

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 398 076**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.06.2007 E 11171039 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.12.2012 EP 2374818**

54 Título: **Anticuerpos de alta afinidad contra el receptor de IL-6 humano**

30 Prioridad:

02.06.2006 US 810664 P

08.09.2006 US 843232 P

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

13.03.2013

73 Titular/es:

REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.

(100.0%)

777 Old Saw Mill River Road

Tarrytown, NY 10591, US

72 Inventor/es:

STEVENS, SEAN;

HUANG, TAMMY T;

MARTIN, JOEL H;

FAIRHURST, JEANETTE L;

RAFIQUE, ASHIQUE;

SMITH, ERIC;

POBURSKY, KEVIN J;

PAPADOPOULOS, NICHOLAS J;

FANDL, JAMES P;

CHEN, GANG y

KAROW, MARGARET

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 398 076 T3

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

DESCRIPCIÓN

Anticuerpos de alta afinidad contra el receptor de IL-6 humano

5 **Declaración de la técnica relacionada**

La interleucina 6 (IL-6) es una citocina pleotrópica producida por células inmunes y no inmunes que desempeña un papel crucial en la regulación de la respuesta inmune, reacciones de fase aguda y hematopoyesis. Se une a IL-6R soluble y unido a membrana celular (cadena α) formando un complejo binario, y este complejo es capaz de interaccionar con gp130 unida a membrana celular (cadena β), induce la formación de un complejo de señalización que comprende dos cada uno de IL-6, IL-6R y gp130.

En los documentos US 5.670.373, 5.795.965, 5.817.790, 6.410.691 y EP 409 607B1 se describen anticuerpos contra hIL-6R. En los documentos US 5.888.510 y 6.723.319 se describen métodos terapéuticos

15 **Breve resumen de la invención**

En un primer aspecto, la invención desvela anticuerpos humanos, preferentemente anticuerpos humanos recombinantes, que se unen específicamente al receptor de interleucina 6 humano (hIL-6R). Estos anticuerpos se caracterizan por la unión a hIL-6R con gran afinidad y una cinética de disociación lenta, y por la capacidad para neutralizar la actividad de IL-6. Los anticuerpos pueden ser de longitud completa (por ejemplo, un anticuerpo IgG1 o IgG4) o pueden comprender solamente una porción de unión a antígeno (por ejemplo, un fragmento Fab, F(ab')₂ o scFv), y pueden modificarse para afectar a la funcionalidad, por ejemplo, para eliminar funciones efectoras residuales (Reddy et al. (2000) J. Immunol. 164: 1925-1933). En una realización preferida, la invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une al receptor de IL-6 humano (SEC ID N°: 1) con una K_D de aproximadamente 500 pM o menos, según se mide por resonancia de plasmón superficial. En una realización más específica, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno tiene una K_D de menos de 300 pM, o menos de 200 pM, o incluso menos de 100 pM. En diversas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo bloquea la actividad de hIL-6 con una CI₅₀ de 250 pM o menos, según se mide por bioensayo de luciferasa. En realizaciones más específicas, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo presenta una CI₅₀ de 150 pM o menos.

En aspectos relacionados, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la invención se une a hIL-6R con una afinidad al menos 2 veces superior a con la que se une a IL-6R de mono. En realizaciones más preferidas, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se une a proteína hIL-6R (SEC ID N°: 1) con una afinidad que es hasta aproximadamente 3 veces superior respecto a su unión a IL-6R de mono (dominio extracelular de *Macaca fascicularis* mostrado en la SEC ID N°: 251).

Por lo tanto, la invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente al receptor de interleucina 6 humano (hIL-6R) con una K_D de 500 pM o menos, según se mide por resonancia de plasmón superficial, en el que:

(i) las CDR de la cadena pesada comprenden las SEC ID N°: 5, 7 y 9 como CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena pesada respectivamente, y

(ii) las CDR de la cadena ligera comprenden las SEC ID N°: 13, 15 y 17 como CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena ligera respectivamente

En realizaciones específicas, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende la pareja de HCVR/LCVR de la SEC ID N°: 3/11.

En un segundo aspecto, la invención proporciona moléculas de ácido nucleico aisladas que codifican un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de la invención. En una realización, la molécula de ácido nucleico de la invención codifica un anticuerpo o fragmento del mismo que comprende una HCVR como se ha descrito anteriormente. En realizaciones específicas, la molécula de ácido nucleico que codifica la HCVR es la SEC ID N°: 2. En un aspecto relacionado, la invención proporciona una molécula de ácido nucleico aislada que codifica una LCVR como se ha descrito anteriormente. En realizaciones específicas, la molécula de ácido nucleico que codifica la LCVR es la SEC ID N°: 10.

La invención desvela anticuerpos anti-hIL-6R o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que tienen un patrón de glicosilación modificado. En algunas aplicaciones, puede ser útil una modificación para eliminar sitios de glicosilación no deseables, o un anticuerpo que carezca de un resto de fucosa en una cadena de oligosacárido, por ejemplo, para aumentar la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) (véase Shield et al. (2002) JBC 277: 26733). En otras aplicaciones, puede realizarse una modificación de una galactosilación para modificar la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC).

En aspectos adicionales, la invención proporciona vectores de expresión recombinantes que llevan las moléculas de ácido nucleico de la invención, y células hospedadoras en las que se han introducido dichos vectores, así como métodos de generación de los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de la invención obtenidos por cultivo de las células hospedadoras de la invención. La célula hospedadora puede ser una célula procarionta o eucariota, preferentemente la célula hospedadora es una célula de *E. coli* o una célula de mamífero, tal como una célula CHO.

En un aspecto adicional, la invención presenta una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo humano o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo que se une específicamente a hIL-6R y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En aspectos adicionales, la invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo, como se ha definido anteriormente, para su uso en la atenuación o inhibición de una enfermedad o trastorno mediado por IL-6 en un ser humano, en el que la enfermedad o trastorno mediado por IL-6 es artritis, una enfermedad inflamatoria del intestino o lupus eritematoso sistémico. El trastorno se selecciona por tanto de, artritis, incluyendo artritis reumatoide crónica; una enfermedad inflamatoria del intestino, incluyendo enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa; o lupus eritematoso sistémico

En aspectos adicionales, la invención proporciona el uso de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo, como se ha definido anteriormente, en la fabricación de un medicamento para su uso para atenuar o inhibir una enfermedad o trastorno mediado por IL-6 en un ser humano, en el que la enfermedad o trastorno mediado por IL-6 es artritis, una enfermedad inflamatoria del intestino o lupus eritematoso sistémico.

Otros objetos y ventajas serán evidentes a partir de una revisión de la descripción detallada subsiguiente.

25 Descripción detallada

Antes de describir los presentes métodos, debe entenderse que esta invención no se limita a los métodos y condiciones experimentales particulares descritas, ya que dichos métodos y condiciones pueden variar. También debe entenderse que la terminología usada en la presente memoria es únicamente con el fin de describir realizaciones particulares, y no pretende ser limitante, ya que el alcance de la presente invención estará limitado únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

A menos que se defina otra cosa, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la materia a la que pertenece la invención. Aunque puede usarse cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en la presente memoria en la práctica o ensayo de la presente invención, los métodos y materiales preferidos se describen a continuación.

La expresión "IL6R humano" (hIL-6R), como se usa en la presente memoria, pretende referirse a un receptor de citocina humano que se une específicamente a interleucina 6 (IL-6). El dominio extracelular de hIL-6R se muestra en la SEC ID N°: 1.

El término "anticuerpo", como se usa en la presente memoria, pretende referirse a moléculas de inmunoglobulina que comprenden cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro. Cada cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (abreviada en la presente memoria como HCVR o VH) y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada comprende tres dominios: CH1, CH2 y CH3. Cada cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (abreviada en la presente memoria como LCVR o VL) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera está compuesta por un dominio (CL1). Las regiones VH y VL pueden subdividirse adicionalmente en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones flanqueantes (FR). Cada VH y VL está compuesta por tres CDR y cuatro FR, dispuestas del extremo amino-terminal al extremo carboxi-terminal en el orden siguiente: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

La expresión "porción de unión a antígeno" de un anticuerpo (o simplemente "porción de anticuerpo" o "fragmento de anticuerpo"), como se usa en la presente memoria, se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que conservan la capacidad para unirse específicamente a un antígeno (por ejemplo, hIL-6R). Se ha demostrado que la función de unión a antígeno de un anticuerpo puede realizarse por fragmentos de un anticuerpo de longitud completa. Los ejemplos de fragmentos de unión incluidos dentro de la expresión "porción de unión a antígeno" de un anticuerpo incluyen (i) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que consiste en los dominios VL, VH, CL1 y CH1; (ii) un fragmento F(ab')₂, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región de bisagra; (iii) un fragmento Fd que consiste en los dominios VH y CH1; (iv) un fragmento Fv que consiste en los dominios VL y VH de un solo brazo de un anticuerpo, (v) un fragmento dAb (Ward et al. (1989) Nature 241: 544-546), que consiste en un dominio VH; y (vi) una región determinante de complementariedad aislada (CDR). Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv, VL y VH, están codificados por genes separados, pueden unirse, usando métodos recombinantes, mediante un enlazador sintético que permita generarlos como una sola cadena contigua en la que las regiones VL y VH se emparejan para formar moléculas monovalentes (conocidas

como Fv de cadena sencilla (scFv); véase, por ejemplo, Bird et al. (1988) Science 242: 423-426; y Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-5883). Dichos anticuerpos de cadena sencilla también pretenden incluirse dentro de la expresión "porción de unión a antígeno" de un anticuerpo. Se incluyen también otras formas de anticuerpos de cadena sencilla, tales como diacuerpos (véase, por ejemplo, Holliger et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448).

Un anticuerpo "neutralizante" o "bloqueante", como se usa en la presente memoria, pretende referirse a un anticuerpo cuya unión a hIL-6R da como resultado la inhibición de la actividad biológica de hIL-6. Esta inhibición de la actividad biológica de hIL-6 puede evaluarse por medición de uno o más indicadores de actividad biológica de hIL-6 conocidos en la técnica, tales como la activación celular inducida por hIL-6 y la unión de hIL-6 a hIL-6R (véanse los ejemplos a continuación).

Una "CDR" o región determinante de complementariedad es una región de hipervariabilidad intercalada dentro de regiones que están más conservadas, denominadas "regiones flanqueantes" (FR). En realizaciones diferentes del anticuerpo anti-hIL-6R o fragmento de la invención, las FR pueden ser idénticas a las secuencias de línea germinal humanas, o pueden estar modificadas de forma natural o artificial. Un grupo de CDR puede definirse como una secuencia de aminoácidos de consenso.

La expresión "resonancia de plasmón superficial", como se usa en la presente memoria, se refiere a un fenómeno óptico que permite el análisis de interacciones a tiempo real por detección de alteraciones en las concentraciones de proteína dentro de una matriz biodetectora, por ejemplo usando el sistema BIAcore™ (Farmacia Biosensor AB).

El término "epítipo" es un determinante antigénico que interacciona con un sitio de unión a antígeno específico en la región variable de una molécula de anticuerpo conocida como parátipo. Un solo antígeno puede tener más de un epítipo. Los epítipos pueden ser conformacionales o lineales. Un epítipo conformacional se produce por aminoácidos espacialmente yuxtapuestos de diferentes segmentos de la cadena polipeptídica lineal. Un epítipo lineal es uno producido por restos aminoacídicos adyacentes en una cadena polipeptídica. En ciertas circunstancias, un epítipo puede incluir restos de sacáridos, grupos fosforilo o grupos sulfonilo en el antígeno.

La expresión "identidad sustancial" o "sustancialmente idéntico", cuando se refiere a un ácido nucleico o fragmento del mismo, indica que, cuando está óptimamente alineado con las inserciones o deleciones de nucleótidos apropiadas con otro ácido nucleico (o su cadena complementaria), existe una identidad de secuencia de nucleótidos en al menos aproximadamente el 95% y, más preferentemente, al menos aproximadamente el 96%, 97%, 98% o 99% de las bases de nucleótidos, según se mide por cualquier algoritmo de identidad de secuencia bien conocido, tal como FASTA, BLAST o Gap, como se analizan a continuación.

Como se aplica a polipéptidos, la expresión "similitud sustancial" o "sustancialmente similar" significa que dos secuencias peptídicas, cuando están óptimamente alineadas, tal como mediante los programas GAP o BESTFIT usando los pesos de huecos por defecto, comparten una identidad de secuencia de al menos el 95%, aún más preferentemente una identidad de secuencia de al menos el 98% o 99%. Preferentemente, las posiciones de restos que no son idénticas difieren por sustituciones de aminoácidos conservativas. Una "sustitución de aminoácidos conservativa" es una en la que un resto aminoacídico se sustituye por otro resto aminoacídico que tiene una cadena lateral (grupo R) con propiedades químicas similares (por ejemplo, carga o hidrofobicidad). En general, una sustitución de aminoácido conservativa no cambiará sustancialmente las propiedades funcionales de una proteína. En casos en los que dos o más secuencias de aminoácidos difieren entre sí por sustituciones conservativas, el porcentaje de identidad de secuencia o grado de similitud puede ajustarse al alza para corregir por la naturaleza conservativa de la sustitución. Los medios para realizar este ajuste son bien conocidos por los expertos en la materia. Véase, por ejemplo, Pearson (1994) Methods Mol. Biol. 24: 307-331. Los ejemplos de grupos de aminoácidos que tienen cadenas laterales con propiedades químicas similares incluyen 1) cadenas laterales alifáticas: glicina, alanina, valina, leucina e isoleucina; 2) cadenas laterales de hidroxilo alifáticas: serina y treonina; 3) cadenas laterales que contienen amida: asparagina y glutamina; 4) cadenas laterales aromáticas: fenilalanina, tirosina y triptófano; 5) cadenas laterales básicas: lisina, arginina e histidina; 6) cadenas laterales ácidas: aspartato y glutamato, y 7) las cadenas laterales que contienen azufre son cisteína y metionina. Los grupos de sustitución de aminoácidos conservativos preferidos son: valina-leucina-isoleucina, fenilalanina-tirosina, lisina-arginina, alanina-valina, glutamato-aspartato y asparagina-glutamina. Como alternativa, una sustitución conservativa es cualquier cambio que tiene un valor positivo en la matriz de verosimilitud logarítmica PAM250 descrita en Gonnet et al. (1992) Science 256: 1443-45. Una sustitución "moderadamente conservativa" es cualquier cambio que tiene un valor no negativo en la matriz de verosimilitud logarítmica PAM250.

La similitud de secuencia para polipéptidos, que también se denomina identidad de secuencia, se mide típicamente usando un *software* de análisis de secuencia. El *software* de análisis de proteína empareja secuencias similares usando medidas de similitud asignadas a diversas sustituciones, deleciones y otras modificaciones, incluyendo sustituciones de aminoácidos conservativas. Por ejemplo, el *software* GCG contiene programas tales como Gap y Bestfit que pueden usarse con parámetros por defecto para determinar la homología de secuencia o la identidad de secuencia entre polipéptidos estrechamente relacionados, tales como polipéptidos homólogos de diferentes especies de organismos o entre una proteína de tipo silvestre y una muteína de la misma. Véase, por ejemplo, GCG

Versión 6.1. Las secuencias polipeptídicas también pueden compararse usando FASTA, usando los parámetros por defecto o recomendados, un programa en GCG Versión 6.1. FASTA (por ejemplo, FASTA2 y FASTA3) proporciona alineamientos y porcentajes de identidad de secuencia de las regiones del mejor solapamiento entre las secuencias de consulta y de búsqueda (Pearson (2000) anteriormente). Otro algoritmo preferido cuando se compara una

5 secuencia de la invención con una base de datos que contiene un gran número de secuencias de diferentes organismos es el programa informático BLAST, especialmente blastp o tblastn, usando los parámetros por defecto. Véase, por ejemplo, Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403 410 y Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389 402.

10 Preparación de anticuerpos humanos

Los métodos para generar anticuerpos humanos incluyen, por ejemplo, Velocimmune™ (Regeneran Pharmaceuticals), tecnología Xenomouse™ (Green et al. (1994) Nature Genetics 7: 13-21; Abgenix), la estrategia de "minilocus" y la presentación en fago (y véanse, por ejemplo, los documentos US 5.545.807, US 6.787.637). La

15 tecnología Velocimmune™ (documento US 6.596.541) incluye un método de generación de un anticuerpo totalmente humano de alta especificidad contra un antígeno seleccionado. Esta tecnología implica la generación de un ratón transgénico que tiene un genoma que comprende regiones variables de cadena pesada y ligera humanas unidas operativamente a loci de la región constante de ratón endógenos, de modo que el ratón produce un anticuerpo que comprende una región variable humana y una región constante de ratón en respuesta a una estimulación antigénica.

20 El ADN que codifica las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras del anticuerpo se aísla y se une operativamente a ADN que codifica las regiones constantes de cadena pesada y ligera humanas. El ADN se expresa después en una célula capaz de expresar el anticuerpo totalmente humano. En una realización específica, la célula es una célula CHO.

25 Los anticuerpos pueden ser terapéuticamente útiles en el bloqueo de una interacción de ligando-receptor o la inhibición de la interacción del componente receptor, más que por destrucción de células a través de la fijación del complemento (citotoxicidad dependiente del complemento) (CDC) y de la participación de la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC). La región constante de un anticuerpo es importante en la capacidad de un anticuerpo para fijar el complemento y mediar la citotoxicidad dependiente de células. Por lo tanto, el isotipo

30 de un anticuerpo puede seleccionarse basándose en si es deseable para el anticuerpo mediar la citotoxicidad.

Las inmunoglobulinas humanas pueden existir en dos formas que están asociadas con la heterogeneidad de la bisagra. En una forma, una molécula de inmunoglobulina comprende una construcción estable de cuatro cadenas de aproximadamente 150-160 kDa en la que los dímeros se mantienen unidos por un enlace disulfuro de cadena

35 pesada intercatenario. En una segunda forma, los dímeros no están unidos por enlaces disulfuro intercatenarios y se forma una molécula de aproximadamente 75-80 kDa compuesta por una cadena pesada y ligera acopladas covalentemente (medio anticuerpo). Estas formas han sido extremadamente difíciles de separar, incluso después de purificación por afinidad. La frecuencia de aparición de la segunda forma en diversos isotipos de IgG intacta es debida a, pero sin limitación, diferencias estructurales asociadas con el isotipo de la región de bisagra del

40 anticuerpo. De hecho, una sola sustitución de aminoácido en la región de bisagra de la bisagra de IgG4 humana puede reducir significativamente la aparición de la segunda forma (Angal et al. (1993) Molecular Immunology 30: 105) hasta los niveles observados típicamente usando una bisagra de IgG1 humana. La presente invención incluye anticuerpos que tienen una o más mutaciones en la región de bisagra, CH2 o CH3 que pueden ser deseables, por ejemplo, en la producción, para mejorar el rendimiento de la forma de anticuerpo deseada.

45 Los anticuerpos de la invención se preparan preferentemente con el uso de la tecnología Velocimmune™. Un ratón transgénico en el que las regiones variables de cadena pesada y ligera de inmunoglobulina endógenas se sustituyen con las regiones variables humanas correspondientes se expone al antígeno de interés, y se recuperan las células linfáticas (tales como células B) de los ratones que expresan anticuerpos. Las células linfáticas pueden fusionarse con una línea celular de mieloma para preparar líneas celulares de hibridoma inmortales, y dichas líneas celulares de hibridoma se exploran y se seleccionan para identificar líneas celulares de hibridoma que produzcan anticuerpos

50 específicos contra el antígeno de interés. El ADN que codifica las regiones variables de la cadena pesada y la cadena ligera puede aislarse y unirse a regiones constantes isotópicas deseables de la cadena pesada y la cadena ligera. Dicha proteína de anticuerpo puede producirse en una célula, tal como una célula CHO. Como alternativa, el ADN que codifica los anticuerpos quiméricos específicos de antígeno o los dominios variables de las cadenas ligera y pesada puede aislarse directamente a partir de linfocitos específicos de antígeno.

En un aspecto, el ratón transgénico comprende hasta 18 genes de cadena pesada variable humana funcionales y 12 genes de cadena ligera kappa variable humana funcionales. En otro aspecto, el ratón transgénico comprende hasta

60 39 genes de cadena pesada variable humana y 30 genes de cadena ligera kappa variable humana. En otro aspecto más, el ratón transgénico comprende hasta 80 genes de cadena pesada variable humana y 40 genes de cadena ligera kappa variable humana.

En general, los anticuerpos de la presente invención poseen afinidades muy elevadas, poseyendo típicamente

65 valores de K_D de aproximadamente 10^{-9} a aproximadamente 10^{-12} M, cuando se miden por su unión a antígeno inmovilizado en una fase sólida o en fase de solución.

Inicialmente, se aíslan anticuerpos quiméricos de alta afinidad que tienen una región variable humana y una región constante de ratón. Como se describe a continuación, los anticuerpos se caracterizan y se seleccionan por sus características deseables, incluyendo la afinidad de unión a hIL-6R, la capacidad para bloquear hIL-6 y/o la selectividad por la proteína humana. Las regiones constantes de ratón se sustituyen con una región constante humana deseada para generar el anticuerpo totalmente humano de la invención, por ejemplo IgG4 o IgG1 de tipo silvestre o modificada (por ejemplo, SEC ID N°: 242, 243, 244). Aunque la región constante seleccionada puede variar de acuerdo con un uso específico, las características de unión a antígeno de alta afinidad y de especificidad de diana residen en la región variable.

10 Mapeo de epítomos y tecnologías relacionadas

Para explorar la búsqueda de anticuerpos que se unen a un epítomo particular, puede realizarse un ensayo rutinario de bloqueo cruzado tal como el descrito en *Antibodies: A Laboratory Manual 1988 Cold Spring Harbor Laboratory, Harlow y Lane, eds.* Otros métodos incluyen mutantes de barrido mediante alanina, transferencias de péptidos (Reineke (2004) *Methods Mol Biol* 248: 443-63) o análisis de escisión de péptidos como se describen en los ejemplos a continuación. Además, pueden emplearse métodos tales como la escisión de epítomos, la extracción de epítomos y la modificación química de antígenos (Tomer (2000) *Protein Science*: 9: 487-496).

La generación de perfiles asistida por modificaciones (MAP), también conocida como generación de perfiles de anticuerpos basada en la estructura del antígeno (ASAP), es un método que clasifica grandes cantidades de anticuerpos monoclonales (mAb) dirigidos contra el mismo antígeno de acuerdo con las similitudes del perfil de unión de cada anticuerpo con superficies de antígenos modificadas química o enzimáticamente (Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 2004/0101920). Cada categoría puede reflejar un epítomo único diferente de forma distintiva de, o parcialmente solapante con un epítomo representado por otra categoría. Esta tecnología permite el filtrado rápido de anticuerpos genéticamente idénticos, de modo que la caracterización puede centrarse en anticuerpos genéticamente distintos. Cuando se aplica a la exploración de hibridomas, la MAP puede facilitar la identificación de clones de hibridoma poco frecuentes con características deseadas. La MAP puede usarse para separar los anticuerpos de hIL-6R de la invención en grupos de anticuerpos que se unen a diferentes epítomos.

Los agentes útiles para alterar la estructura del antígeno inmovilizado son enzimas, tales como, por ejemplo, enzimas proteolíticas y agentes químicos. La proteína antigénica puede inmovilizarse en superficies de microplacas biodetectoras o perlas de poliestireno. Estas últimas pueden procesarse, por ejemplo, con un ensayo tal como un ensayo de detección múltiple Luminex™ (Luminex Corp., TX). Debido a la capacidad de Luminex™ para manejar un análisis múltiple con hasta 100 tipos diferentes de perlas, el Luminex™ proporciona superficies antigénicas casi ilimitadas con diversas modificaciones, dando como resultado una resolución mejorada en la generación de perfiles de epítomos de anticuerpos sobre un ensayo de biodetector.

Administración terapéutica y formulaciones

La administración de entidades terapéuticas de acuerdo con la invención se administrará con vehículos, excipientes y otros agentes adecuados que se incorporan en formulaciones para proporcionar una transferencia, administración, tolerancia y similares mejoradas. Pueden encontrarse una multitud de formulaciones apropiadas en la lista de especialidades farmacéuticas conocida por todos los químicos farmacéuticos: *Remington's Pharmaceutical Sciences* (15ª ed, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1975), particularmente el Capítulo 87 por Blaug, Seymour, en el mismo. Estas formulaciones incluyen, por ejemplo, polvos, pastas, pomadas, gelatinas, ceras, lípidos oleosos, lípidos (catiónicos o aniónicos) que contienen vesículas (tales como Lipofectin™), conjugados de ADN, pastas de absorción anhidras, emulsiones de aceite en agua y de agua en aceite, emulsiones de carbowax (polietilenglicoles de diversos pesos moleculares), geles semisólidos y mezclas semisólidas que contienen carbowax. Cualquiera de las mezclas anteriores puede ser apropiada en tratamientos y terapias de acuerdo con la presente invención, con tal de que el ingrediente activo en la formulación no se inactive por la formulación y la formulación sea fisiológicamente compatible y tolerable con la vía de administración. Véase también Powell et al. *PDA* (1998) *J Pharm Sci Technol.* 52: 238-311 y las citas en el mismo para información adicional relacionada con excipientes y vehículos bien conocidos por los químicos farmacéuticos.

55 Ejemplos

Los ejemplos siguientes se presentan para proporcionar a los expertos en la materia una divulgación y descripción completas de cómo preparar y usar los métodos y composiciones de la invención, y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran su invención. Se han realizado esfuerzos para asegurar la precisión con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.), pero deberían suponerse algunos errores y desviaciones experimentales. A menos que se indique otra cosa, las partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular promedio, la temperatura es en grados centígrados, y la presión es la atmosférica o próxima a esta.

Ejemplo 1. Generación de anticuerpos humanos contra el receptor de IL-6 humano.

La inmunización de roedores puede realizarse por cualquier método conocido en la técnica (véase, por ejemplo, Harlow y Lane (1988) anteriormente; Malik y Lillehoj, *Antibody techniques*: Academic Press, 1994, CA). En una realización preferida, el antígeno hIL-6R se administra directamente a ratones que comprenden loci de ADN que codifican tanto la región variable de cadena pesada como la región variable de cadena ligera kappa de Ig humana (Velocimmune™, Regeneron Pharmaceuticals, Inc.; documento US 6.596.541), con un adyuvante para estimular la respuesta inmune. Dicho adyuvante incluye adyuvante completo e incompleto de Freund, sistema adyuvante MPL+TDM (Sigma) o RIBI (dipéptidos de muramilo) (véase O'Hagan, *Vaccine Adjuvant*, por Human Press, 2000, NJ). Dicho adyuvante puede prevenir la dispersión rápida del polipéptido por secuestro del antígeno en un depósito de administración prolongada local, y puede contener factores que puedan estimular la respuesta inmune del hospedador. En una realización, el hIL-6R se administra indirectamente como un plásmido de ADN que contiene el gen de hIL-6R y que expresa hIL-6R usando la maquinaria de expresión de proteína celular del hospedador para producir polipéptido antigénico *in vivo*. En ambas estrategias, el programa de inmunización requiere varias administraciones separadas unas cuantas semanas. La respuesta inmune de anticuerpo se controla mediante un inmunoensayo específico de antígeno convencional. Cuando los animales alcanzaron su respuesta inmune máxima, se recogieron las células B que expresaban anticuerpo y se fusionaron con células de mieloma de ratón para preservar su viabilidad, formando células de hibridoma. Para seleccionar anticuerpos monoclonales funcionalmente deseables, se exploraron los medios acondicionados de las células de hibridoma o células transfectadas para determinar su especificidad, afinidad de unión a antígeno y potencia en el bloqueo de la unión de hIL-6 a hIL-6R (descrito a continuación).

Ejemplo 2. Anticuerpos anti-hIL6R generados por aislamiento directo de esplenocitos

El ADN que codifica dominios VH y VL puede aislarse directamente a partir de una sola célula B positiva para antígeno. En resumen, el ratón transgénico inmunizado con hIL-6Ra se sacrificó y sus esplenocitos se recogieron. Los eritrocitos se eliminaron por lisis, seguido de sedimentación de los esplenocitos recogidos. Los esplenocitos resuspendidos se incubaron primero con un cóctel de IgG humana, FITC-anti-mFc y biotina-IL6Ra durante 1 hora. Las células teñidas se lavaron dos veces con PBS, después se teñieron con un cóctel de IgG humana y de rata, APC-anti-mIgM y SA-PE durante una hora. Las células teñidas se lavaron una vez con PBS y se analizaron por citometría de flujo en un MoFlo (Cytomation). Cada célula B positiva para IgG, negativa para IgM y positiva para antígeno se separó y se sembró en placas en un pocillo separado en una placa de 96 pocillos. Se realizó una RT-PCR de genes de anticuerpo a partir de estas células B de acuerdo con un método descrito por Wang et al. (2000) (*J Immunol Methods* 244: 217-225). En resumen, se sintetizaron los ADNc para cada célula B individual mediante RT-PCR. Cada producto de RT resultante se dividió después y se transfirió a dos pocillos correspondientes en dos placas de 96 pocillos. Un conjunto de los productos de RT resultantes se amplificó primero por PCR usando un cebador degenerado 5' específico para la secuencia líder de la región variable de la cadena pesada de IgG humana y un cebador 3' específico para la región constante de la cadena pesada de ratón, para formar un amplicón. El amplicón se amplificó después de nuevo por PCR usando un conjunto de cebador degenerado 5' específico para la región flanqueante 1 de la secuencia de la región variable de la cadena pesada de IgG humana y un cebador 3' anidado específico para la región constante de la cadena pesada de ratón. El otro conjunto de los productos de RT resultantes se amplificó primero por PCR usando un cebador degenerado 5' específico para la secuencia líder de la región variable de la cadena ligera kappa humana y un cebador 3' específico para la región constante de la cadena ligera kappa de ratón para formar un amplicón. El amplicón se amplificó después de nuevo por PCR usando un conjunto de cebador degenerado 5' específico para la región flanqueante 1 de la secuencia de la región variable de la cadena ligera kappa humana y un cebador 3' anidado específico para la región constante de la cadena ligera kappa de ratón. Los productos de PCR de cadena pesada y cadena ligera se clonaron en vectores de anticuerpo linealizados con Sap I que contenían la región constante de cadena pesada de IgG1 y la región constante de cadena ligera kappa, respectivamente. El plásmido de cadena pesada tiene un sitio lox2272 y un sitio lox511 flanqueando los casetes de expresión de cadena pesada. Además, inmediatamente cadena abajo del lox2272 en el plásmido de cadena pesada existe un gen de resistencia a higromicina que carece de un promotor y de un ATG iniciador. El gen de resistencia a higromicina también está unido transcripcionalmente a un gen de eGFP cadena abajo mediante una secuencia de IRES. El plásmido de cadena ligera tiene un sitio loxP y un sitio lox2272 flanqueando el casete de expresión de la cadena ligera. Además, el plásmido de cadena ligera tiene un promotor de SV40 inmediatamente antes de un ATG en el sitio lox2272, de modo que tras la integración en una célula hospedadora apropiada el promotor de SV40 proximal a lox2272 y el ATG iniciador del plásmido de cadena ligera se ponen adyacentes al gen de resistencia a higromicina en el plásmido de cadena pesada en la fase de lectura apropiada, para permitir la transcripción y traducción de los genes de resistencia a higromicina y eGFP. Los plásmidos recombinantes purificados que tenían una secuencia de región variable de cadena pesada y los plásmidos que tenían una secuencia de región variable de cadena ligera de la misma célula B se combinaron y transfectaron después junto con un plásmido que expresa la recombinasa Cre, en una línea celular hospedadora CHO modificada. La línea celular hospedadora CHO modificada contiene, de 5' a 3', un sitio loxP, un eCFP, un sitio lox2272, DsRed y un sitio lox511 en un locus transcripcionalmente activo. Por consiguiente, la célula CHO hospedadora puede aislarse por citometría de flujo como una célula positiva para azul, positiva para rojo y negativa para verde. Cuando los plásmidos recombinantes que expresan genes de cadena pesada y de cadena ligera se transfectan juntos con un

plásmido que expresa la recombinasa Cre, la recombinación específica de sitio mediada por la recombinasa Cre da como resultado la integración de los plásmidos de anticuerpo en el locus cromosómico que contiene los sitios lox y el reemplazo de los genes de eCFP y DsRed. Después, los recombinantes pueden aislarse como células negativas para azul, negativas para rojo y positivas para verde por citometría de flujo. Por consiguiente, las células CHO transfectadas con plásmidos recombinantes que tenían una secuencia de región variable de cadena pesada y plásmidos que tenían una secuencia de región variable de cadena ligera de la misma célula B se separaron por citometría de flujo, y los recombinantes apropiados que muestran el fenotipo negativo para azul, negativo para rojo y positivo para verde se aislaron, y se establecieron líneas celulares CHO que expresaban anticuerpo recombinante a partir de los clones aislados.

Ejemplo 3. Determinación de la afinidad de unión a antígeno

La K_D de la unión de antígeno a los anticuerpos seleccionados descritos anteriormente se determinó por la cinética superficial en un ensayo de resonancia de plasmón superficial de biodetector a tiempo real (BIAcore™). Más específicamente, la afinidad de los anticuerpos por IL-6R humano se midió usando un BIAcore® 2000 o BIAcore® 3000. El anticuerpo se capturó en una superficie con anti-IgG de ratón y se expuso a diversas concentraciones de proteína hIL-6R recombinante en forma monomérica o dimerica. Se realizó un análisis cinético usando el *software* BIAevaluation™ para obtener las constantes de velocidad de asociación y disociación.

Las afinidades de unión de los anticuerpos a hIL-6R también se midieron para medios acondicionados de hibridoma o proteínas purificadas mediante inmunoensayo de competición basado en placa. Las proteínas de anticuerpo se purificaron usando cromatografía de afinidad de Proteína G a partir de medio de acondicionamiento de células de hibridoma que tenía agotada la IgG bovina (Invitrogen). Para el ELISA de competición, en resumen, se premezclaron cantidades constantes de anticuerpo a diferentes niveles con diluciones seriadas de proteína antigénica, hIL-6R-hFc, que variaban de 0 a 10 µg/ml, y se incubaron durante dos horas a temperatura ambiente para alcanzar un equilibrio de pseudo-unión entre el anticuerpo y el antígeno. Estas soluciones se transfirieron después a placas de 96 pocillos previamente recubiertas con hIL-6R-hFc para permitir que el anticuerpo libre en las mezclas se uniera al hIL-6R-hFc recubierto sobre la placa. Las placas se recubrieron típicamente con de 1 a 2 µg/ml de proteína hIL-6R-hFc en solución de PBS durante una noche a 4°C, seguido de bloqueo inespecífico con BSA. Después de eliminar por lavado el exceso de anticuerpo en solución, los anticuerpos unidos a la placa se detectaron con un reactivo de anticuerpo policlonal de cabra anti-IgG o IgA de ratón conjugado con HRP y se revelaron usando sustratos colorimétricos o quimioluminiscentes. La dependencia de las señales de las concentraciones de antígeno en solución se analizaron con un análisis de ajuste de 4 parámetros usando el *software* Prism" (Graph Pad) y se describió como CI_{50} . También se llevó a cabo un inmunoensayo de competición usando un instrumento Kinexa™ en fase de solución estable (Sapidyne Inc.).

Los resultados se muestran en la Tabla 1 (control: anticuerpo monoclonal humanizado contra IL-6R humano (Patente de Estados Unidos N° 5.817.790 SEC ID N°: 69 y 71). Anticuerpo (secuencias de aminoácidos de HCVR y LCVR): VQ8A9-6 (3, 11); VQ8F11-21 (19, 27); VV7G4-1 (35, 43); VV7G4-10 (51, 59), VV6C10-1 (67, 75); VV6C10-3 (83, 91); VV6C10-4 (99, 107); W6F12-11 (115, 123); VV9A6-11 (131, 139); W6A9-5 (147, 155), VV3D8-4 (163, 171); VV1G4-7 (179, 187); 248982-13-1-E5 (195, 203); 248982-13-2-A9 (211, 219). La K_D de monómero y dímero se determinó por BIAcore™; la K_D en solución por Kinexa™; la CI_{50} por ensayos de ELISA (n.d. = no determinada).

Tabla 1. Afinidad de unión a antígeno

Anticuerpo	K_D Monómero (nM)	K_D Dímero (nM)	K_D Monómero en solución (nM)	ELISA CI_{50} Dímero (nM)
VQ8A9-6	0,222	0,101	0,120	0,004
VQ8F11-21	0,067	0,023	0,009	0,008
VV3D8-4	2,410	0,172	1,910	0,013
VV6A9-5	0,097	0,146	0,032	0,005
VV1G4-7	0,225	0,070	0,197	0,041
VV6C10-1	0,267	0,032	2,050	0,010
VV6F12-11	n.d.	n.d.	n.d.	0,033
VV7G4.10	n.d.	n.d.	n.d.	1,980
VV9A6-11	n.d.	n.d.	n.d.	0,347
VV6C10-3	n.d.	n.d.	n.d.	0,009
248982-13-1-E5	0,987	0,785	n.d.	0,360
248982-13-2-A9	2,870	n.d.	n.d.	0,054

Anticuerpo	K _d Monómero (nM)	K _d Dímero (nM)	K _d Monómero en solución (nM)	ELISA CI ₅₀ Dímero (nM)
Control	1,790	n.d.	1,960	n.d.

Ejemplo 4. Neutralización de la actividad de hIL-6

5 Las actividades de bloqueo de hIL-6 de los anticuerpos anti-hIL-6R de la invención se exploraron mediante inmunoensayos de bloqueo de hIL-6, bioensayos de crecimiento celular dependiente de hIL-6 *in vitro* y resonancia de plasmón superficial (BIAcore™). El inmunoensayo se usó para explorar la capacidad del anticuerpo ensayado para bloquear la unión de hIL-6 a hIL-6R, y el bioensayo *in vitro* se usó para determinar la potencia de los anticuerpos en la neutralización de la transducción de señales celulares mediada por hIL-6R.

10 Para el inmunoensayo, se recubrió proteína recombinante hIL-6 sobre una placa de 96 pocillos en tampón PBS durante una noche a 4°C. Esta placa se usó para capturar el hIL-6R-hFc libre de soluciones de muestra de anticuerpo, y la cantidad de hIL-6R-hFc capturado se cuantificó de acuerdo con la curva patrón. Las soluciones de muestra estaban compuestas por una cantidad constante de proteína recombinante hIL-6R-hFc (100 pM) y cantidades variables de anticuerpo, en medio acondicionado de hibridoma bruto o como proteína de anticuerpo purificada, que varían de 0 a aproximadamente 50 nM en diluciones seriadas. Las mezclas de antígeno-anticuerpo se incubaron a temperatura ambiente durante ~2 horas para permitir que la unión de antígeno-anticuerpo alcance el equilibrio. Las soluciones de muestra equilibradas se transfirieron después a las placas recubiertas con hIL-6 para la medición del hIL-6R-hFc libre. Después de 1 hora de unión, la placa se lavó y el hIL-6R-hFc unido se detectó usando anticuerpos policlonales de cabra anti-hFc conjugados con HRP (Jackson Immuno Research), y se reveló usando sustrato de TMB (BD Pharmigen). Las CI₅₀ se determinaron como la cantidad de anticuerpo necesaria para reducir el 50% del IL-6R-hFc detectable contra ligando hIL-6 unido a placa. Los resultados se muestran en la primera columna de la Tabla 2.

25 Además, la capacidad del anticuerpo de ensayo para bloquear la unión de hIL-6 al receptor hIL-6R se determinó usando resonancia de plasmón superficial. Las moléculas de antígeno hIL-6R-hFc purificadas se capturaron mediante anticuerpos policlonales de cabra anti-IgG humana inmovilizados en la superficie de CM-5 a través de acoplamiento con amina a una densidad de 250 UR. La solución de hIL-6 (0,25 ml, 50 nM) se inyectó sobre la superficie de receptor y se registró la hIL-6 unida (primera inyección de IL-6). Después, la hIL-6 unida se eliminó con una estimulación de MgCl₂ 3 M, seguida de tampón de acondicionamiento. El anticuerpo anti-hIL6R en medio acondicionado de hibridoma se inyectó sobre la superficie de receptor capturado, seguido de una segunda inyección de hIL-6. El porcentaje de reducción en la unión de hIL-6 resultante a partir de complejo de anticuerpo y receptor preformado se usó como una puntuación para definir los bloqueantes de hIL-6 de los no bloqueantes (segunda columna, Tabla 2).

35 **Tabla 2. Neutralización de la unión de hIL-6**

Anticuerpo	CI ₅₀ Inhibición de la unión de hIL6R/hIL6 (nM)	Inhibición de la unión de hIL6/hIL6R (%)	CI ₅₀ Inhibición de la proliferación celular de XG-1 (nM)	CI ₅₀ actividad luciferasa de HepG2/Stat3 (nM)
VQ8A9-6	0,39	68	0,40	0,097
VQ8F11-21	0,12	98	0,62	0,135
VV3D8-4	0,61	93	>100	n.d.
VV6A9-5	0,35	100	1,10	0,188
VV1G4-7	1,10	34	1,80	0,578
VV6C10-1	4,60	61	>6,90	n.d.
VV6F12-11	2,20	n.d.	n.d.	n.d.
VV7G4-10	13,00	n.d.	n.d.	n.d.
VV9A6-11	0,50	n.d.	n.d.	n.d.
VV6C10-3	0,06	n.d.	n.d.	n.d.
Control	2,20	91	1,50	0,854

40 La capacidad de los anticuerpos de hIL-6R para bloquear la actividad de hIL-6 *in vitro* se midió en la línea de mieloma dependiente de hIL-6 XG-1. Células XG-1 mantenidas en medio que contenía hIL-6 se lavaron dos veces con medio sin hIL-6 y se cultivaron durante ~24 horas en medio sin hIL-6 para reducir la hIL-6 residual. Las células privadas de suero se centrifugaron después y se resuspendieron en el medio a 4×10^5 células por ml, y se

sembraron en placas 20.000 células por pocillo en una placa de cultivo de tejidos de 96 pocillos. Las proteínas de anticuerpo purificadas se diluyeron en serie en medio y se añadieron a las células sembradas en placas a concentraciones que variaban de 0 a 50 nM. Posteriormente, se añadió hIL-6 recombinante a los pocillos a una concentración final de 8 pM. Se dejó que las células crecieran durante ~72 horas a 37°C en una incubadora humidificada de CO₂ al 5%. Al final del periodo de crecimiento, se midieron las células vivas usando el kit CCK-8 (Dojindo, Japón). Las CI₅₀ se determinaron como se ha descrito anteriormente, y se describen en la tercera columna de la Tabla 2.

La capacidad de los anticuerpos de hIL-6R para bloquear la actividad de hIL-6 también se midió *in vitro* en la línea celular de hepatoma humano sensible a hIL-6, HepG2. Las células HepG2 se transfectaron con un plásmido indicador que contenía un elemento de respuesta STAT3 (transductor de señales y activador de la transcripción 3) unido a un gen de luciferasa. Las células transfectadas se trataron con tripsina, se centrifugaron y se resuspendieron en el medio a aproximadamente 2,5 x 10⁵ células por ml y se sembraron en placas a 20.000 células por pocillo en una placa de cultivo de tejidos de 96 pocillos. Las proteínas de anticuerpo purificadas se diluyeron en serie en medio y se añadieron a las células sembradas en placas a concentraciones que variaban de 0 a 100 nM. Posteriormente, se añadió hIL-6 recombinante a los pocillos a una concentración final de 50 pM. La respuesta se midió después de incubar las células durante 6 horas a 37°C en una incubadora humidificada de CO₂ al 5%. La actividad de luciferasa se midió con el sistema de ensayo de luciferasa Steady-Glo™ (Promega). Las CI₅₀ se determinaron como se ha descrito anteriormente, y se describen en la cuarta columna de la Tabla 2.

Ejemplo 5. Diversidad de epítomos de unión

Se realizó un inmunoensayo de competición de unión a anticuerpo usando como control anticuerpo humanizado contra IL-6R humano. En resumen, se recubrió una placa inmunoabsorbente de 96 pocillos con 20 ng por pocillo de proteína recombinante hIL-6R durante una noche a 4°C. Después de bloquear la unión inespecífica con BSA, los sitios de unión de hIL-6R en una mitad de la placa se saturaron con unión del anticuerpo de control por adición de 500 ng del control por pocillo, y a la otra mitad de la placa se añadió tampón de unión solamente. Después de una unión de tres horas a temperatura ambiente, se adicionaron los anticuerpos purificados a una concentración final de 50 ng/ml con y sin el anticuerpo de control preexistente en el pocillo. Después de una hora de unión adicional, el anticuerpo libre se eliminó por lavado y el anticuerpo unido a la placa se detectó con anticuerpo policlonal de cabra anti-IgG o IgA de ratón conjugado con HRP y la placa se reveló usando sustratos cromáticos de HRP, y se registró la absorbancia a 450 nm. Las deducciones en porcentaje de la unión de los anticuerpos anti-hIL6R por la presencia del anticuerpo de control se enumeran en la Tabla 3 a continuación. Se realizó un experimento similar usando la tecnología de resonancia de plasmón superficial (Tabla 3). Ambos métodos generaban resultados coherentes. Los anticuerpos VQ8F11, VV3D8, VV6A9, VV6C10-1 se unían a epítomos que solapaban con el anticuerpo de control; mientras que los anticuerpos VQ8A9, VV1G4, VV6F12, VV7G4, VV9A6 y VV6C10-3 parecían unirse a epítomos distintos ya que la unión a antígeno no se bloqueaba por el anticuerpo de control. La competición parcial puede ser el resultado del impedimento estérico del primer anticuerpo unido, aun cuando los epítomos puedan no ser solapantes.

Tabla 3. Competición de la unión a antígeno con anticuerpo de control

Anticuerpo	BIAcore™ (% reducción)	Inmunoensayo (% reducción)
VQ8A9-6	26	3
VQ8F11-21	96	79
VV3D8-4	97	84
VV6A9-5	96	84
VV1G4-7	12	3
VV6C10-1	90	80
VV6F12-11	n.d.	3
VV7G4-10	n.d.	26
VV9A6-11	n.d.	18
VV6C10-3	n.d.	1

Ejemplo 6. Propiedad de unión cruzada entre especies

Se ensayaron cuatro anticuerpos para determinar la reactividad cruzada con proteína recombinante IL-6R de mono usando la tecnología de BIAcore™. En resumen, se usó una microplaca biodetectora sobre la que se inmovilizó anticuerpo policlonal de cabra anti-Fc de ratón para presentar anticuerpos monoclonales anti-hIL-6R a una densidad

de aproximadamente 75 UR. Se inyectó proteína IL-6R humana recombinante o monomérica de mono (*Macaca fascicularis*, dominio extracelular; SEC ID N°: 251), a un intervalo de concentraciones entre 1,25-40 nM, sobre la superficie de anticuerpo. La unión del receptor al anticuerpo y la disociación del complejo unido se controlaron a tiempo real. Se obtuvo tanto la constante de velocidad de asociación (k_a) como la constante de velocidad de disociación (k_d) y se calculó la K_D (Tabla 4).

Tabla 4. Comparación de la afinidad de unión a IL-6R humano y de mono

Anticuerpo	Antígeno	k_a ($M^{-1}S^{-1}$)	k_d (S^{-1})	K_d (nM)
Control	IL6R humano	1,74E+05	1,67E-04	0,963
	IL6R de mono	1,44E+05	1,68E-04	1,170
VQ8F11-21	IL6R humano	8,51 E+05	4,38E-05	0,051
	IL6R de mono	3,39E+05	4,86E-05	0,143
VV1G4-7	IL6R humano	2,57E+05	6,18E-05	0,240
	IL6R de mono	no unión		
VV6A9-5	IL6R humano	5,18E+05	8,41 E-05	0,162
	IL6R de mono	5,00E+05	7,70E-05	0,154
VQ8A9-6	IL6R humano	7,32E+05	2,76E-04	0,377
	IL6R de mono	7,31E+05	4,16E-04	0,569

Entre los cuatro anticuerpos ensayados, VQ8F11, VV6A9 y VQ8A9 reaccionaban fuertemente con el receptor de mono con valores de K_D que diferían en hasta de aproximadamente 1,5 a aproximadamente 3 veces de la unión a receptor humano, respectivamente. VV1G4, que no se bloqueaba por el anticuerpo de control (Tabla 3), no mostraba unión al receptor de mono a pesar de la fuerte unión al receptor humano con una K_D de 241 pM.

Ejemplo 7. Efecto de la región constante sobre la afinidad de unión

La afinidad de unión a hIL-6R monomérico de cuatro anticuerpos que tenían IgG de ratón, IgG1 humana o IgG4 humana (de tipo silvestre y modificados) se determinó usando BIAcore™ como se ha descrito anteriormente, excepto por que se usó una superficie de anticuerpo policlonal de cabra anti-Fc humana para capturar anticuerpos hIgG. Se inyectó hIL-6R monomérico a concentraciones de 12,5, 6,25, 3,12 y 1,56 nM. La capacidad de los anticuerpos para neutralizar la transducción de señales de HepG2/STAT3 dependiente de hIL-6 también se determinó en un ensayo de luciferasa (CI_{50}). Las CI_{50} para diferentes isotipos de IgG eran similares, sugiriendo la ausencia de efecto del isotipo sobre la afinidad del anticuerpo por el antígeno.

Tabla 5. Comparación de isotipos de IgG

Anticuerpo	IgG	k_a ($M^{-1}S^{-1}$)	k_d (S^{-1})	K_d (nM)	CI_{50} (nM)
VQ8F11-21	hIgG1	6,22E+05	4,54E-05	0,073	0,150
	hIgG4	7,17E+05	5,22E-05	0,073	0,228
	mIgG2a	7,86E+05	5,27E-05	0,067	0,135
	modhIgG4	8,81E+05	4,705E-05	0,053	0,249
VQ8A9-6	hIgG1	1,09E+06	2,60E-04	0,238	0,130
	hIgG4	1,17E+06	2,35E-04	0,201	0,185
	mIgG1	9,95E+05	2,21 E-04	0,222	0,097
VV6A9-5	hIgG1	7,12E+05	8,87E-05	0,125	0,204
	hIgG4	5,67E+05	7,64E-05	0,135	0,343
	mIgG2a	7,72E+05	7,52E-05	0,097	0,188
VQ1G4-21	hIgG1	3,34E+05	7,92E-05	0,237	0,767
	hIgG4	2,73E+05	9,18E-05	0,336	0,528
	mIgG2a	3,41E+05	7,66E-05	0,225	0,578

Aspectos de la divulgación

Lo que se indica a continuación son aspectos de la divulgación:

- 5 (1) Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente al receptor de interleucina 6 humano (hIL-6R) con una K_D de aproximadamente 500 pM o menor, y 300 pM o menor, según se mide por resonancia de plasmón superficial.
- 10 (2) Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con (1) que se une al hIL-6R con una afinidad al menos 2 veces mayor con respecto a su unión al IL-6R de mono.
- 15 (3) Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con (1) o (2), que comprende un dominio de región determinante de complementariedad 3 (CDR3) de cadena pesada y un dominio CDR3 de cadena ligera, en el que
- el dominio CDR3 de cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos de fórmula $X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6 - X^7 - X^8 - X^9 - X^{10} - X^{11} - X^{12} - X^{13} - X^{14} - X^{15} - X^{16} - X^{17} - X^{18} - X^{19}$ (SEC ID N°: 247) en la que $X^1 = \text{Ala}$, $X^2 = \text{Lys}$, $X^3 = \text{Gly}$, $X^4 = \text{Arg}$, $X^5 = \text{Asp}$, $X^6 = \text{Ser}$ o Ala , $X^7 = \text{Phe}$, $X^8 = \text{Asp}$; $X^9 = \text{Ile}$, $X^{10} = \text{Pro}$ o ausente, $X^{11} = \text{Phe}$ o ausente, $X^{12} = \text{Val}$ o ausente, $X^{13} = \text{Tyr}$ o ausente, $X^{14} = \text{Tyr}$ o ausente, $X^{15} = \text{Tyr}$ o ausente, $X^{16} = \text{Gly}$ o ausente, $X^{17} = \text{Met}$ o ausente, $X^{18} = \text{Asp}$ o ausente y $X^{19} = \text{Val}$ o ausente; y
- 20 el dominio CDR3 de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos de fórmula $X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6 - X^7 - X^8 - X^9$ (SEC ID N°: 250) en la que $X^1 = \text{Gln}$, $X^2 = \text{Gln}$ o His , $X^3 = \text{Ala}$, $X^4 = \text{Asn}$ o Tyr , $X^5 = \text{Ser}$, $X^6 = \text{Phe}$, $X^7 = \text{Pro}$, $X^8 = \text{Pro}$ y $X^9 = \text{Thr}$.
- 25 (4) Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con (3), que adicionalmente comprende un dominio CDR1 de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de fórmula $X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6 - X^7 - X^8$ (SEC ID N°: 245) en la que $X^1 = \text{Gly}$ o Arg , $X^2 = \text{Phe}$, $X^3 = \text{Thr}$, $X^4 = \text{Phe}$, $X^5 = \text{Asp}$, $X^6 = \text{Asp}$, $X^7 = \text{Tyr}$ y $X^8 = \text{Ala}$; un dominio CDR2 de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de fórmula $X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6 - X^7 - X^8$ (SEC ID N°: 246) en la que $X^1 = \text{Ile}$ o Val , $X^2 = \text{Ser}$, $X^3 = \text{Trp}$, $X^4 = \text{Asn}$, $X^5 = \text{Ser}$, $X^6 = \text{Gly}$, $X^7 = \text{Ser}$ y $X^8 = \text{Ile}$;
- 30 un dominio CDR1 de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de fórmula $X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6 - X^7 - X^8$ (SEC ID N°: 248), en la que $X^1 = \text{Gln}$, $X^2 = \text{Gly}$, $X^3 = \text{Ile}$, $X^4 = \text{Ser}$, $X^5 = \text{Ser}$ y $X^6 = \text{Trp}$; y un dominio CDR2 de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de fórmula $X^1 - X^2 - X^3$ (SEC ID N°: 249), en la que $X^1 = \text{Gly}$ o Ala , $X^2 = \text{Ala}$ y $X^3 = \text{Ser}$.
- 35 (5) Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con (1) o (2), que comprende:
- un dominio CDR3 de cadena pesada seleccionado del grupo que consiste en las SEC ID N°: 25, 153, 9, 185, 41, 57, 73, 89, 105, 121, 137, 169, 201 y 217; y
- 40 un dominio CDR3 de cadena ligera seleccionado del grupo que consiste en las SEC ID N°: 33, 161, 17, 193, 49, 65, 81, 97, 113, 129, 145, 177, 209 y 225.
- (6) Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con (5), que adicionalmente comprende:
- 45 un dominio CDR1 de cadena pesada seleccionado del grupo que consiste en las SEC ID N°: 21, 149, 5, 181, 37, 53, 69, 85, 101, 117, 133, 165, 197 y 213;
- un dominio CDR2 de cadena pesada seleccionado del grupo que consiste en las SEC ID N°: 23, 151, 7, 183, 39, 55, 71, 87, 103, 119, 135, 167, 199 y 215;
- 50 un dominio CDR1 de cadena ligera seleccionado del grupo que consiste en las SEC ID N°: 29, 157, 13, 189, 45, 61, 77, 93, 109, 125, 141, 173, 205 y 221; y un dominio CDR2 de cadena ligera seleccionado del grupo que consiste en las SEC ID N°: 31, 159, 15, 191, 47, 63, 79, 95, 111, 127, 143, 175, 207 y 223.
- (7) Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con (5) o (6), en el que las CDR de cadena pesada y las CDR de cadena ligera comprenden
- 55 las SEC ID N°: 21, 23, 25 y las SEC ID N°: 29, 31, 33;
- las SEC ID N°: 149, 151, 153 y las SEC ID N°: 157, 159, 161;
- las SEC ID N°: 5, 7, 9 y las SEC ID N°: 13, 15, 17; y
- las SEC ID N°: 181, 183, 185 y las SEC ID N°: 189, 191, 193, respectivamente.
- 60 (8) Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con (1) o (2), que comprende una región variable de cadena pesada (HCVR) seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 19, 47, 3, 179, 227, 231, 35, 51, 67, 83, 99, 115, 131, 239, 241, 163, 235, 195 y 211; y una región variable de cadena ligera (LCVR) seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID N°: 27, 155, 11, 187, 229, 233, 43, 59, 75, 91, 107, 123, 139, 171, 237, 203 y 219.
- 65

- (9) Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con (8), que comprende los de pares HCVR/LCVR seleccionados del grupo que consiste en las SEC ID N°: 19/27; 147/155; 3/11; 179/187; 227/229; 231/233; 35/43; 51/59; 67/75; 83/91; 99/107; 115/123; 131/139; 239/155; 241/155; 163/171; 235/237; 195/203 y 211/219.
- 5 (10) Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de acuerdo con una cualquiera de (1) a (9).
- (11) Un vector que comprende la secuencia de nucleótidos de acuerdo con (10).
- 10 (12) Un sistema vector - hospedador para la producción de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo que se une específicamente al receptor de IL-6 humano que comprende un vector de acuerdo con (11), en una célula huésped adecuada.
- 15 (13) Un sistema vector - hospedador de acuerdo con (12), en el que la célula hospedadora es una célula procariota o eucariota seleccionada de una célula de *E. coli* o una célula CHO.
- (14) Un método para producir un anticuerpo anti-IL-6R o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende cultivar células de un sistema vector - hospedador de acuerdo con (12) o (13) en condiciones que permitan la producción del anticuerpo o fragmento del mismo y recuperar el anticuerpo o fragmento así producido.
- 20 (15) El uso de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de (1) to (9) en la preparación de un medicamento para su uso para atenuar o inhibir una enfermedad o un trastorno mediado por IL-6 en un ser humano.
- 25 (16) Un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de (1) a (9) para su uso en la atenuación o inhibición de una enfermedad o trastorno mediado por IL-6 en un ser humano.
- 30 (17) Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de (1) a (9) y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- (18) Un método para atenuar o inhibir una enfermedad o un trastorno mediado por IL-6 en un paciente humano, comprendiendo el método administrar a un paciente humano una cantidad eficaz de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de (1) a (9).
- 35 (19) Un método de acuerdo con (18), en el que la enfermedad o trastorno mediado por IL-6 es artritis, tal como artritis reumatoide crónica; una enfermedad inflamatoria del intestino, tal como enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa; o lupus eritematoso sistémico.
- 40

Listado de secuencias

- 45 <110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.
- <120> Anticuerpos de alta afinidad contra el receptor de IL-6 humano
- <130> 6010A-WO
- 50 <140> A asignar
<141> 01-06-2007
- <150> 60/810.664
- 55 <151> 02-06-2006
<150> 60/843.232
- <151> 08-09-2006
- 60 <160> 251
- <170> FastSEQ para Windows Versión 4.0
- 65 <210> 1
<211> 358
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

5 <400> 1

```

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

```

```

      260      265      270
Leu Gln His His Cys Val Ile His Asp Ala Trp Ser Gly Leu Arg His
      275      280      285
Val Val Gln Leu Arg Ala Gln Glu Glu Phe Gly Gln Gly Glu Trp Ser
      290      295      300
Glu Trp Ser Pro Glu Ala Met Gly Thr Pro Trp Thr Glu Ser Arg Ser
305      310      315      320
Pro Pro Ala Glu Asn Glu Val Ser Thr Pro Met Gln Ala Leu Thr Thr
      325      330      335
Asn Lys Asp Asp Asp Asn Ile Leu Phe Arg Asp Ser Ala Asn Ala Thr
      340      345      350
Ser Leu Pro Val Gln Asp
      355

```

<210> 2

10 <211> 379

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Sintético

<400> 2

```

gaagtgcagc  tggtaggagtc  tgggggaaac  ttggtacagc  ctggcaggtc  cctgagactc  60
tctctgtcag  cctctggatt  catctttgat  gattatgcca  tgcactgggt  ccggcaagct  120
ccaggggaagg  gcctggagtg  ggtctcaggt  attagttgga  atagtggtag  cataggctat  180
gctggactctg  tgaagggccg  attcaccate  tccagagaca  acgccaagea  ctccctgtat  240
ctgcaaatga  acagtctgag  agctgaggac  acggccttgt  attactgtgc  aaaagatgga  300
ggcagcagct  ggttacgggt  cgtctactac  tacggtatgg  acgtctgggg  ccaagggacc  360
acggtcaccg  tctcgtcag                                     379
    
```

<210> 3
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Sintético

10

<400> 3

```

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

<210> 4
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Sintético

20

<400> 4
 ggattcatct ttgatgatta tgcc 24

25

<210> 5
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> Sintético

<400> 5

Gly Phe Ile Phe Asp Asp Tyr Ala
 1 5

35

<210> 6
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223> Sintético

ES 2 398 076 T3

<400> 6
 attagttgga atagtgtag cata 24

5 <210> 7
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 7

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile
1 5

15 <210> 8
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 8

25 gcaaaagatg gaggcagcag ctggtaccg ttcgtctact actacggtat ggacgtc 57

<210> 9
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 9

Ala Lys Asp Gly Gly Ser Ser Trp Leu Pro Phe Val Tyr Tyr Tyr Gly

1 5 10 15
Met Asp Val

<210> 10
 <211> 325
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Sintético

45 <400> 11

gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctcccgggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtattagc agcaactttg cctggtacca gcagaaacct 120
ggccaggcte ccaggctect catctatggt gcattcacca gggccactgg tatcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggte tgggacagac ttcactctca ccatacagcag cctgcagtc 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tatagtagct ggccctccgta cacttttggc 300
caggggacca agctggagat caaac 325

50 <210> 11
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 11

```

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

5

<210> 12
<211> 18
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Sintético

15

<400> 12
cagagtatta gcagcaac 18

<210> 13
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20

<220>
<223> Sintético

25

<400> 13

```

Gln Ser Ile Ser Ser Asn
 1           5
    
```

30

<210> 14
<211> 9
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

35

<220>
<223> Sintético

<400> 14
ggtgcatcc 9

40

<210> 15
<211> 3
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45

<220>
<223> Sintético

<400> 15

50

Gly Ala Ser
1

5 <210> 16
<211> 30
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 16
cagcagtata gtagctggcc tccgtacact 30

15 <210> 17
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 17

Gln Gln Tyr Ser Ser Trp Pro Pro Tyr Thr
1 5 10

25 <210> 18
<211> 349
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 18

gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc ttgggttcagc ctggcaggtc cctgagactc 60

tccctgtgcag cctctagatt tacctttgat gattatgcca tgcactgggt ccggcaagct 120
ccaggggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag aataggttat 180
gggactctg tgaagggcgg attcaccate tccagagaca acgccgagaa ctccctcttt 240
ctgcaaatga acggtctgag agcagaggac acggccttgt attactgtgc aaaaggccga 300
gattcttttg atatctgggg ccaagggaca atggtcaccg tctcttcag 349

40 <210> 19
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 19

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

5 <210> 20
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético
 10 <400> 20
 agattacct ttgatgatta tgcc 24

15 <210> 21
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético
 <400> 21

Arg Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
1 5

25 <210> 22
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 22
 attagttgga atagtgtag aata 24

40 <210> 23
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 23

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile
1 5

5
 <210> 24
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

10
 <400> 24
 gcaaaaggcc gagattctt tgatc 27

15
 <210> 25
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

20
 <400> 25

Ala Lys Gly Arg Asp Ser Phe Asp Ile
 1 5

25
 <210> 26
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30
 <220>
 <223> Sintético

<400> 26

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc gggattagc agctggtag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatggg gcattccagtt tggaaagtgg ggtcccatea 180
aggttcagcg gcagtgatc tgggacagat ttcactctca ccacagcag cotgcagcet 240
gaagattttg caagttatta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgtaac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa ac 322
    
```

35
 <210> 27
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 27

```

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

ES 2 398 076 T3

5
 <210> 28
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 10
 <400> 28
 cagggtatta gcagctgg 18
 <210> 29
 <211> 6
 <212> PRT
 15
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 20
 <400> 29

Gln Gly Ile Ser Ser Trp
1 5

25
 <210> 30
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 30
 ggtgcatcc 9
 35
 <210> 31
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 31

Gly Ala Ser
1

45
 <210> 32
 <211> 27
 <212> ADN
 50
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 55
 <400> 32
 caacaggcta acagttccc gtacact 27
 <210> 33
 <211> 9
 <212> PRT
 60
 <213> Secuencia artificial
 <220>

<223> Sintético

<400> 33

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Tyr Thr
1 5

5

<210> 34

<211> 370

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

15

<400> 34

```

caggttcagc tggtgcaagc tggagctgag ctgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctgggta cacttttacc cattatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgett acaatgatga cacaaactat 180
gcacagaagt tccaggggag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggcggttt attactgtgc gagagaagcg 300
cagctcgtcc tctactacta ctacggtatg gacgtctggg gcccaaggac cacggtcacc 360
gtctcctcag                                     370
    
```

<210> 35

20 <211> 123

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Sintético

<400> 35

```

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

```

Ala Arg Glu Ala Gln Leu Val Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
      100      105      110
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
      115      120
    
```

<210> 36

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Sintético

<400> 36 24

ggttacactt ttaccatta tggc 24

40

ES 2 398 076 T3

5 <210> 37
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

10 <400> 37

Gly Tyr Thr Phe Thr His Tyr Gly
1 5

15 <210> 38
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

20 <400> 38 24
 atcagcgctt acaatgatga caca 24

25 <210> 39
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

<400> 39

Ile Ser Ala Tyr Asn Asp Asp Thr
1 5

35 <210> 40
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Sintético

45 <400> 40
 gcgagagaag cgcagctcgt cctctactac tactacggta tggacgtc 48

<210> 41
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Sintético

55 <400> 41

Ala Arg Glu Ala Gln Leu Val Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

60 <210> 42
 <211> 322
 <212> ADN

ES 2 398 076 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

5

<400> 42

```

gaaattgtgt tgacacagtc tocagcoacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcttcttag cctggaacca acagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180
aggttcagtg ccagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240
gaagattttg cagtttatta ctgccagcag cgtaacaatt ggccgtacat ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcag ac 322

```

10

<210> 43

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Sintético

<400> 43

```

.....
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 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Phe
20 25 30
Leu Ala Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asn Asn Trp Pro Tyr
85 90 95
Ile Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Arg
100 105

```

20

<210> 44

<211> 18

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Sintético

<400> 44

30

cagagtgtta gcagcttc 18

<210> 45

<211> 6

<212> PRT

35

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

40

<400> 45

```

Gln Ser Val Ser Ser Phe
1 5

```

45

<210> 46

<211> 9

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

5 <400> 46
 gatgcatcc 9

<210> 47
 <211> 3
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

15 <400> 47

Asp Ala Ser
1

20 <210> 48
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Sintético

30 <400> 48
 cagcagcgta acaattggcc gtacatt 27

<210> 49
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Sintético

40 <400> 49

Gln Gln Arg Asn Asn Trp Pro Tyr Ile
1 5

45 <210> 50
 <211> 370
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Sintético

<400> 50

```

caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcttgcaagg cttctgggta cacctttacc agttatggta tcagctgggt ggcacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatgatga cacaaactat 180
gcacagaagt tccaggggag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccggtt attactgtgc gagagaagcg 300
cagctcgtcc tctactacta ctacggtatg gacgtctggg gcccaagggac cacggtcacc 360
gtctcctcag                                     370
    
```

55 <210> 51
 <211> 123

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Sintético

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

10 <210> 52
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Sintético

<400> 52
 gggtacacct ttaccagtta tggg 24

20 <210> 53
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Sintético

30 <400> 53

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly

1 5

35 <210> 54
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Sintético

<400> 54
 atcagcgctt acaatgatga caca 24

45 <210> 55
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

ES 2 398 076 T3

<220>
 <223> Sintético

5 <400> 55

Ile Ser Ala Tyr Asn Asp Asp Thr
1 5

<210> 56
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

15 <400> 56
 gcgagagaag cgcagctcgt cctctactac tactacggta tggacgtc 48

20 <210> 57
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Sintético

<400> 57

Ala Arg Glu Ala Gln Leu Val Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

30 <210> 58
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Sintético

40 <400> 58

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc agcttcttag cctggaacca acagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240

gaagattttg cagtttatta ctgccagcag cgtagcaatt ggccgtacac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa ac 322

45 <210> 59
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Sintético

<400> 59

```

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 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Phe
           20           25           30
Leu Ala Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
           35           40           45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
           50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65           70           75           80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Tyr
           85           90           95
Ile Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
           100           105
    
```

5 <210> 60
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 60
 cagagtgtta gcagcttc 18

15 <210> 61
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 61

```

-----
Gln Ser Val Ser Ser Phe
 1           5
    
```

25 <210> 62
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 62
 gatgcatcc 9

40 <210> 63
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

```

Asp Ala Ser
 1
    
```

45 <210> 64
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

ES 2 398 076 T3

<220>
 <223> Sintético

5 <400> 64
 cagcagcgta gcaattggcc gtacatt 27

10 <210> 65
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Sintético

<400> 65

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Tyr Ile
1 5

20 <210> 66
 <211> 349
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Sintético

<400> 66

```

gaagtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagacte 60
tctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgccc tgcactgggt ccggcaaget 120
ccaggaagg gcctggagtg ggtctcaggt gttagttgga atggtggtag aataggctat 180
gcggactctg tgaaggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctcttt 240
ctgcaaatga acagtctgag agttgaggac adggccttgt attattgtgc aaaaggccgg 300
gatgcttttg atatctgggg ccaagggaca ttggtcaccg tetcttcag 349
  
```

30 <210> 67
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Sintético

40 <400> 67

```

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr

```

20 25 30

```

Ala Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Val Ser Trp Asn Gly Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Gly Arg Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser 115
  
```

5
 <210> 68
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 10
 <400> 68
 ggattcacct ttgatgatta tgcc 24
 <210> 69
 <211> 8
 <212> PRT
 15
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 20
 <400> 69

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
1 5

25
 <210> 70
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 70
 gttagttgga atggtgtag aata 24
 35
 <210> 71
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 71

Val Ser Trp Asn Gly Gly Arg Ile
1 5

45
 <210> 72
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223> Sintético
 55
 <400> 72
 gcaaaaggcc gggatgcttt tgatac 27
 60
 <210> 73
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

ES 2 398 076 T3

<220>
<223> Sintético

<400> 73

5

Ala Lys Gly Arg Asp Ala Phe Asp Ile
1 5

<210> 74
<211> 325
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Sintético

15

<400> 74

```

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc agttacttag cctgggtacca acagaaacct 120
ggccaggtgc ccaggctcct catctatgat gcaccaaca gggccactgg catcccagcc 180
aggttcagtg gcagtggtgc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240
gaagattttg cattttatta ctgtcagcag cgtaacaacc ggccctccatt cactttcggc 300
cctgggacca aagtggatgt cagac 325
    
```

20

<210> 75
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25

<220>
<223> Sintético

<400> 75

```

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 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Phe Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asn Asn Arg Pro Pro
85 90 95
Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp val Arg
100 105
    
```

30

<210> 76
<211> 18
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

35

<220>
<223> Sintético

<400> 76
cagagtgtta gcagttac 18

40

<210> 77
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45

ES 2 398 076 T3

<220>
 <223> Sintético

 <400> 77
 5

Gln Ser Val Ser Ser Tyr
1 5

 <210> 78
 <211> 9
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético
 15
 <400> 78
 gatgcatcc 9

 <210> 79
 20 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 25 <223> Sintético

 <400> 79

Asp Ala Ser
1
 30
 <210> 80
 <211> 30
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético

 <400> 80
 40 cagcagcgta acaaccggcc tccattcact 30

 <210> 81
 <211> 10
 <212> PRT
 45 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético

 <400> 81
 50

Gln Gln Arg Asn Asn Arg Pro Pro Phe Thr
1 5 10

 <210> 82
 <211> 370
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético
 60

<400> 82

```

caggttcage tggtagcagc tggagctgag gtgaagaage ctggggcctc agtgaaggtc 50
tcctgtaagg cttctgggtt caacttcttt cattatggta tcacctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcactt acaatgggta cacaatctat 180
gcacagaagg tccagggcag agtcaccatg accacagaca cagccacgag cacggcctat 240
atggaactga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagatcggaa 300
cagcaggtgg actactactt ctacggtatg gacgtctggg gcccaaggac cacggtcacc 360
gtttcctcag
    
```

5 <210> 83
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 83

```

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

15 <210> 84
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

25 <400> 84
 ggtttcaact tcttcatta tggg 24

<210> 85
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

35 <400> 85

```

Gly Phe Asn Phe Phe His Tyr Gly
 1          5
    
```

40 <210> 86
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

ES 2 398 076 T3

<220>
 <223> Sintético
 <400> 86
 5 atcagcactt acaatggtga caca 24

<210> 87
 <211> 8
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético
 15 <400> 87

Ile Ser Thr Tyr Asn Gly Asp Thr
 1 5

<210> 88
 <211> 48
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético
 25 <400> 88
 gcgagatcgg aacagcaggt ggactactac ttctacggta tggacgtc 48

<210> 89
 <211> 16
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético
 35 <400> 89

Ala Arg Ser Glu Gln Gln Val Asp Tyr Tyr Phe Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10 15

<210> 90
 <211> 325
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético
 50 <400> 90

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gagtgttagc agttacttag cctggtacca acagaaacct 120
ggccaggctc ccaggtcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg cateccagcc 180
aggttcagtg gcagtggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240
gaagattttg cttttatta ctgtcagcag cgtaacaacc ggcctccatt cactttcggc 300
cctgggacca aagtggatgt cagac 325

<210> 91
 <211> 108
 <212> PRT
 55 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 91

```

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 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20          25          30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35          40          45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50          55          60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65          70          75          80
Glu Asp Phe Ala Phe Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asn Asn Arg Pro Pro
 85          90          95
Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Val Arg
100          105
    
```

5

<210> 92
<211> 18
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Sintético

<400> 92
cagagtgtta gcagttac 18

15

<210> 93
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20

<220>
<223> Sintético

25

<400> 93

```

Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 1          5
    
```

30

<210> 94
<211> 9
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

35

<220>
<223> Sintético

<400> 94
gatgcatcc 9

40

<210> 95
<211> 3
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45

<220>
<223> Sintético

<400> 95

50

Asp Ala Ser
1

5 <210> 96
<211> 30
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 96
cagcagcgta acaaccggcc tccattcact 30

15 <210> 97
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 97

Gln Gln Arg Asn Asn Arg Pro Pro Phe Thr
1 5 10

25 <210> 98
<211> 370
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 98

```

caggtcagc tggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgtaagg cttctgggtt caacttcttt cattatggta tcacctgggt gegacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcactt acaatgggta cacaatctat 180
gcacagaagg tccagggcag agtcaccatg accacagaca cagccacgag cacggectat 240
atggaactga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagatcggaa 300
cagcaggtgg actactactt ctacggtatg gacgtctggg gccaagggac cacggtcacc 360
gttcctcag 370

```

40 <210> 99
<211> 123
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 99

```

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

5 <210> 100
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 100
 ggttcaact tcttcatta tggg 24

15 <210> 101
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 101

```

Gly Phe Asn Phe Phe His Tyr Gly
 1      5
    
```

25 <210> 102
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 102
 atcagcactt acaatggtga caca 24

40 <210> 103
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 103

```

Ile Ser Thr Tyr Asn Gly Asp Thr
 1      5
    
```

5
 <210> 104
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

10
 <400> 104
 gcgagatcgg aacagcaggt ggactactac ttctacggta tggacgtc 48

15
 <210> 105
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

20
 <400> 105

Ala Arg Ser Glu Gln Gln Val Asp Tyr Tyr Phe Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

25
 <210> 106
 <211> 325
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30
 <220>
 <223> Sintético

<400> 106

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtccttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctotcctgea gggccagtc gagtgtagc agttacttag cctggtacca acagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240
gaagattttg cattttatta ctgtcagcag cgtaacaacc ggcctccatt cactttoggc 300
cctgggacca aagtggatgt cagac 325

35
 <210> 107
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40
 <220>
 <223> Sintético

<400> 107

```

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 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
          20          25          30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
          35          40          45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50          55          60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65          70          75          80
Glu Asp Phe Ala Phe Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asn Asn Arg Pro Pro
          85          90          95
Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Val Arg
          100          105

```

5 <210> 108
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 108
 cagagtgta gcagttac 18

15 <210> 109
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 109

```

Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 1          5 .

```

25 <210> 110
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 110
 gatgcatcc 9

40 <210> 111
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 111

```

Asp Ala Ser
 1

```

5
 <210> 112
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético

10
 <400> 112
 cagcagcgta acaaccggcc tccattcact 30

15
 <210> 113
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

20
 <400> 113

Gln Gln Arg Asn Asn Arg Pro Pro Phe Thr
1 5 10

25
 <210> 114
 <211> 361
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30
 <220>
 <223> Sintético

<400> 114

```

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaaagagc ctggggcctc agtgaagatc 60
tcctgcaagg cttctggata caccttcacc tcttatgata tcatctgggt gcgacaggcc 120
actggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atgaacccaa acagtgggtga cagaggctat 180
acacagaacc tccagggcag agtcaccttg accagggaca cctccataag tacagtctac 240
atggaactga gcagcctgag atctgaggac acggccgtat attattgtgc gcgagactac 300
agtaaccact actacggttt ggacgtctgg ggccaagga ccacgggtcac tgtctcctca 360
g 361

```

35
 <210> 115
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40
 <220>
 <223> Sintético

<400> 115

```

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

```

5 <210> 116
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 116
 ggatacacct tcacctcta tgat 24

15 <210> 117
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 117

```

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asp
 1      5

```

25 <210> 118
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 118
 atgaacccaa acagtggga caga 24

40 <210> 119
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 119

```

Met Asn Pro Asn Ser Gly Asp Arg
 1      5

```

5 <210> 120
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

10 <400> 120
 gcgcgagact acagtaacca ctactacggt ttggacgtc 39

15 <210> 121
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

20 <400> 121

Ala Arg Asp Tyr Ser Asn His Tyr Tyr Gly Leu Asp Val
1 5 10

25 <210> 122
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

30 <400> 122

```

gacatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcaacttgct gggccagtcg ggacattagc aattatttag cctggatca gcaaaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctttggt gcattccactt tgcagagtggt ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagtag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt acccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcag ac 322
  
```

35 <210> 123
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Sintético

<400> 123

ES 2 398 076 T3

```

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

```

5 <210> 124
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 124
 caggacatta gcaattat 18

15 <210> 125
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 125

Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 1 5

25 <210> 126
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 126
 gttgcatcc 9

40 <210> 127
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 127

Val Ala Ser
 1

50 <210> 128
 <211> 30
 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

5

<400> 128

caacagttta atagttacc gctcacttc 30

<210> 129

10

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15

<223> Sintético

<400> 129

Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

20

<210> 130

<211> 370

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Sintético

<400> 130

30

```

caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tccctgcaagg cttctgggta cacctttacc agttatggta tcagctgggt ggcacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagt gatgggatgg atcagcgctt acaatgatga cacaaactat 180
gcacagaagt tccaggggag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccggtt attactgtgc gagagaagcg 300
cagctcgtcc tctactacta ctacgggatg gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc 360
gtctcctcag 370
    
```

<210> 131

<211> 123

35

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

40

<400> 131

```

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

ES 2 398 076 T3

5 <210> 132
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

10 <400> 132
 ggttacacct ttaccagta tggg 24

15 <210> 133
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

20 <400> 133

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly
1 5

25 <210> 134
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

<400> 134
 atcagcgctt acaatgatga caca 24

35 <210> 135
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Sintético

<400> 135

Ile Ser Ala Tyr Asn Asp Asp Thr
1 5

45 <210> 136
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

55 <400> 136
 gcgagagaag cgcagctcgt cctctactac tactacgga tggacgtc 48

60 <210> 137
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

5 <400> 137

Ala Arg Glu Ala Gln Leu Val Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

10 <210> 138
<211> 322
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Sintético

<400> 138

```

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gagtgttagc agcttcttag cctggaacca acagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcattccaaca gggccactgg catcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240
gaagattttg cagtttatta ctgccagcag cgtagcaatt ggccgtacat ttttggccag 300
gggaccaagc tgggatcaa ac 322
    
```

20 <210> 139
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25 <220>
<223> Sintético

<400> 139

```

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 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Phe
20 25 30
Leu Ala Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Tyr
85 90 95
Ile Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105
    
```

30 <210> 140
<211> 18
<212> ADN
35 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

40 <400> 140
cagagtgtta gcagcttc 18

<210> 141
<211> 6

45

ES 2 398 076 T3

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Sintético
 <400> 141

Gln Ser Val Ser Ser Phe
1 5

10 <210> 142
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Sintético

20 <400> 142
 gatgcatcc 9

<210> 143
 <211> 3
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

30 <400> 143

Asp Ala Ser
1

35 <210> 144
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Sintético

<400> 144
 cagcagcgta gcaattggcc gtacatt 27

45 <210> 145
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Sintético

<400> 145

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Tyr Ile
1 5

55 <210> 146
 <211> 349
 <212> ADN
 60 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 146

5

```
gaagtcagc tggtagtc tggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgccc tgcactgggt ccggcaagct 120
ccaggaagg gcctggagtg ggtctcaggt gtagttgga atggtggtag aataggctat 180
gggactctg tgaaaggcag atccaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctcttc 240
ctgcaaatga acagtctgag agttgaggac acggccttgt attattgtgc aaaaggccgg 300
gatgcttttg atatctgggg ccaagggaca ttggtcaccg tctcttcag 349
```

<210> 147
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Sintético

<400> 147

15

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

```
85          90          95
Ala Lys Gly Arg Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100          105          110
Thr Val Ser Ser
 115
```

<210> 148
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20

<220>
<223> Sintético

<400> 148
ggattcacct ttgatgatta tgcc 24

25

<210> 149
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30

<220>
<223> Sintético

<400> 149

35

```
Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
 1          5
```

40

ES 2 398 076 T3

5
 <210> 150
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 150
 gttagtggga atggtggtag aata 24

15
 <210> 151
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 151

Val Ser Trp Asn Gly Gly Arg Ile
1 5

25
 <210> 152
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 152
 gcaaaaaggcc gggatgcttt tgatatac 27

35
 <210> 153
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 153

Ala Lys Gly Arg Asp Ala Phe Asp Ile
1 5

45
 <210> 154
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 55
 <400> 154
 gacatccaga tgaccagtc tccatcttc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcaacttgtc gggcgagtc gggatttag agctggtag cctggatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaaactct gatctatgct gcatccagtt tgcaagtggt ggtcccatca 180
 aggttcageg gcagtggatc tgggacagat tccaactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttacta ttgtcaacat gcttacagtt tcccgtaac ttttggccag 300
 gggaccaagc tggagatcaa ac 322

5
 <210> 155
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

10
 <400> 155

```

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

15
 <210> 156
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

20
 <400> 156
 cagggtatta gcagctgg 18

25
 <210> 157
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30
 <220>
 <223> Sintético

<400> 157

Gln Gly Ile Ser Ser Trp
1 5

35
 <210> 158
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

40
 <400> 158
 gctgcatcc 9

45
 <210> 159
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

5 <400> 159

Ala Ala Ser
1

10 <210> 160
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Sintético

<400> 160
 caacatgctt acagttccc gtacact 27

20 <210> 161
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Sintético

<400> 161

Gln His Ala Tyr Ser Phe Pro Tyr Thr
1 5

30 <210> 162
 <211> 349
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Sintético

40 <400> 162

```

gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggagge ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcct tgcactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcagggt attagtggga acagtggtag aataggctat 180
goggactctg tgaagggccg attcaccatt tccagagaca acgccaagaa ctccctcttt 240
ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attattgtgc aaaaggccgg 300
gatgcttttg atatctgggg ccaagggaca ttggtcaccg tctcttcag 349
  
```

45 <210> 163
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Sintético

<400> 163

```

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

```

5 <210> 164
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 164
 ggattcacct ttgatgatta tgcc 24

15 <210> 165
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 165

--- ---
 Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala

1 5

25 <210> 166
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 166
 attagttgga acagtggtag aata 24

40 <210> 167
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 167

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile
 1 5

5 <210> 168
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 168
 gcaaaaggcc gggatgctt tgatac 27

15 <210> 169
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 169

Ala Lys Gly Arg Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5

25 <210> 170
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 170

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtc gggatttagc agctggttag cctgggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagecc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatacagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgtacac ttttggecag 300
 gggaccaagc tggagatcaa ac 322

40 <210> 171
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético

<400> 171

```

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

5 <210> 172
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 172
 cagggattata gcagctgg 18

15 <210> 173
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 173

```

Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 1          5
    
```

25 <210> 174
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 174
 gctgcatcc 9

40 <210> 175
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 175

```

Ala Ala Ser
 1
    
```

50 <210> 176
 <211> 27

ES 2 398 076 T3

```

<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
5 <223> Sintético

<400> 176
caacaggcta acagttccc gtacct      27

10 <210> 177
    <211> 9
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

15 <220>
    <223> Sintético

    <400> 177

                Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Tyr Thr
                1           5

20

    <210> 178
    <211> 361
    <212> ADN
25 <213> Secuencia artificial

    <220>
    <223> Sintético

30 <400> 178

    caggTgcagc tggTgcagtc tggggctgag gtgaaagagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
    tcctgcaagg cttctggata cacetteacc tcttatgata tcatctgggt gegacaggcc 120
    actggacaag ggettgagtg gatgggatgg atgaacccaa acagtggtaa cacaggetat 180
    acacagaacc tccagggcag agtcacctg accaggaaca cctccataac tacagtctac 240
    atggaactga gcagcctgag ctctgaggac acggccgttt attactgtgc gcgagactac 300
    agtagccact actacggttt ggacgtctgg ggccaagga ccacggtcac cgtctcctca 360
    a                                     361

    <210> 179
    <211> 120
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

    <220>
40 <223> Sintético

    <400> 179

```

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

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

5 <210> 180
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 180
 ggatacacct tcaccttta tgat 24

15 <210> 181
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 181

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asp
1 5

25 <210> 182
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 182
 atgaaccxaa acagtggtaa caca 24

40 <210> 183
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 183

Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr
1 5

5 <210> 184
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 184
 ggcgcgagact acagtagcca ctactacggt ttggacgtc 39

15 <210> 185
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 185

Ala Arg Asp Tyr Ser Ser His Tyr Tyr Gly Leu Asp Val
1 5 10

25 <210> 186
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 186

```

gacatccagt tgaccagtc tccatccttc ctgtctacat ctataggaga cagagtcacc 60
atcacttgct gggccagtc ggcatttagc aattatttag cctggtatca gcaaaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctttggt gcattcaact tgcagagtgg ggtcccata 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactotca caatcagtag cctgcagect 240
gaggatlttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt acccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggaatcaa ac 322
  
```

40 <210> 187
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético

<400> 187

```

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

```

5 <210> 188
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 188
 caggacatta gcaattat 18

15 <210> 189
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 189

```

Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 1           5

```

25 <210> 190
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 190
 gttgcatcc 9

40 <210> 191
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 191

```

Val Ala Ser
 1

```

<210> 192

ES 2 398 076 T3

<211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Sintético

<400> 192
 caacagtta atagttacc gctcacttc 30

10 <210> 193
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Sintético

20 <400> 193

Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe
1 5 10

25 <210> 194
 <211> 378
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

<400> 194

```

caggtccagc tggtccagtc tggggggagac ttggtacagc ccggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt ccggcaaact 120
ccagggaagg gcctggagt ggtctcaggt attagttgga atgtgggggc cataggctat 180
gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgcaagaa ctcctgtat 240
ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtac aaagaagaa 300
gtgggageta cggtggatta tttctacttc taeggtatgg acgtctggg ccaagggacc 360
acggtcaccg tctctctca 378
  
```

35 <210> 195
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Sintético

<400> 195

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

5 <210> 196
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 196
 ggattcacct ttgatgatta tgcc 24

15 <210> 197
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 197

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
 1 5

25 <210> 198
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 198
 attagttgga atagtggggc cata 24

40 <210> 199
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 199

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ala Ile
 1 5

5
 <210> 200
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

10
 <400> 200
 acaaaagaag aagtgaggac tacggtgat tattctact tctacggtat ggacgctc 57

15
 <210> 201
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> sintético

20
 <400> 201

Thr Lys Glu Glu Val Gly Ala Thr Val Asp Tyr Phe Tyr Phe Tyr Gly
1 5 10 15
Met Asp Val

25
 <210> 202
 <211> 318
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30
 <220>
 <223> Sintético

<400> 202

gaaattgtga tgactcagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctectgct gggccagtc gagtgtagc aactacttag cctggtacca acagaaacct 120
ggccaggctc ccagactcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactetca ccatcagcag cctagagcct 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggcctacggt cggccaaggg 300
accaaggtgg aatcaaa 318

35
 <210> 203
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 203

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

ES 2 398 076 T3

5
 <210> 204
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético

10
 <400> 204
 cagagtgta gcaactac 18

15
 <210> 205
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 205

Gln Ser Val Ser Asn Tyr
1 5

25
 <210> 206
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30
 <220>
 <223> Sintético

<400> 206
 gatgcatcc 9

35
 <210> 207
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40
 <220>
 <223> Sintético

<400> 207

Asp Ala Ser
1

45
 <210> 208
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

55
 <400> 208
 cagcagcgta gcaactggcc tacg 24

60
 <210> 209
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

<223> Sintético

<400> 209

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Thr
1 5

5

<210> 210

<211> 348

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

15

<400> 210

```

caagtgcagc tgggtgcagtc tggggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tctgtgcag cctctggatt cacotttgat gattatgcca tgcactgggt cgggcaaget 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagtggga atagtggtag ggtaggctat 180
gcggaactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtac asaaggccgg 300
gatgcttttg atatctgggg ccaggggaca atggtcaccc tctcttca 348
    
```

<210> 211

20

<211> 116

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25

<223> Sintético

<400> 211

```

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

30

<210> 212

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Sintético

<400> 212

ggattcacct ttgatgatta tgccc 24

40

<210> 213

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45

ES 2 398 076 T3

<220>
 <223> Sintético

5 <400> 213

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
1 5

10 <210> 214
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Sintético

<400> 214
 attagttgga atagtgtag ggta 24

20 <210> 215
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Sintético

<400> 215

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Val
1 5

30 <210> 216
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Sintético

40 <400> 216
 acaaaaggcc gggatgcttt tgatattc 27

45 <210> 217
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

50 <400> 217

Thr Lys Gly Arg Asp Ala Phe Asp Ile
1 5

55 <210> 21
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Sintético

<400> 218

ES 2 398 076 T3

```

gatattgtga tgaccagtc tccatcttc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc gggattagc agctgggttag cctgggatca gcagaaacca 120
gggaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaagtggt ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgtacac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321

```

5 <210> 219
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 219

```

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
  1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

```

```

                20                25                30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
  35                40                45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
  50                55                60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
  65                70                75                80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Tyr
  85                90                95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
  100                105

```

15 <210> 220
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 220
 cagggtatta gcagctgg 18

25 <210> 221
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 221

```

--- ---
Gln Gly Ile Ser Ser Trp
  1           5

```

40 <210> 222
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 398 076 T3

5 <223> Sintético
 <400> 222
 gctgcatcc 9
 <210> 223
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Sintético
 15 <400> 223

**Ala Ala Ser
 1**

20 <210> 224
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Sintético
 <400> 224
 caacaggcta acagttccc gtacact 27
 30 <210> 225
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Sintético
 <400> 225

**Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Tyr Thr
 1 5**

40 <210> 226
 <211> 378
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> Sintético
 50 <400> 226
 gaagtgcagc tgggtggaate tggaggagga ctggtgcagc ctggaagate tctgagactg 60
 tcttgtgctg cttctggatt tatctttgat gattatgcta tgcattgggt gagacaggct 120
 cctggaaagg gactggaatg ggtgtctgga atctcttga attctggatc tatcggatat 180
 gctgattctg tgaaggaag attacaatc tctagagata atgctaaga ttctctgtat 240
 ctgcagatga attctctgag agctgaagat acagctctgt attattgtgc taaggatgga 300
 ggatcttctt ggctgccttt tgtgtattat tatggaatgg atgtgtgggg acaggaaca 360
 acagtgcagc tgtcttct 378

55 <210> 227
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 227

5

```

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

<210> 228
<211> 324
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Sintético

15

<400> 228

```

gaaatcgtga tgacacagtc tctgtctaca ctgtctgtgt ctctctggaga aagagctaca 60
ctgtcttgta gagcttctca gtctatctct tctaactctgg cttgggtatca gcagaagcct 120
ggacaggctc ctgactgct gatctatgga gcttctacaa gagctacagg aatccctgct 180
agatttctcg gatctggatc tggaacagaa tttacactga caatctcttc tctgcagtct 240
gaagattttg ctgtgtatta ttgtcagcag tattctctctt ggctctccta tacatttggga 300
cagggaaaca agctggaaat caag                                     324
    
```

<210> 229
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20

<220>
<223> Sintético

25

<400> 229

```

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

30

<210> 230
<211> 348

<212> ADN
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> Sintético

<400> 230

```

gagggtccagc tggtcgagtc aggaggaggc ctctgtccaac cagggcgagc ccttcgactc 60
tcctgtgccg ccagtagggt taetttcgat gactatgcca tgcactgggt ccggcaggcc 120
cctggtaagg gcttggagtg ggtgtccggg atctctctgga actccggagc tatcggttac 180
gccgacagcg tgaaggggaag gttcactatc tctcgtgaca acgccaagaa ctccttgat 240
ctgcaaatga acagcctccg ggccgaagac accgccttgt attactgtgc caagggtagg 300
gatagtttcg atatctgggg tcaaggcacc atggtgactg tgttctca 348
    
```

10 <210> 231
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Sintético

<400> 231

20

```

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

25 <210> 232
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

<400> 232

```

gacatacaga tgacccaaag cccaagcagc gttagcgctt ccgtaggcga cagggtgaca 60
attacatgca gagcctctca ggyaatttct tcatggctgg catggtatca gcagaagccc 120
ggaaaagctc ccaagctgct gatatatggt gcctcctctc tccaaagcgg agtcccacatca 180
cgcttctccg ggagtggctc tggtagagat tttactttga caatctctag ccttcagcct 240
gaagactttg ctacatacta ctgtcagcag gccaacagtt ttccttacac cttcggtcag 300
ggaactaac tggaaattaa g
    
```

35 <210> 233
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223> Sintético

<400> 233

```

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

5 <210> 234
 <211> 360
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 234

```

caggtgcagc tgggtgcagtc tggagctgaa gtgaagaagc ctggagcttc tgtgaagggt 60
tcttgttaagg cttctggata tacatttaca tcttatgata tcattctgggt gagacaggct 120
acaggacagg gactggaatg gatgggatgg atgaatccta attctggaaa tacaggatat 180
gctcagaagt ttcaggaag agtgacaatg acaagaaata catctatctc tacagtgtat 240
atggaactgt cttctctgag atctgaagat acagctgtgt attattgtgc tagagattat 300
tctctcatt attatggact ggatgtgtgg ggacagggaa caacagtgac agtgtcttct 360
    
```

15 <210> 235
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

25 <400> 235

```

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

30 <210> 236
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 236

5

```
gatatecagc tgacacagtc tccttctttt ctgtctgctt ctgtgggaga tagagtgaca 60
atcacatgta gagcttctca ggatatctct aattatctgg ctgggtatca gcagaagcct 120
ggaaaggctc ctaagctgct gatctatgtg gcttctacac tgcagtctgg agtgccttct 180
agatttctct gatctggatc tggaacagaa tttacactga caatctcttc tctgcagcct 240
gaagattttg ctacatatta ttgtcagcag ttaattctt atcctctgac atttggagga 300
ggaacaaagg tggaaatcaa g 321
```

<210> 237
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Sintético

15

<400> 237

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

<210> 238
<211> 349
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20

<220>
<223> Sintético

25

<400> 238

```
gaagtgcagc tggtagagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcc tgcactgggt ccggcaagct 120
ccaggggaagg gcctggagtg ggtctcaggt gttagttaga atgggtgtag aataggctat 180
gaggactctg tgaaggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctcttt 240
ctgcaaatga acagtctgag agttgaggac acggccttgt attattgtgc aaaaggccgg 300
gatgcttttg atatctgggg ccaagggaca ttggtcaccg tctcttcag 349
```

30

<210> 239
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35

<220>
<223> Sintético

<400> 239

40

```

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

```

- 5 <210> 240
- <211> 348
- <212> ADN
- <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
- <223> Sintético
- <400> 240

```

gaagtgcagc tgggtggaatc tggaggagga ctggtgcagc ctggaagatc tctgagactg 60
tcttctgctg cttctggatt tacatttgat gattatgcta tgcattgggt gagacagget 120
cctggaaagg gactggaatg ggtgtctgga gtgtcttggg atggaggaag aatcggatat 180
gctgattctg tgaaggggag attacaatc tctagagata atgctaagaa tctctgtgat 240
ctgcagatga attctctgag agctgaagat acagctctgt attattgtgc taaggggaaga 300
gatgcttttg atatctgggg acaggggaaca atggtgacag tgtcttct 348

```

- 15 <210> 241
- <211> 116
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 20 <220>
- <223> Sintético
- <400> 241

```

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

```

- 25 <210> 242
- <211> 330
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 30

<220>
<223> Sintético

<400> 242

```

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

```

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

5

<210> 243
<211> 327
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Sintético

15

<400> 243

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	Ser	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			
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> 244
 <211> 327
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Sintético

10

<400> 244

```

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
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
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> 245
 <211> 6
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

10 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (1)...(6)
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

15 <400> 245

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5

20 <210> 246
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> (1)...(3)
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

5

<400> 246

10

Xaa Xaa Xaa
1

<210> 247
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Sintético

20

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> (1)...(10)
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

25

<400> 247

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 248
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> Sintético

35

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> (1)...(8)
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

40

<400> 248

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 249
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45

<220>
 <223> Sintético

50

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> (1)...(8)
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

55

<400> 249

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 250
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Sintético

10

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> (1)...(19)
 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

15

Xaa
 1 5 10 15
 Xaa Xaa Xaa

20

<210> 251
 <211> 311
 <212> PRT
 <213> *Macaca fascicularis*

<400> 251

25

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

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente al receptor de interleucina 6 humano (hIL-6R) con una K_d de 500 pM o inferior, según se mide por resonancia de plasmón superficial, en el que:
- (i) las CDR de la cadena pesada comprenden las SEC ID N°: 5, 7 y 9 como CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena pesada respectivamente, y
- (ii) las CDR de la cadena ligera comprenden las SEC ID N°: 13, 15 y 17 como CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena ligera respectivamente
- 10 2. Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende la pareja de HCVR/LCVR de la SEC ID N°: 3/11.
- 15 3. Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que se une específicamente al hIL-6R con una K_D de 300 pM o inferior, según se mide por resonancia de plasmón superficial.
4. Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la reivindicación 1, 2 o 3, que se une al hIL-6R con una afinidad al menos 1,5 veces superior respecto a la unión al IL-6R de mono.
- 20 5. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el fragmento de unión a antígeno se selecciona de Fab, F(ab')₂ y scFv.
6. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores.
- 25 7. Un vector de expresión que comprende la molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 6.
8. Una célula hospedadora aislada que comprende un vector de expresión de acuerdo con la reivindicación 7.
- 30 9. La célula hospedadora de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la célula hospedadora es una célula procariota o eucariota seleccionada de una de *E. coli* o una célula CHO.
10. Un método para producir un anticuerpo anti-IL-6R o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende cultivar la célula hospedadora de acuerdo con la reivindicación 8 o 9 en condiciones que permitan la producción del anticuerpo o fragmento del mismo y la recuperación del anticuerpo o fragmento así producido.
- 35 11. El uso de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en la fabricación de un medicamento para su uso para atenuar o inhibir una enfermedad o trastorno mediado por IL-6 en un ser humano, en el que la enfermedad o trastorno mediado por IL-6 es artritis, una enfermedad inflamatoria del intestino o lupus eritematoso sistémico.
- 40 12. Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para su uso en la atenuación o inhibición de una enfermedad o trastorno mediado por IL-6 en un ser humano, en el que la enfermedad o trastorno mediado por IL-6 es artritis, una enfermedad inflamatoria del intestino o lupus eritematoso sistémico.
- 45 13. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 50 14. El uso de acuerdo con la reivindicación 11 o un anticuerpo o fragmento de acuerdo con la reivindicación 12, en el que dicha artritis es artritis reumatoide crónica, o dicha enfermedad inflamatoria del intestino es la enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa.