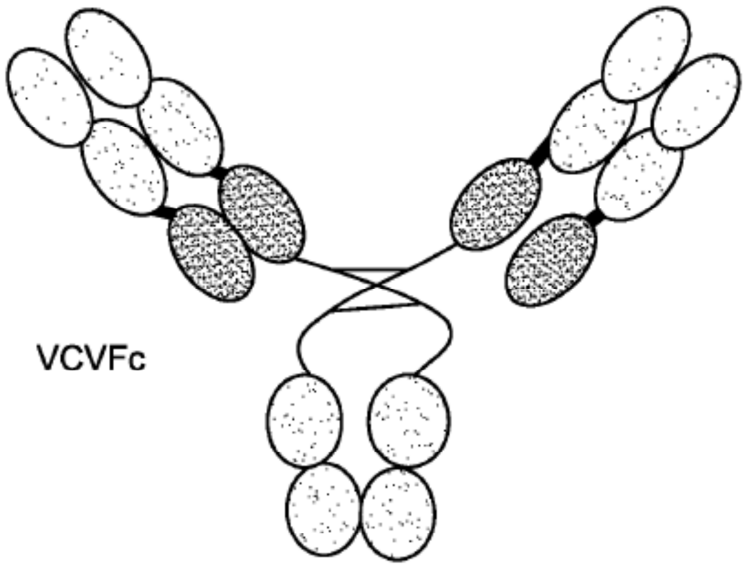


FIG. 5

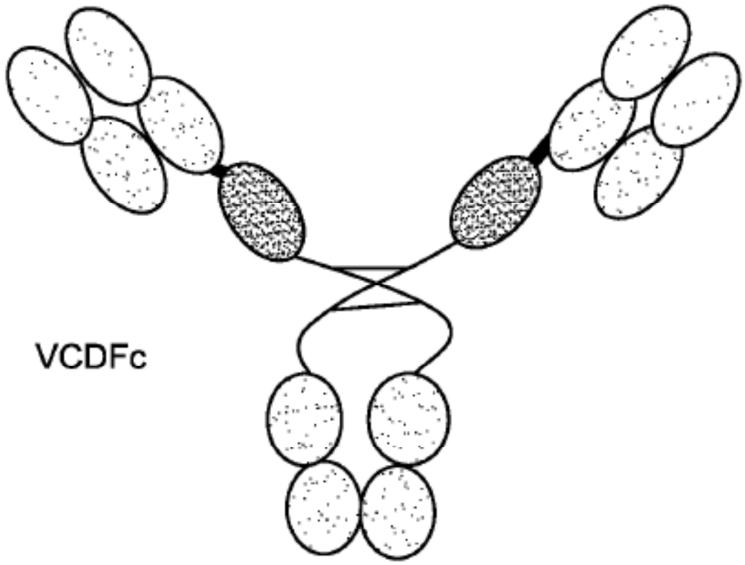


FIG. 6

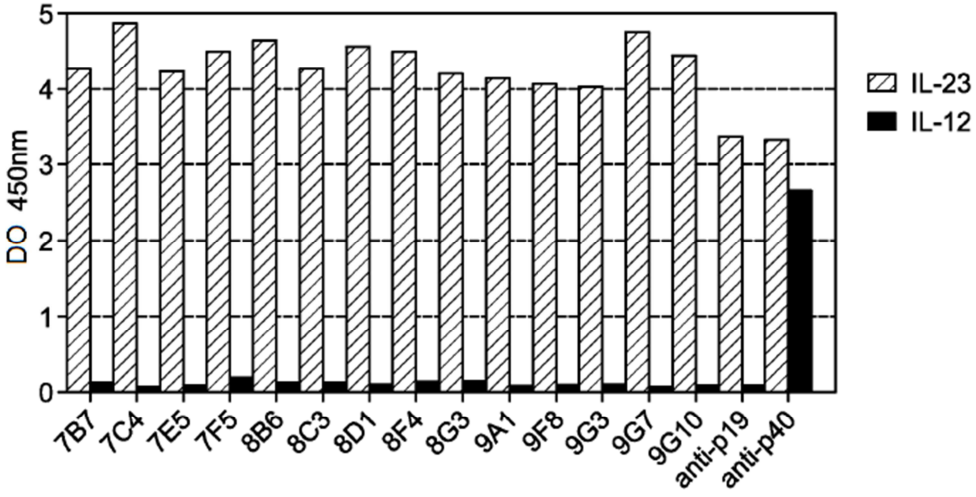

DO 450nm
5
4
3
2
1
0
IL-23
IL-12
7B7
7C4
7E5
7F5
8B6
8C3
8D1
8F4
8G3
9A1
9F8
9G3
9G7
9G10
anti-p19
anti-p40

FIG. 7

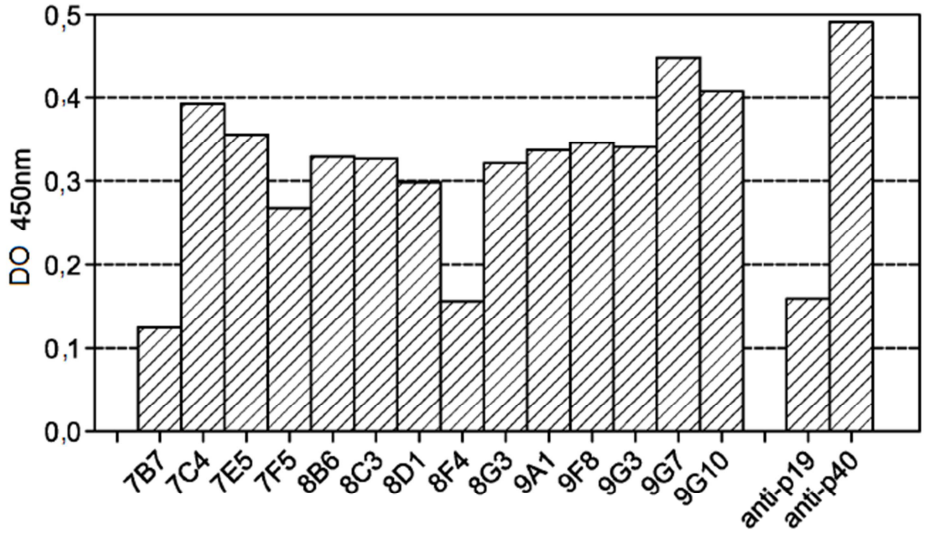

DO 450nm
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0,0
7B7
7C4
7E5
7F5
8B6
8C3
8D1
8F4
8G3
9A1
9F8
9G3
9G7
9G10
anti-p19
anti-p40

FIG. 8

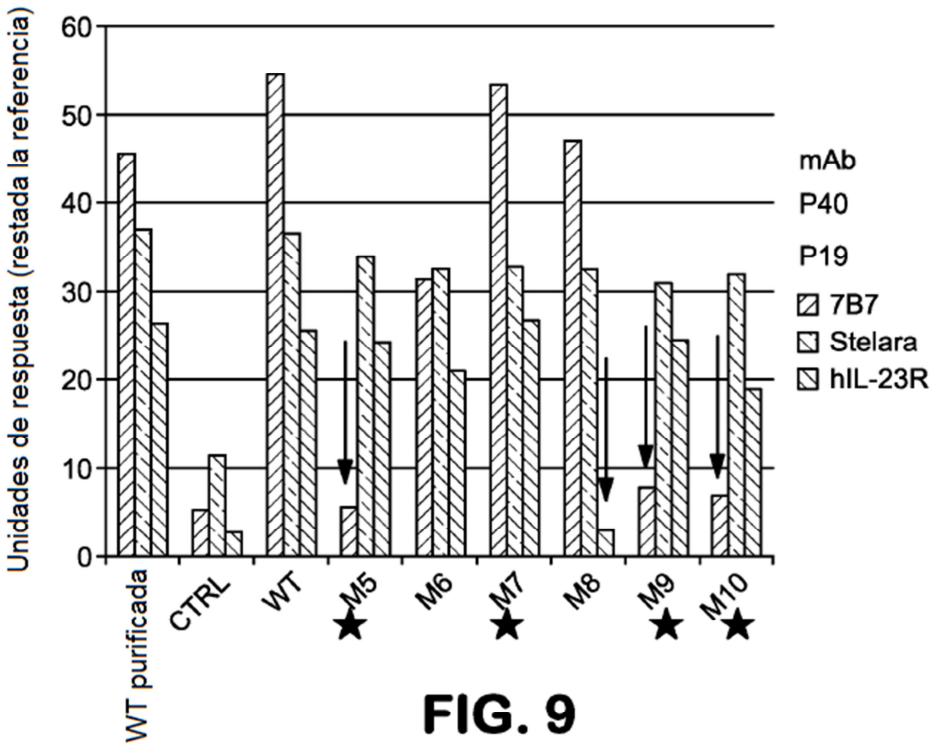

Unidades de respuesta (restada la referencia)
60
50
40
30
20
10
0
mAb
P40
P19
7B7
Stelara
hIL-23R
WT purificada
CTRL
WT
M5
M6
M7
M8
M9
M10

FIG. 9

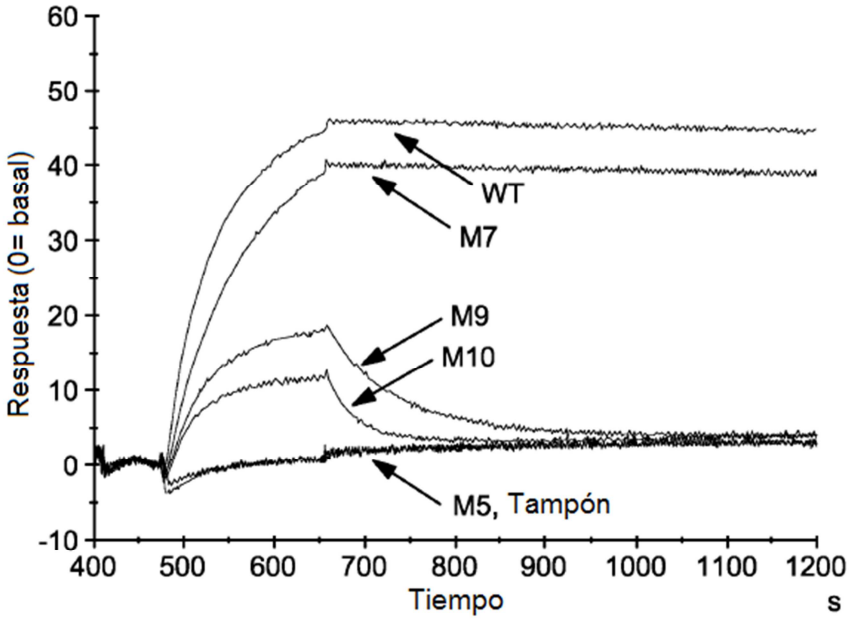

Respuesta (0= basal)
60
50
40
30
20
10
0
-10
400
500
600
700
800
900
1000
1100
1200
Tiempo
s
WT
M7
M9
M10
M5, Tampón

FIG. 10

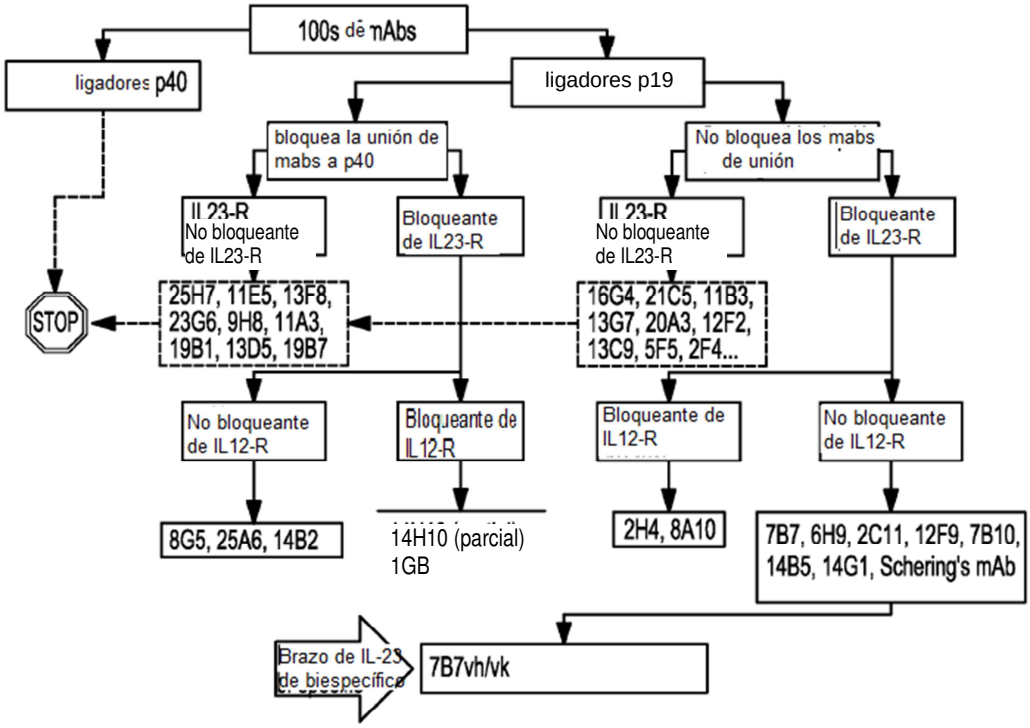

100s de mAbs
ligadores p40
ligadores p19
bloquea la unión de mabs a p40
No bloquea los mabs de unión
Il 23-R No bloqueante de IL23-R
Bloqueante de IL23-R
Il 23-R No bloqueante de IL23-R
Bloqueante de IL23-R
STOP
25H7, 11E5, 13F8, 23G6, 9H8, 11A3, 19B1, 13D5, 19B7
16G4, 21C5, 11B3, 13G7, 20A3, 12F2, 13C9, 5F5, 2F4...
No bloqueante de IL12-R
Bloqueante de IL12-R
Bloqueante de IL12-R
No bloqueante de IL12-R
8G5, 25A6, 14B2
14H10 (parcial) 1GB
2H4, 8A10
7B7, 6H9, 2C11, 12F9, 7B10, 14B5, 14G1, Schering's mAb
Brazo de IL-23 de biespecífico
7B7vh/vk

FIG. 11

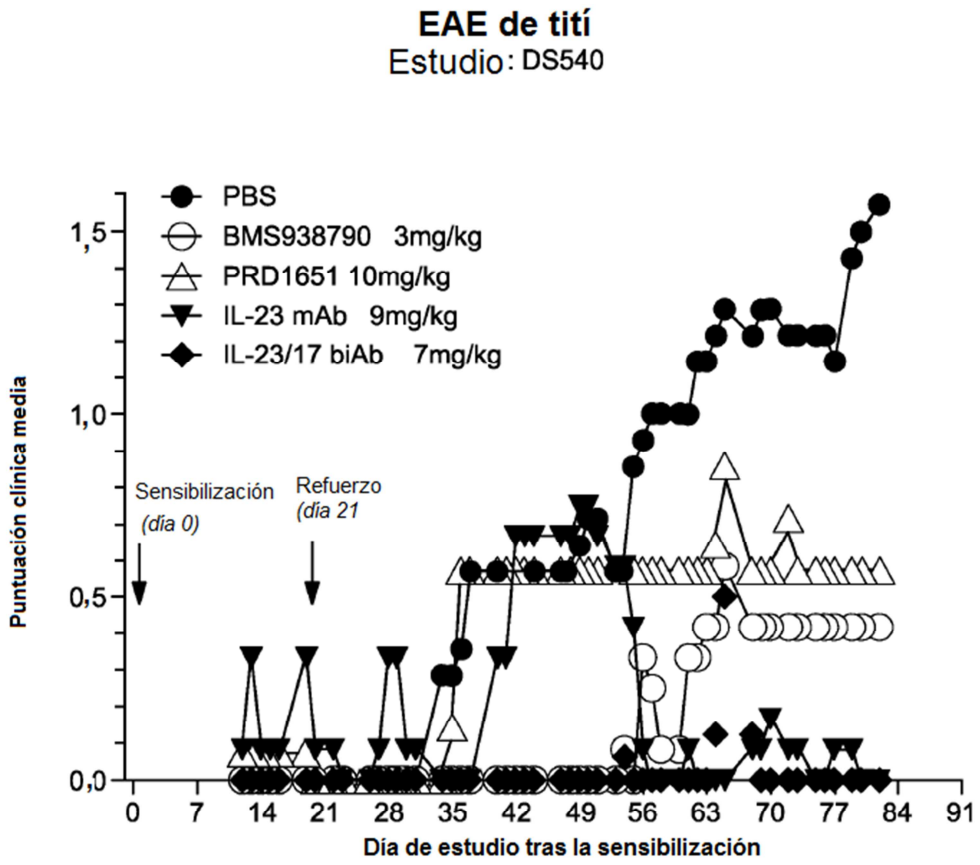

EAE de tití
Estudio: DS540
PBS
BMS938790 3mg/kg
PRD1651 10mg/kg
IL-23 mAb 9mg/kg
IL-23/17 biAb 7mg/kg
Sensibilización
(día 0)
Refuerzo
(día 21
Puntuación clínica media
1,5
1,0
0,5
0,0
0
7
14
21
28
35
42
49
56
63
70
77
84
91
Día de estudio tras la sensibilización

FIG. 12

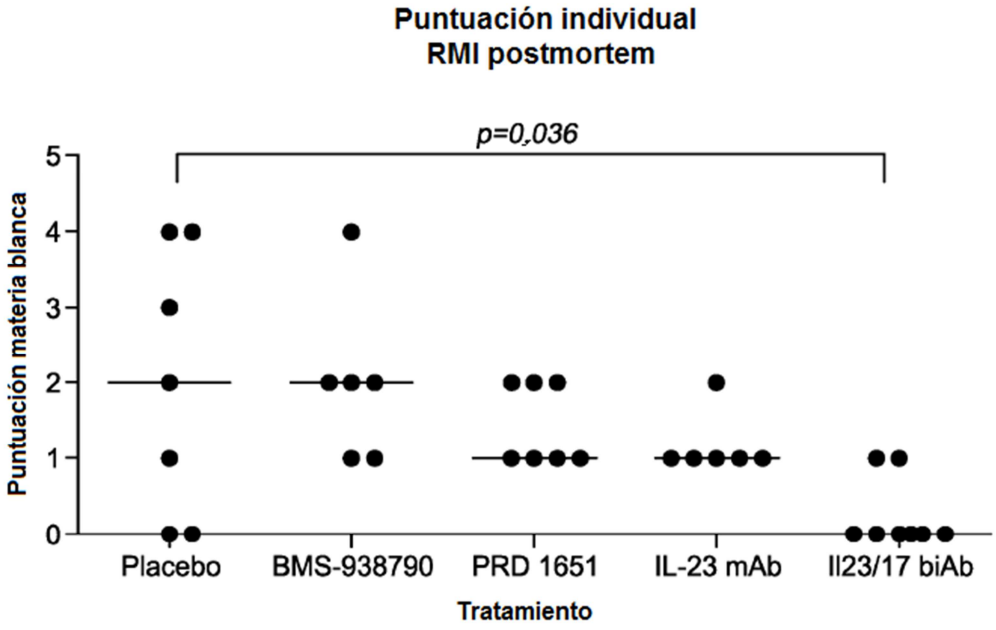

Puntuación individual
RMI postmortem
p=0,036
Puntuación materia blanca
5
4
3
2
1
0
Placebo
BMS-938790
PRD 1651
IL-23 mAb
Il23/17 biAb
Tratamiento

FIG. 13

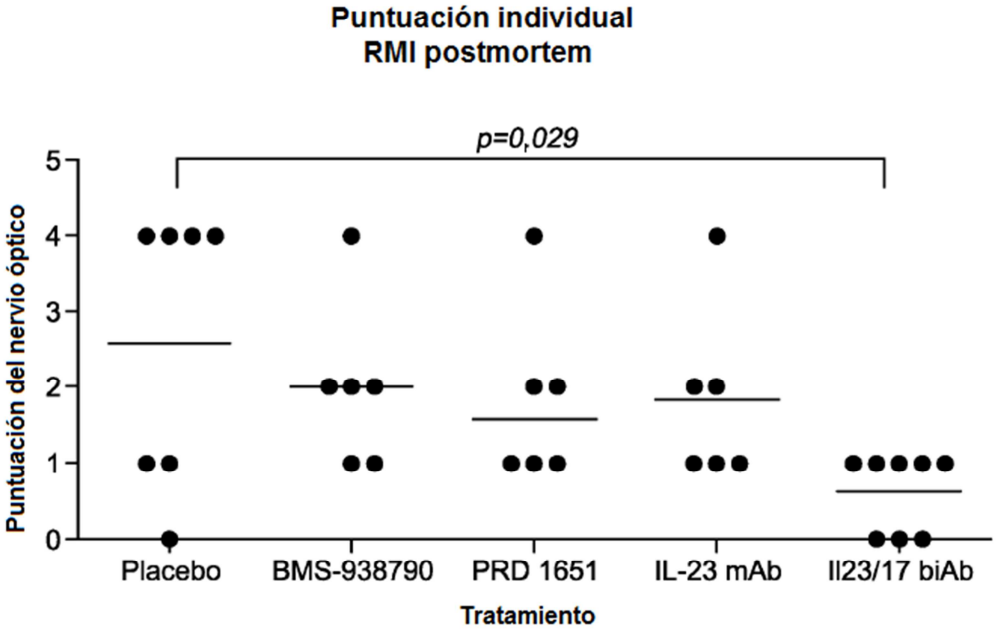

Puntuación individual
RMI postmortem
p=0,029
Puntuación del nervio óptico
5
4
3
2
1
0
Placebo
BMS-938790
PRD 1651
IL-23 mAb
Il23/17 biAb
Tratamiento

FIG. 14

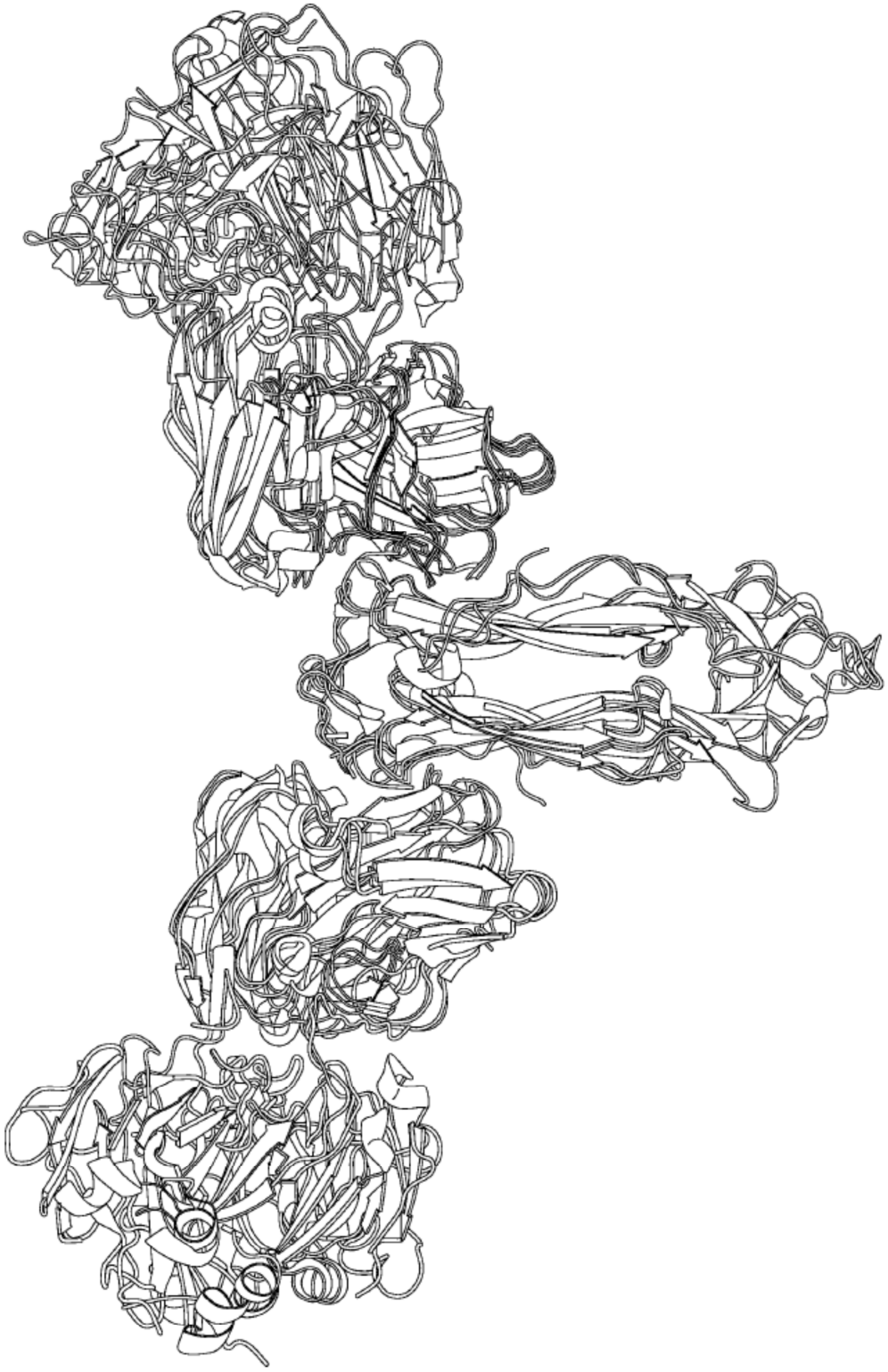


FIG. 15

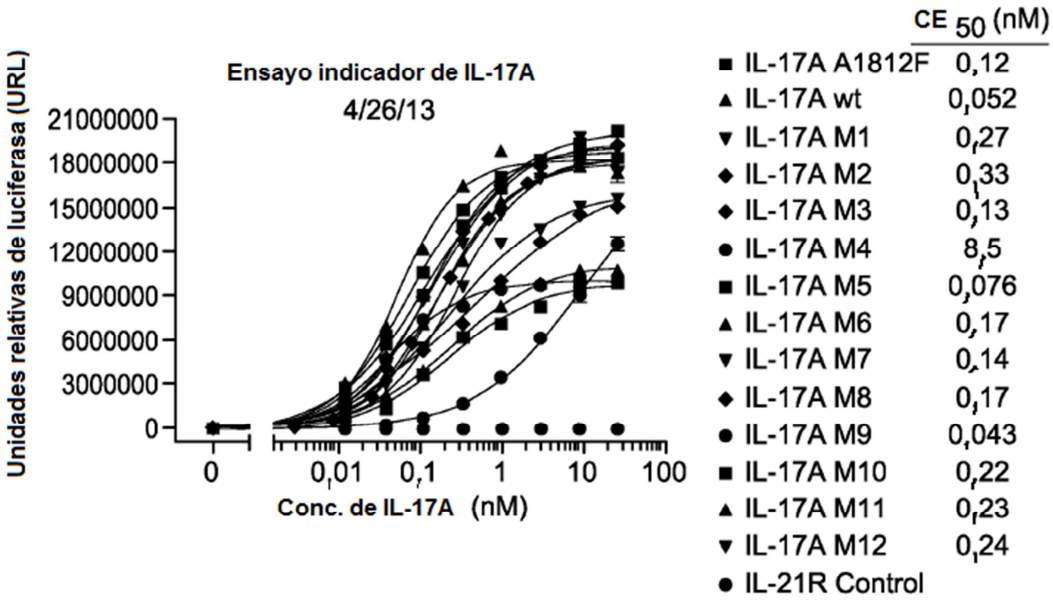

Ensayo indicador de IL-17A
4/26/13
Unidades relativas de luciferasa (URL)
21000000
18000000
15000000
12000000
9000000
6000000
3000000
0
0
0,01
0,1
1
10
100
Conc. de IL-17A (nM)
CE 50 (nM)
IL-17A A1812F 0,12
IL-17A wt 0,052
IL-17A M1 0,27
IL-17A M2 0,33
IL-17A M3 0,13
IL-17A M4 8,5
IL-17A M5 0,076
IL-17A M6 0,17
IL-17A M7 0,14
IL-17A M8 0,17
IL-17A M9 0,043
IL-17A M10 0,22
IL-17A M11 0,23
IL-17A M12 0,24
IL-21R Control

FIG. 16

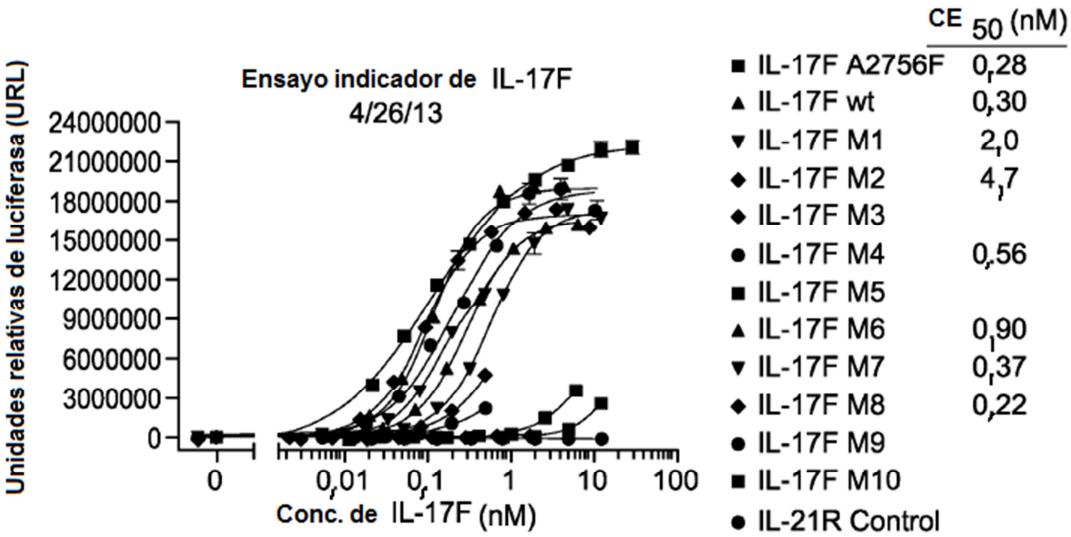

Ensayo indicador de IL-17F
4/26/13
Unidades relativas de luciferasa (URL)
24000000
21000000
18000000
15000000
12000000
9000000
6000000
3000000
0
0
0,01
0,1
1
10
100
Conc. de IL-17F (nM)
CE 50 (nM)
IL-17F A2756F 0,28
IL-17F wt 0,30
IL-17F M1 2,0
IL-17F M2 4,7
IL-17F M3
IL-17F M4 0,56
IL-17F M5
IL-17F M6 0,90
IL-17F M7 0,37
IL-17F M8 0,22
IL-17F M9
IL-17F M10
IL-21R Control

FIG. 17

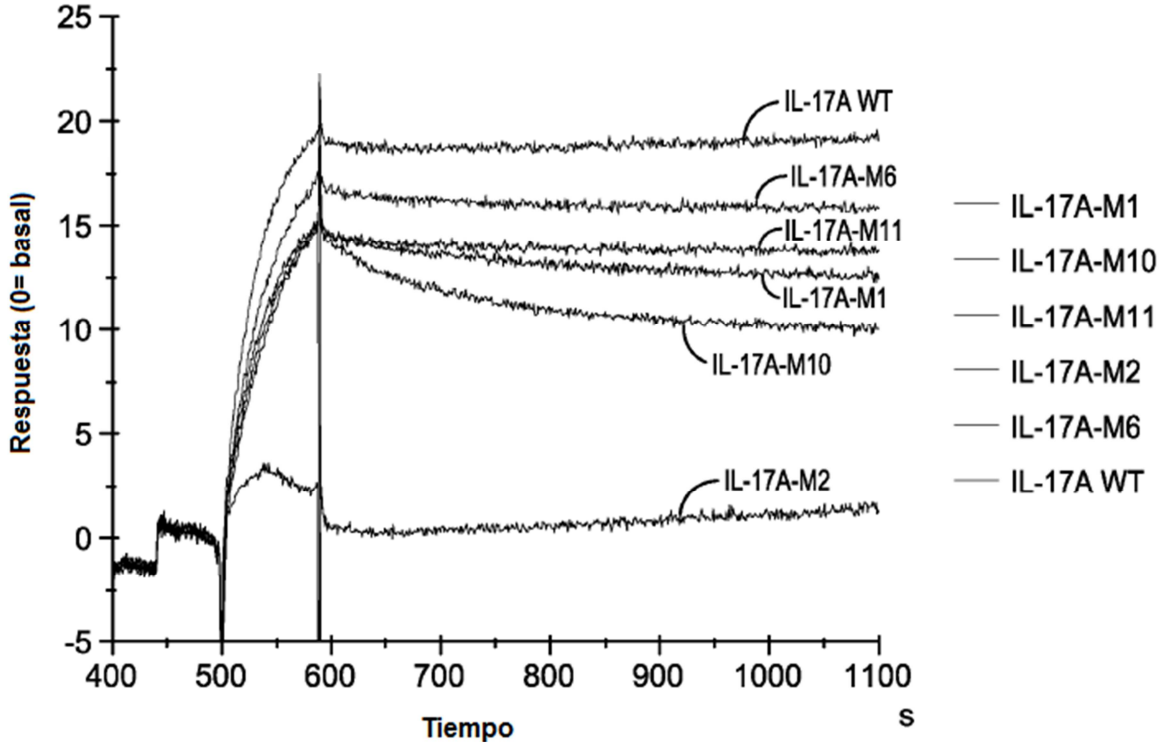

Respuesta (0= basal)
25
20
15
10
5
0
-5
400
500
600
700
800
900
1000
1100
Tiempo
s
IL-17A WT
IL-17A-M6
IL-17A-M11
IL-17A-M1
IL-17A-M10
IL-17A-M2
IL-17A-M1
IL-17A-M10
IL-17A-M11
IL-17A-M2
IL-17A-M6
IL-17A WT

FIG. 18

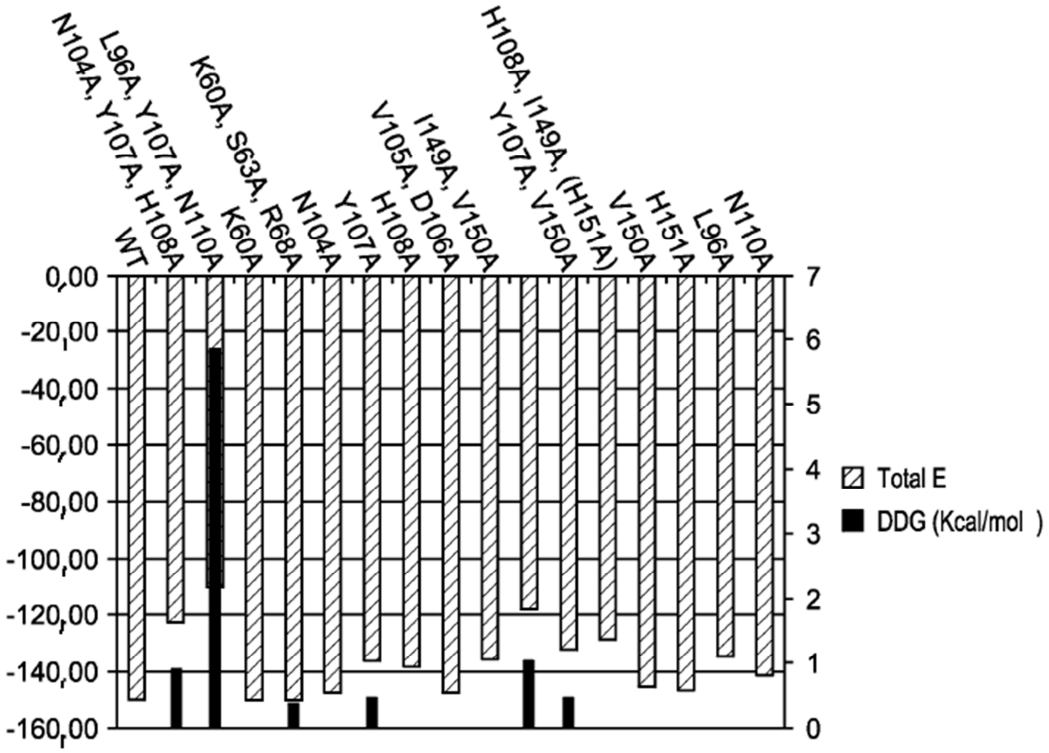

WT
N104A, Y107A, H108A
L96A, Y107A, N110A
K60A, S63A, R68A
K60A
N104A
Y107A
H108A
V105A, D106A
I149A, V150A
H108A, I149A, (H151A)
Y107A, V150A
V150A
H151A
L96A
N110A
0,00
-20,00
-40,00
-60,00
-80,00
-100,00
-120,00
-140,00
-160,00
7
6
5
4
3
2
1
0
Total E
DDG (Kcal/mol)

FIG. 19