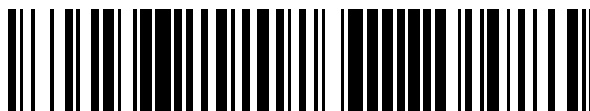


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 428 767**

51 Int. Cl.:

C07K 14/435 (2006.01)

C07K 16/18 (2006.01)

C12N 5/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.06.2004 E 04776552 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.07.2013 EP 1638999**

54 Título: **Composiciones y procedimientos para aumentar la mineralización ósea**

30 Prioridad:

16.06.2003 US 463190

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

11.11.2013

73 Titular/es:

**UCB MANUFACTURING, INC. (100.0%)
755 Jefferson Road
Rochester, NY 14623, US**

72 Inventor/es:

**BRUNKOW, MARY E.;
GALAS, DAVID J.;
KOVACEVICH, BRIAN;
MULLIGAN, JOHN T.;
PAEPER, BRYAN W.;
VAN NESS, JEFFREY y
WINKLER, DAVID G.**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 428 767 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

Composiciones y procedimientos para aumentar la mineralización ósea

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere generalmente a productos farmacéuticos y, más específicamente, a composiciones adecuadas para aumentar el contenido mineral del hueso. Tales composiciones pueden utilizarse para tratar una amplia variedad de afecciones que incluyen, por ejemplo, osteopenia, osteoporosis, fracturas y otros trastornos en los que la baja densidad mineral ósea es un distintivo de la enfermedad.

Antecedentes de la invención

Durante la vida de un individuo se producen dos o tres fases distintas de cambios en la masa ósea (véase Riggs, West J. Med. 154:63-77, 1991). La primera fase se produce en tanto hombres como mujeres, y se dirige a alcanzar una masa ósea pico. Esta primera fase se logra mediante el crecimiento lineal de las placas de crecimiento endocondrales y el crecimiento radial debido a una tasa de aposición perióstica. La segunda fase empieza a aproximadamente la edad de 30 para hueso trabecular (huesos planos tales como las vértebras y pelvis) y aproximadamente la edad de 40 para hueso cortical (por ejemplo, huesos largos encontrados en las extremidades) y continúa a mayor edad. Esta fase se caracteriza por pérdida lenta de hueso, y se produce en tanto hombres como mujeres. En mujeres también se produce una tercera fase de pérdida de hueso, lo más probablemente debido a deficiencias de estrógenos posmenopáusicas. Durante esta fase sola, las mujeres pueden perder un 10% adicional de masa ósea del hueso cortical y el 25% del compartimento trabecular (véase Riggs, arriba).

La pérdida de contenido mineral óseo puede producirse por una amplia variedad de afecciones, y puede producir problemas médicos significativos. Por ejemplo, la osteoporosis es una enfermedad debilitante en seres humanos caracterizada por una disminución sustancial en la masa ósea esquelética y densidad mineral, deterioro estructural del hueso que incluye degradación de la microarquitectura ósea y aumentos correspondientes en la fragilidad y susceptibilidad del hueso a fractura en individuos aquejados. La osteoporosis en seres humanos va precedida de osteopenia clínica (densidad mineral ósea que es mayor que una desviación estándar pero inferior a 2,5 desviaciones estándar por debajo del valor medio para hueso adulto joven), una afección encontrada en aproximadamente 25 millones de personas en los Estados Unidos. Otros 7-8 millones de pacientes en los Estados Unidos han sido diagnosticados con osteoporosis clínica (definida como contenido mineral óseo superior a 2,5 desviaciones estándar por debajo del hueso adulto joven maduro). La osteoporosis es una de las enfermedades más caras para el sistema sanitario, que cuesta decenas de billones de dólares anualmente en los Estados Unidos. Además de los costes relacionados con el cuidado sanitario, el cuidado residencial a largo plazo y los días de trabajo perdidos se añaden a los costes financieros y sociales de esta enfermedad. En el mundo, aproximadamente 75 millones de personas están en riesgo de osteoporosis.

La frecuencia de la osteoporosis en la población humana aumenta con la edad, y entre caucásicos es predominante en mujeres (que comprende el 80% del conjunto de pacientes con osteoporosis en los Estados Unidos). El aumento de la fragilidad y susceptibilidad a fractura del hueso esquelético en el anciano se agrava por el mayor riesgo de caídas accidentales en esta población. Más de 1,5 millones de fracturas de huesos relacionadas con la osteoporosis se informan en los Estados Unidos cada año. Caderas, muñecas y vertebras fracturadas están entre las lesiones más comunes asociadas a la osteoporosis. Las fracturas de cadera en particular son extremadamente molestas y caras para el paciente, y para mujeres se correlacionan con altas tasas de mortalidad y morbilidad.

Aunque la osteoporosis se ha definido como un aumento en el riesgo de fractura debido a masa ósea reducida, ninguno de los tratamientos presentemente disponibles para trastornos esqueléticos puede aumentar sustancialmente la densidad ósea de adultos. Hay una fuerte percepción entre todos los médicos de que se necesitan fármacos que puedan aumentar la densidad ósea en adultos, particularmente en los huesos de la muñeca, columna espinal y cadera que están en riesgo en osteopenia y osteoporosis.

Las actuales estrategias para la prevención de la osteoporosis pueden ofrecer algún beneficio a los individuos, pero no pueden garantizar la resolución de la enfermedad. Estas estrategias incluyen actividad física moderada (particularmente en actividades que llevan peso) con el inicio de edad avanzada, que incluyen calcio adecuado en la dieta, y evitar el consumo de productos que contienen alcohol o tabaco. Para pacientes que presentan osteopenia u osteoporosis clínica, todos los presentes fármacos terapéuticos y estrategias están dirigidos a reducir adicionalmente la pérdida de masa ósea, inhibiendo el procedimiento de absorción ósea, un componente natural del procedimiento de remodelación ósea que se produce constitutivamente.

Por ejemplo, el estrógeno está siendo ahora recetado para retardar la pérdida ósea. Sin embargo, hay alguna controversia con si hay o no algún beneficio a largo plazo para pacientes y si hay o no algún efecto en absoluto sobre pacientes de más de 75 años de edad. Además, se cree que el uso de estrógeno aumenta el riesgo de cáncer de mama y de endometrio.

También se han sugerido altas dosis de calcio dietético, con o sin vitamina D, para mujeres posmenopáusicas. Sin embargo, altas dosis de calcio pueden tener frecuentemente efectos secundarios gastrointestinales desagradables, y los niveles de calcio en suero y urinario deben monitorizarse continuamente (véase Khosla y Riggs, *Mayo Clin. Proc.* 70:978-982, 1995).

5 Otros terapéuticos que se han sugerido incluyen calcitonina, bisfosfonatos, esteroides anabólicos y fluoruro de sodio. Sin embargo, tales terapéuticos tienen efectos secundarios no deseables (por ejemplo, la calcitonina y los esteroides pueden producir náuseas y provocar una reacción inmunitaria, los bisfosfonatos y el fluoruro de sodio pueden inhibir la reparación de fracturas, aún cuando la densidad ósea aumente modestamente) que pueden prevenir su uso
10 (véase Khosla y Riggs, arriba).

El documento WO 01/92308 se refiere a polipéptidos de nudo de cisteína: moléculas cloaked-2 y usos de los mismos. Los documentos US 6.495.736 y WO 00/32773 se refieren a mineralización ósea creciente.

15 Ninguna estrategia terapéutica puesta actualmente en práctica implica un fármaco que estimule o potencie el crecimiento de nueva masa ósea. La presente invención proporciona composiciones que pueden utilizarse para aumentar la mineralización ósea, y así pueden utilizarse para tratar una amplia variedad de afecciones en las que se desea aumentar la masa ósea. Además, la presente invención proporciona otras ventajas relacionadas.

20 Resumen de la invención

La invención proporciona un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a un polipéptido de esclerostina que comprende una secuencia de aminoácidos expuesta en SEC ID N°: 46, donde dicho anticuerpo o fragmento se une a la secuencia de SEC ID N°: 98. Dentro de diversas realizaciones, el anticuerpo puede ser un anticuerpo policlonal o un anticuerpo monoclonal (por ejemplo, de origen humano o murino). Dentro de otras realizaciones, el anticuerpo es un fragmento de un anticuerpo que retiene las características de unión de un anticuerpo completo (por ejemplo, un fragmento F(ab')₂, F(ab)₂, Fab', Fab o Fv, o incluso una CDR). También se proporcionan hibridomas y otras células que pueden producir o expresar los anticuerpos anteriormente mencionados.

30 Los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos pueden usarse en procedimientos para aumentar el contenido mineral óseo en un animal de sangre caliente.

35 Las moléculas de anticuerpo pueden proporcionarse como una composición, y pueden comprender además un inhibidor de la resorción ósea. Ejemplos representativos de tales inhibidores incluyen calcitonina, estrógeno, un bisfosfonato, un factor de crecimiento que tiene actividad antiresortiva y tamoxifeno.

40 Ejemplos representativos de moléculas de anticuerpo que pueden utilizarse en los contextos terapéuticos anteriormente mencionados incluyen anticuerpos humanizados. Tales moléculas pueden usarse, dependiendo de su selección, para antagonizar la señalización o unión del miembro de la familia de proteínas de unión a TGF-beta, esclerostina (SOST), como se describe en el presente documento.

45 Las moléculas de anticuerpo anteriormente descritas pueden utilizarse en afecciones tales como osteoporosis, osteomalacia, enfermedad periodontal, hipovitaminosis C, enfermedad de Cushing, fractura ósea y afecciones debidas a la inmovilización de extremidades y el uso de esteroides.

50 En ciertas realizaciones particulares de la invención, el anticuerpo es un anticuerpo policlonal. En otras realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, que es un anticuerpo monoclonal de ratón, humano, rata o hámster. La invención también proporciona una célula de hibridoma o una célula huésped que puede producir el anticuerpo monoclonal. En otras realizaciones de la invención, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado o un anticuerpo quimérico. La invención proporciona además una célula huésped que produce el anticuerpo humanizado o quimérico. En ciertas realizaciones, el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo es un fragmento F(ab')₂, Fab', Fab, Fd o Fv. La invención también proporciona un anticuerpo que es un anticuerpo monocatenario y proporciona una célula huésped que puede expresar el anticuerpo monocatenario. En otra realización, la invención proporciona
55 una composición que comprende tales anticuerpos y un vehículo fisiológicamente aceptable.

60 Estos y otros aspectos de la presente invención serán evidentes tras la referencia a la siguiente descripción detallada y dibujos adjuntos. Además, documentos que incluyen diversas referencias expuestas en el presente documento describen en más detalle ciertos procedimientos o composiciones (por ejemplo, plásmidos, etc.).

Breve descripción de los dibujos

65 La Figura 1 es una ilustración esquemática que compara la secuencia de aminoácidos de Dan humana; Gremlin humana; Cerberus humana y Beer humana. Las flechas indican el esqueleto de cisteína.

La Figura 2 resume los resultados obtenidos de evaluar una variedad de tejidos humanos para la expresión de un gen de proteína de unión a TGF-beta, específicamente el gen *Beer* humano. Se usó un procedimiento de

reacción en cadena de la polimerasa por transcripción inversa semicuantitativa (RT-PCR) para amplificar una parte del gen del ADNc de la primera hebra sintetizado a partir de ARN total (descrito en más detalle en el Ejemplo 2A).

Las Figuras 3A-3D resumen los resultados obtenidos de la hibridación *in situ* de ARN de secciones de embrión de ratón usando una sonda de ARNc que es complementaria al transcrito de Beer de ratón (descrito en más detalle en el Ejemplo 2B). El panel 3A es una sección transversal de embrión de 10,5 dpc. El panel 3B es una sección sagital de embrión de 12,5 dpc y los paneles 3C y 3D son secciones sagitales de embriones de 15,5 dpc.

Las Figuras 4A-4C ilustran, por análisis de transferencia Western, la especificidad de tres anticuerpos policlonales diferentes para sus antígenos respectivos (descrito en más detalle en el Ejemplo 4). La Figura 4A muestra reactividad específica de un anticuerpo anti-Beer h. por antígeno de Beer h., pero no Dan h. o Gremlin h. La Figura 4B muestra la reactividad de un anticuerpo anti-Gremlin h. por antígeno de Gremlin h., pero no Beer h. o Dan h. La Figura 4C muestra la reactividad de un anticuerpo anti-Dan h. por Dan h., pero no Beer h. o Gremlin h.

La Figura 5 ilustra, por análisis de transferencia Western, la selectividad de la proteína de unión a TGF-beta, Beer, por BMP-5 y BMP-6, pero no BMP-4 (descrito en más detalle en el Ejemplo 5).

La Figura 6 demuestra que la interacción iónica entre la proteína de unión a TGF-beta, Beer, y BMP-5 tiene una constante de disociación en el intervalo de 15-30 nM.

La Figura 7 presenta un alineamiento de la región que contiene el nudo de cisteína característico de un polipéptido de SOST (esclerostina) y sus homólogos más relacionados. Tres enlaces disulfuro que forman el nudo de cisteína se ilustran como una línea continua. Un enlace disulfuro adicional, mostrado por una línea de puntos, es único para esta familia, que conecta dos puntas de horquilla β en la estructura 3D. Los polipéptidos representados son SOST: esclerostina (SEC ID N°: 126); CGHB: gonadotropina coriónica humana β (SEC ID N°: 127); FSHB: subunidad beta de la hormona estimulante del folículo (SEC ID N°: 128); TSHB: precursor de la cadena beta de tirotropina (SEC ID N°: 129); VWF: factor de Von Willebrand (SEC ID N°: 130); MUC2: precursor de mucina 2 humana (SEC ID N°: 131); CER1: Cerberus 1 (homólogo de *Xenopus laevis*) (SEC ID N°: 132); DRM: Gremlin (SEC ID N°: 133); DAN: (SEC ID N°: 134); CTGF: precursor de factor de crecimiento de tejido conjuntivo (SEC ID N°: 135); NOV: NovH (homólogo de la proteína del gen expresado en exceso de nefroblastoma) (SEC ID N°: 136); CYR6: (SEC ID N°: 137).

La Figura 8 ilustra un modelo 3D de la región Core de SOST (SOST_Core).

La Figura 9 presenta un modelo 3D de la región Core del homodímero de SOST.

Las Figuras 10A y 10B proporcionan un alineamiento de secuencias de aminoácidos de Noggin de cinco animales diferentes: ser humano (NOGG_HUMANO (SEC ID N°: 138); pollo (NOGG_POLLO, SEC ID N°: 139); rana africana de uñas (NOGG_XENLA, SEC ID N°: 140); NOGG_FUGRU, SEC ID N°: 141); y pez cebra (NOGG_CEBRA, SEC ID N°: 142); y SOST de ser humano (SOST_HUMANO, SEC ID N°: 46), rata (SOST_RATA, SEC ID N°: 65) y ratón (SOST_Ratón, SEC ID N°: 143).

La Figura 11 ilustra la estructura del complejo Noggin/BMP-7. El homodímero de BMP se muestra en la parte inferior de la figura en modo de superficie. El homodímero de Noggin se muestra en la parte superior del dímero de BMP en modo animación. Los círculos explican resumidamente la región de unión del extremo N, la región Core y el ligador entre las regiones del extremo N y Core.

La Figura 12 representa un modelo 3D del posible fragmento de unión a BMP localizado en la región del extremo N de SOST. El dímero de ABMP se muestra en modo superficial, y el posible fragmento de unión a BMP se muestra en modo de varillas. Se observa un residuo de fenilalanina que se ajusta en un bolsillo hidrófobo sobre la superficie de BMP.

Descripción detallada de la invención

DEFINICIONES

Antes de exponer la invención en detalle puede ser útil para un entendimiento de la misma exponer definiciones de ciertos términos y enumerar y definir las abreviaturas que se usarán en lo sucesivo.

“Molécula” debe entenderse que incluye proteínas o péptidos (por ejemplo, anticuerpos, componentes de unión recombinantes, péptidos con una afinidad de unión deseada), ácidos nucleicos (por ejemplo, ADN, ARN, moléculas de ácidos nucleicos quiméricas y análogos de ácido nucleico tales como PNA); y compuestos orgánicos o inorgánicos.

“TGF-beta” debe entenderse que incluye cualquier miembro conocido o novedoso de la superfamilia de TGF-beta, que también incluye proteínas morfogénicas óseas (BMP).

“Receptor de TGF-beta” debe entenderse que se refiere al receptor específico para un miembro particular de la superfamilia de TGF-beta (incluyendo proteínas morfogénicas óseas (BMP)).

“Proteína de unión a TGF-beta” debe entenderse que se refiere a una proteína con afinidad de unión específica por un miembro o subconjunto particular de miembros de la superfamilia de TGF-beta (incluyendo proteínas morfogénicas óseas (BMP)). Ejemplos específicos de proteínas de unión a TGF-beta incluyen proteínas codificadas

por las SEC ID nº 1, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 100 y 101.

Inhibir la “unión de la proteína de unión a TGF-beta a la familia de TGF-beta de proteínas y proteínas morfogénicas óseas (BMP)” debe entenderse que se refiere a moléculas que permiten la activación de TGF-beta o proteínas morfogénicas óseas (BMP), o permiten la unión de miembros de la familia de TGF-beta que incluyen proteínas morfogénicas óseas (BMP) a sus receptores respectivos, eliminando o previniendo la unión de TGF-beta a proteína de unión de TGF. Tal inhibición puede llevarse a cabo, por ejemplo, por moléculas que inhiben la unión de la proteína de unión a TGF-beta a miembros específicos de la superfamilia de TGF-beta.

“Vector” se refiere a un ensamblaje que puede dirigir la expresión de la proteína deseada. El vector debe incluir elementos promotores de la transcripción que están operativamente ligados al (a los) gen(es) de interés. El vector puede estar compuesto de ácidos desoxirribonucleicos (“ADN”), ácidos ribonucleicos (“ARN”), o una combinación de los dos (por ejemplo, un ADN-ARN quimérico). Opcionalmente, el vector puede incluir una secuencia de poliadenilación, uno o más sitios de restricción, además de uno o más marcadores de selección tales como neomicina fosfotransferasa o higromicina fosfotransferasa. Adicionalmente, dependiendo de la célula huésped elegida y el vector empleado, en los vectores descritos en el presente documento también pueden incorporarse otros elementos genéticos tales como un origen de replicación, sitios de restricción de ácido nucleico adicionales, potenciadores, secuencias que confieren inducibilidad de la transcripción, y marcadores de selección.

Una “molécula de ácido nucleico aislada” es una molécula de ácido nucleico que no está integrada en el ADN genómico de un organismo. Por ejemplo, una molécula de ADN que codifica una proteína que se une a TGF que se ha separado del ADN genómico de una célula eucariota es una molécula de ADN aislada. Otro ejemplo de una molécula de ácido nucleico aislada es una molécula de ácido nucleico químicamente sintetizada que no está integrada en el genoma de un organismo. La molécula de ácido nucleico aislada puede ser ADN genómico, ADNc, ARN, o estar compuesta al menos en parte de análogos de ácido nucleico.

Un “polipéptido aislado” es un polipéptido que está esencialmente libre de componentes celulares contaminantes tales como un hidrato de carbono, lípido u otras impurezas proteináceas asociadas al polipéptido en la naturaleza. Preferentemente, tales polipéptidos aislados son al menos aproximadamente el 90% puros, más preferentemente al menos aproximadamente el 95% puros, y lo más preferentemente al menos aproximadamente el 99% puros. Dentro de ciertas realizaciones, una preparación de proteínas particular contiene un polipéptido aislado si aparece nominalmente como una única banda en gel de SDS-PAGE con tinción con azul de Coomassie. El término “aislado” cuando se refiere a moléculas orgánicas (por ejemplo, moléculas pequeñas orgánicas) significa que los compuestos son más del 90% puros utilizando procedimientos que son muy conocidos en la técnica (por ejemplo, RMN, punto de fusión).

“Esclerosteosis” es un término que se aplicó por Hansen (1967) (Hansen, H. G., Sklerosteose. En: Opitz, H.; Schmid, F., Handbuch der Kinderheilkunde. Berlin: Springer (pub.) 61967. Pág. 351-355) a un trastorno similar a la hiperostosis cortical generalizada de van Buchem, pero que posiblemente se diferencia en el aspecto de los cambios óseos y en presencia de sindactilia cutánea asimétrica de los dedos índice y corazón en muchos casos. La mandíbula tiene un aspecto anormalmente cuadrado en esta afección.

“Anticuerpos humanizados” son proteínas recombinantes en las que regiones determinantes de la complementariedad murinas o de otros animales no humanos de anticuerpos monoclonales se han transferido de cadenas variables pesadas y ligeras de la inmunoglobulina murina o de otro animal no humano a un dominio variable humano.

Como se usa en el presente documento, un “fragmento de anticuerpo” es una parte de un anticuerpo tal como F(ab')₂, F(ab)₂, Fab', Fab y similares. Independientemente de la estructura, un fragmento de anticuerpo se une con el mismo antígeno que es reconocido por el anticuerpo intacto. Por ejemplo, un fragmento de anticuerpo monoclonal anti-proteína de unión a TGF-beta se une a un epítopo de proteína de unión a TGF-beta.

El término fragmento de anticuerpo o fragmento de unión a antígeno también incluye cualquier proteína sintética o genéticamente manipulada que actúe de anticuerpo uniéndose a un antígeno específico para formar un complejo. Por ejemplo, fragmentos de anticuerpos incluyen fragmentos aislados que consisten en la región variable de la cadena ligera, fragmentos “Fv” que consisten en las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras, moléculas de polipéptido de cadenas individuales recombinantes en las que regiones variables ligeras y pesadas están conectadas por un péptido ligador (“proteínas sFv”), y unidades de reconocimiento mínimo que consisten en los residuos de aminoácidos que imitan la región hipervariable.

Una “marca detectable” es una molécula o átomo que puede conjugarse con un resto de polipéptido tal como un resto de anticuerpo o un resto de ácido nucleico para producir una molécula útil para diagnóstico. Ejemplos de marcas detectables incluyen quelantes, agentes fotoactivos, radioisótopos, agentes fluorescentes, iones paramagnéticos, enzimas, y otros restos de marcador.

Como se usa en el presente documento, un "inmunoconjugado" es una molécula que comprende un anticuerpo anti-proteína de unión a TGF-beta, o un fragmento de anticuerpo, y una marca detectable o una molécula efectora. Preferentemente, un inmunoconjugado tiene aproximadamente la misma capacidad, o solo capacidad ligeramente reducida, para unirse a proteína de unión a TGF-beta después de la conjugación que antes de la conjugación.

5 Abreviaturas: TGF-beta - "Factor de crecimiento beta transformante"; TGF-bBP - "Proteína de unión a factor de crecimiento beta transformante" (una TGF-bBP representativa se designa "Beer h."); BMP - "proteína morfogénica ósea"; PCR - "reacción en cadena de la polimerasa"; RT-PCR-PCR. Procedimiento en el que el ARN se transcribe primero en ADN usando transcriptasa inversa (RT); ADNc - cualquier ADN preparado copiando una secuencia de
10 ARN en forma de ADN.

Producción de anticuerpos para proteínas de unión a TGF-beta

15 La presente invención proporciona anticuerpos que se unen específicamente a esclerostina como se describe en el presente documento en detalle. Los anticuerpos para proteína de unión a TGF-beta pueden obtenerse, por ejemplo, usando el producto de un vector de expresión como antígeno. Los anticuerpos que se unen específicamente a esclerostina también pueden prepararse usando péptidos derivados de la secuencia de polipéptidos de esclerostina de SEC ID N°: 46. Otras secuencias de polipéptidos de esclerostina proporcionadas en el presente documento son SEC ID N°: 2, 6, 8, 10, 12, 14, 16 y 65. Anticuerpos anti-proteína de unión a TGF-beta particularmente útiles "se unen específicamente" con proteína de unión a TGF-beta de SEC ID N° 46, pero no con otras proteínas de unión a TGF-beta tales como Dan, Cerberus, SCGF o Gremlin. Los anticuerpos de la presente invención (incluyendo fragmentos y derivados de los mismos) pueden ser policlonales o, especialmente, monoclonales. El anticuerpo puede pertenecer a cualquier clase de inmunoglobulina y puede ser, por ejemplo, un anticuerpo IgG, (incluyendo isotipos de IgG, que para anticuerpos humanos se conocen en la técnica como IgG1, IgG2, IgG3, IgG4); IgE; IgM; o IgA. Un anticuerpo puede obtenerse de aves de corral o mamíferos, preferentemente, por ejemplo, de murino, rata, humano u otro primate.

20 Los anticuerpos policlonales para proteína de unión a TGF-beta recombinante pueden prepararse usando procedimientos muy conocidos para aquellos expertos en la materia (véanse, por ejemplo, Green y col., "Production of Polyclonal Antisera", en *Immunochemical Protocols* (Manson, ed.), páginas 1-5 (Humana Press 1992); Williams y col., "Expression of foreign proteins in E. coli using plasmid vectors and purification of specific polyclonal antibodies", en *DNA Cloning 2: Expression Systems*, 2ª edición, Glover y col. (eds.), página 15 (Oxford University Press 1995)). Aunque los anticuerpos policlonales se producen normalmente en animales tales como ratas, ratones, conejos, cabras u ovejas, un anticuerpo anti-proteína de unión a TGF-beta de la presente invención también puede derivarse de un anticuerpo de primate subhumano. Técnicas generales para producir anticuerpos diagnósticamente y terapéuticamente útiles en babuinos pueden encontrarse, por ejemplo, en Goldenberg y col., publicación de patente internacional n° WO 91/11465 (1991), y en Losman y col., *Int. J. Cancer* 46:310, 1990.

30 El anticuerpo debe comprender al menos un dominio de la región variable. El dominio de la región variable puede ser de cualquier tamaño o composición de aminoácidos y generalmente comprenderá al menos una secuencia de aminoácidos hipervariable responsable de la unión a antígeno incorporada en una secuencia de la región estructural. En términos generales, el dominio de la región variable (V) puede ser cualquier disposición adecuada de dominios variables de la cadena pesada (V_H) y/o ligera (V_L) de inmunoglobulina. Así, por ejemplo, el dominio de la región V puede ser monomérico y ser un dominio V_H o V_L en el que éstos pueden unirse independientemente a antígeno con afinidad aceptable. Alternativamente, el dominio de la región V puede ser dimerico y contener V_H-V_H , V_H-V_L o V_L-V_L , dímeros en los que las cadenas de V_H y V_L están no covalentemente asociadas (abreviadas en lo sucesivo F_v). Si se desea, sin embargo, las cadenas pueden acoplarse covalentemente tanto directamente, por ejemplo, mediante un enlace disulfuro entre los dos dominios variables, como mediante un ligador, por ejemplo, un ligador de péptido, para formar una dominio monocatenario (abreviado en lo sucesivo scF_v).

40 El dominio de la región variable puede ser cualquier dominio variable que se produzca naturalmente o una versión manipulada del mismo. Por versión manipulada se indica un dominio de la región variable que ha sido creado usando técnicas de manipulación de ADN recombinante. Tales versiones manipuladas incluyen aquellas creadas, por ejemplo, a partir de regiones variables de anticuerpos naturales por inserciones, deleciones o cambios en o a las secuencias de aminoácidos de los anticuerpos naturales. Ejemplos particulares de este tipo incluyen aquellos dominios de la región variable manipulados que contienen al menos un CDR y opcionalmente uno o más aminoácidos de la región estructural de un anticuerpo y el resto del dominio de la región variable de un segundo anticuerpo.

50 El dominio de la región variable puede unirse covalentemente en un aminoácido del extremo C a al menos otro dominio de anticuerpo o un fragmento del mismo. Así, por ejemplo, si un dominio V_H está presente en el dominio de la región variable, éste puede ligarse a un dominio C_H1 de inmunoglobulina o un fragmento del mismo. Similarmente un dominio V_L puede ligarse a un dominio C_K o un fragmento del mismo. De esta forma, por ejemplo, el anticuerpo puede ser un fragmento Fab donde el dominio de unión a antígeno contiene asociados dominios V_H y V_L covalentemente ligados en sus extremos C a un dominio C_H1 y C_K , respectivamente. El dominio C_H1 puede extenderse con aminoácidos adicionales, por ejemplo, para proporcionar un dominio de la región bisagra como se

encuentra en un fragmento Fab', o para proporcionar dominios adicionales tales como los dominios C_{H2} y C_{H3} de anticuerpos.

5 Otra forma de un fragmento de anticuerpo es un péptido que codifica una única región determinante de la complementariedad (CDR). Los péptidos de CDR ("unidades de reconocimiento mínimo") pueden obtenerse construyendo genes que codifican la CDR de un anticuerpo de interés. Tales genes se preparan, por ejemplo, usando la reacción en cadena de la polimerasa para sintetizar la región variable a partir de células productoras de ARN de anticuerpo (véanse, por ejemplo, Larrick y col., *Methods: A Companion to Methods in Enzymology* 2:106, 1991; Courtenay-Luck, "Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies", en *Monoclonal Antibodies: Production, Engineering and Clinical Application*, Ritter y col. (eds.), página 166 (Cambridge Universidad Press 1995); y Ward y col., "Genetic Manipulation and Expression of Antibodies", en *Monoclonal Antibodies: Principles and Applications*, Birch y col., (eds.), página 137 (Wiley-Liss, Inc. 1995)).

15 Los anticuerpos para su uso en la invención pueden en general ser monoclonales (preparados por inmunización convencional y procedimientos de fusión de células) o, en el caso de fragmentos, derivarse de los mismos usando cualquier técnica química convencional adecuada tal como técnicas de reducción o de escisión enzimática y/o digestión, por ejemplo, mediante tratamiento con pepsina. Más específicamente, los anticuerpos anti-proteína de unión a TGF-beta monoclonales pueden generarse utilizando una variedad de técnicas. Anticuerpos monoclonales de roedor para antígenos específicos pueden obtenerse mediante procedimientos conocidos para aquellos expertos en la materia (véanse, por ejemplo, Kohler y col., *Nature* 256:495, 1975; y Coligan y col. (eds.), *Current Protocols in Immunology*, 1:2.5.1-2.6.7 (John Wiley & Sons 1991) ["Coligan"]; Plicksley y col., "Production of monoclonal antibodies against proteins expressed in *E. coli*", en *DNA Cloning 2: Expression Systems*, 2ª edición, Glover y col. (eds.), página 93 (Oxford University Press 1995)).

25 Brevemente, los anticuerpos monoclonales pueden obtenerse inyectando ratones con una composición que comprende un producto génico de proteína de unión a TGF-beta, verificando la presencia de la producción de anticuerpos tomando una muestra de suero, extirpando el bazo para obtener linfocitos B, fusionando los linfocitos B con células de mieloma para producir hibridomas, clonando los hibridomas, seleccionando clones positivos que producen anticuerpos para el antígeno, cultivando los clones que producen anticuerpos para el antígeno y aislando los anticuerpos de los cultivos de hibridomas.

35 Además, un anticuerpo anti-proteína de unión a TGF-beta de la presente invención puede derivarse de un anticuerpo monoclonal humano. Los anticuerpos monoclonales humanos se obtienen de ratones transgénicos que han sido manipulados para producir anticuerpos humanos específicos en respuesta a exposición antigénica. En esta técnica, elementos del sitio de la cadena pesada y ligera humana se introducen en cepas de ratones derivadas de líneas de citoblastos embrionarios que contienen alteraciones elegidas como diana de los sitios endógenos de la cadena pesada y la cadena ligera. Los ratones transgénicos pueden sintetizar anticuerpos humanos específicos para antígenos humanos, y los ratones pueden usarse para producir hibridomas secretores de anticuerpos humanos. Procedimientos para obtener anticuerpos humanos a partir de ratones transgénicos se describen, por ejemplo, por Green y col., *Nature Genet.* 7:13, 1994; Lonberg y col., *Nature* 368:856, 1994; y Taylor y col., *Int. Immun.* 6:579, 1994.

45 Los anticuerpos monoclonales pueden aislarse y purificarse de cultivos de hibridomas mediante una variedad de técnicas bien establecidas. Tales técnicas de aislamiento incluyen cromatografía de afinidad con proteína A-Sepharose, cromatografía de exclusión por tamaño y cromatografía de intercambio iónico (véanse, por ejemplo, Coligan en las páginas 2.7.1-2.7.12 y páginas 2.9.1-2.9.3; Baines y col., "Purification of Immunoglobulin G (IgG)", en *Methods in Molecular Biology*, vol. 10, páginas 79-104 (The Humana Press, Inc. 1992)).

50 Para usos particulares puede desearse preparar fragmentos de anticuerpos anti-proteína de unión a TGF-beta. Tales fragmentos de anticuerpos pueden obtenerse, por ejemplo, por hidrólisis proteolítica del anticuerpo. Los fragmentos de anticuerpos pueden obtenerse por digestión con pepsina o papaína de anticuerpos completos mediante procedimientos convencionales. Como ilustración, pueden producirse fragmentos de anticuerpos por escisión enzimática de un anticuerpo con pepsina para proporcionar un fragmento 5 S indicado F(ab')₂. Este fragmento puede escindirarse adicionalmente usando un agente reductor de tiol para producir fragmentos monovalentes 3.5S Fab'. Opcionalmente, la reacción de escisión puede realizarse usando un grupo de bloqueo para los grupos sulfhidrilo que resultan de la escisión de enlaces disulfuro. Como alternativa, una escisión enzimática usando pepsina produce dos fragmentos monovalentes Fab y un fragmento Fc directamente. Estos procedimientos se describen, por ejemplo, por Goldenberg, patente de EE.UU. n° 4.331.647, Nisonoff y col., *Arch Biochem. Biophys.* 89:230, 1960, Porter, *Biochem. J.* 73:119, 1959, Edelman y col., en *Methods in Enzymology* 1:422 (Academic Press 1967) y por Coligan en las páginas 2.8.1-2.8.10 y 2.10.-2.10.4.

65 También pueden usarse otros procedimientos de escisión de anticuerpos, tales como separación de cadenas pesadas para formar fragmentos de cadenas ligeras-pesadas monovalentes, posterior escisión de fragmentos u otras técnicas enzimáticas, químicas o genéticas, mientras que los fragmentos se unan al antígeno que es reconocido por el anticuerpo intacto.

- Alternativamente, el anticuerpo puede ser un anticuerpo recombinante o manipulado obtenido por el uso de técnicas de ADN recombinante que implican la manipulación y re-expresión de ADN que codifica regiones variables y/o constantes de anticuerpos. Tal ADN es conocido y/o está fácilmente disponible de bibliotecas de ADN que incluyen, por ejemplo, bibliotecas de fago-anticuerpo (véase Chiswell, D J y McCafferty, J. *Tibtech.* 10 80-84 (1992)) o si se desea pueden sintetizarse. Pueden usarse procedimientos de biología molecular y/o química convencionales para secuenciar y manipular el ADN, por ejemplo, para introducir codones para crear residuos de cisteína, para modificar, añadir o deleccionar otros aminoácidos o dominios según se desee.

Uno o más vectores de expresión replicables que contienen el ADN que codifica una región variable y/o constante pueden prepararse y usarse para transformar una línea celular apropiada, por ejemplo, una línea de células de mieloma no productora, tal como una línea de NSO de ratón o una bacteriana tal como *E. coli*, en la que se producirá la producción del anticuerpo. Con el fin de obtener transcripción y traducción eficiente, la secuencia de ADN en cada vector debe incluir secuencias reguladoras apropiadas, particularmente una secuencia promotora y conductora operativamente ligadas a una secuencia de dominio variable. Procedimientos particulares para producir anticuerpos de esta forma son generalmente muy conocidos y rutinariamente usados. Por ejemplo, procedimientos de biología molecular básica se describen por Maniatis y col. (*Molecular Cloning*, Cold Spring Harbor Laboratory, Nueva York, 1989); puede realizarse secuenciación de ADN como se describe en Sanger y col. (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74: 5463, (1977)) y el manual de secuenciación de Amersham International plc; puede llevarse a cabo mutagénesis dirigida a sitio según el procedimiento de Kramer y col. (*Nucleic Acids Res.* 12, 9441, (1984)); el manual de Anglian Biotechnology; Kunkel *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:488-92 (1985); Kunkel y col., *Methods in Enzymol.* 154:367-82 (1987). Adicionalmente, numerosas publicaciones detallan técnicas adecuadas para la preparación de anticuerpos por manipulación de ADN, creación de vectores de expresión y transformación de células apropiadas, por ejemplo, como se revisa por Mountain A y Adair, J R en *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews* (ed. Tombs, M P, 10, Capítulo 1, 1992, Intercept, Andover, RU) y en la memoria descriptiva de patente internacional WO 91/09967.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo según la invención puede tener una o más moléculas efectoras o indicadoras unidas al mismo y la invención se extiende a tales proteínas modificadas. Una molécula indicadora puede ser un resto o marca detectable tal como una enzima, agente citotóxico u otra molécula indicadora, que incluye un colorante, radionúclido, grupo luminiscente, grupo fluorescente, o biotina, o similares. La inmunoglobulina específica para proteína de unión a TGF-beta o fragmento de la misma puede radiomarcarse para aplicaciones de diagnóstico o terapéuticas. Técnicas para radiomarcarse anticuerpos se conocen en la técnica. Véanse, por ejemplo, Adams 1998 *In Vivo* 12:11-21; Hiltunen 1993 *Acta Oncol.* 32:831-9. Aplicaciones terapéuticas se describen en mayor detalle más adelante y pueden incluir el uso del anticuerpo específico para proteína de unión a TGF-beta (o fragmento del mismo) conjuntamente con otros agentes terapéuticos. Las moléculas efectoras o indicadoras pueden unirse al anticuerpo mediante cualquier cadena lateral de aminoácidos disponible, aminoácido terminal o, si está presente, grupo funcional de hidrato de carbono localizado en el anticuerpo, a condición de que la unión o el procedimiento de unión no afecten adversamente las propiedades de unión y la utilidad de la molécula. Grupos funcionales particulares incluyen, por ejemplo, cualquier grupo amino, imino, tiol, hidroxilo, carboxilo o aldehído libre. La unión del anticuerpo y la(s) molécula(s) efectora(s) y/o indicadora(s) puede lograrse mediante tales grupos y un grupo funcional apropiado en las moléculas efectoras o indicadoras. El enlace puede ser directo o indirecto mediante grupos espaciadores o de puente.

Moléculas efectoras incluyen, por ejemplo, agentes antineoplásicos, toxinas tales como toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano (tales como exotoxina A de *P. aeruginosa*) o vegetal y fragmentos de las mismas (por ejemplo, ricina y fragmentos de la misma; gelonina vegetal, briodina de *Bryonia dioica*, o similares. Véanse, por ejemplo, Thrush y col., 1996 *Annu. Rev. Immunol.* 14:49-71; Frankel y col., 1996 *Cancer Res.* 56:926-32); proteínas biológicamente activas, por ejemplo enzimas; ácidos nucleicos y fragmentos de los mismos tales como ADN, ARN y fragmentos de los mismos; polímeros que se producen naturalmente y sintéticos (por ejemplo, polisacáridos y polímeros de polialquileno tales como poli(etilenglicol) y derivados de los mismos); radionúclidos, particularmente radioyoduro; y metales quelados. Grupos indicadores adecuados incluyen metales quelados, compuestos fluorescentes, o compuestos que pueden detectarse por RMN o espectroscopía de ESR. Grupos efectores particularmente útiles son caliqueamicina y derivados de la misma (véanse, por ejemplo, las memorias descriptivas de patente sudafricana nº 85/8794, 88/8127 y 90/2839).

Numerosas otras toxinas, que incluyen agentes quimioterapéuticos, agentes antimetabólicos, antibióticos, inductores de apoptosis (o "apoptógenos", véase, por ejemplo, Green y Reed, 1998, *Science* 281:1309-1312), o similares, son conocidos para aquellos familiarizados con la materia, y está previsto que los ejemplos proporcionados en el presente documento sean ilustrativos sin limitar el alcance y espíritu de la invención. Agentes antineoplásicos particulares incluyen agentes citotóxicos y citostáticos, por ejemplo, agentes alquilantes tales como mostazas de nitrógeno (por ejemplo, clorambucilo, melfalan, mecloretamina, ciclofosfamida o mostaza de uracilo) y derivados de los mismos, trietilfosforamida, trietilfosforamida, busulfano o cisplatino; antimetabólitos tales como metotrexato, fluorouracilo, floxuridina, citarabina, mercaptopurina, tioguanina, ácido fluoroacético o ácido fluorocítrico, antibióticos tales como bleomicinas (por ejemplo, sulfato de bleomicina), doxorubicina, daunorubicina, mitomicinas (por ejemplo, mitomicina C), actinomycinas (por ejemplo, -dactinomycinas), plicamicina, caliquemicina y derivados de los mismos, o esperamicina y derivados de la misma; inhibidores mitóticos tales como etopósido,

vincristina o vinblastina y derivados de los mismos; alcaloides tales como elipticina; polioles tales como taxicina-I o taxicina-II; hormonas tales como andrógenos (por ejemplo, dromostanolona o testolactona), progestinas (por ejemplo, acetato de megestrol o acetato de medroxiprogesterona), estrógenos (por ejemplo, difosfato de dimetilestilbestrol, fosfato de poliestradiol o fosfato de estramustina) o antiestrógenos (por ejemplo, tamoxifeno);
 5 antraquinonas tales como mitoxantrona, ureas tales como hidroxiiurea; hidracinas tales como procarbazona; o imidazoles tales como dacarbazina.

Metales quelados incluyen quelatos de metales di- o tripositivos que tienen un número de coordinación de 2 a 8, ambos incluidos. Ejemplos particulares de tales metales incluyen tecnecio (Tc), renio (Re), cobalto (Co), cobre (Cu),
 10 oro (Au), plata (Ag), plomo (Pb), bismuto (Bi), indio (In), galio (Ga), itrio (Y), terbio (Tb), gadolinio (Gd) y escandio (Sc). En general, el metal es preferentemente un radionúclido. Radionúclidos particulares incluyen ^{99m}Tc , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{58}Co , ^{60}Co , ^{67}Cu , ^{195}Au , ^{199}Au , ^{110}Ag , ^{203}Pb , ^{206}Bi , ^{207}Bi , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{88}Y , ^{90}Y , ^{160}Tb , ^{153}Gd y ^{47}Sc .

El metal quelado puede ser, por ejemplo, uno de los tipos anteriores de metales quelados con cualquier agente
 15 quelante polidentado adecuado, por ejemplo, poliaminas acíclicas o cíclicas, poliéteres (por ejemplo, éteres corona y derivados de los mismos); poliamidas; porfirinas; y derivados carbocíclicos. En general, el tipo de agente quelante dependerá del metal en uso. Sin embargo, un grupo particularmente útil de agentes quelantes en conjugados según la invención comprende poliaminas acíclicas y cíclicas, especialmente ácidos poliaminocarboxílicos, por ejemplo, ácido dietilentriaminapentaacético y derivados del mismo, y aminas macrocíclicas tales como derivados de tri-aza y
 20 tetra-aza cíclicos (por ejemplo, como se describen en la memoria descriptiva de patente internacional WO 92/22583), y poliamidas, especialmente desferrioxamina y derivados de la misma.

Si un grupo tiol en el anticuerpo se usa como punto de unión, esto puede lograrse mediante reacción con un grupo
 25 reactivo con tiol presente en la molécula efectora o indicadora. Ejemplos de tales grupos incluyen un ácido o éster á-halocarboxílico, tal como yodoacetamida, una imida, tal como maleimida, una vinilsulfona, o un disulfuro. Estos y otros procedimientos de enlace adecuados se describen más generalmente y más particularmente en las memorias descriptivas de patente internacional WO 93/06231, WO 92/22583, WO 90/091195 y WO 89/01476.

La presente invención proporciona anticuerpos que se unen específicamente a un polipéptido de esclerostina y usos
 30 para tales anticuerpos como se ha descrito anteriormente. La presente divulgación también proporciona inmunógenos del polipéptido de esclerostina que pueden usarse para la generación y análisis de estos anticuerpos. Los anticuerpos pueden ser útiles para bloquear o alterar la unión de un polipéptido de esclerostina, que es una proteína de unión a TGF-beta, a un ligando, particularmente a proteína morfogénica ósea, y también pueden bloquear o alterar la unión del polipéptido de esclerostina con uno o varios de otros ligandos.
 35

Los anticuerpos de la presente invención son útiles para aumentar el contenido mineral y densidad mineral del
 40 hueso, mejorando así numerosas afecciones que producen la pérdida de contenido mineral óseo que incluyen, por ejemplo, enfermedad, predisposición genética, accidentes que producen la falta de uso de hueso (por ejemplo, debido a fractura), terapéuticos que efectúan la resorción ósea o que destruyen células formadoras de hueso, y envejecimiento normal.

Como se indica anteriormente, son particularmente útiles anticuerpos anti-proteína de unión a TGF-beta que "se
 45 unen específicamente" a proteína de unión a TGF-beta de SEC ID N°: 46, pero no a otras proteínas de unión a TGF-beta tales como Dan, Cerberus, SCGF o Gremlin. Dentro del contexto de la presente invención, se entiende que los anticuerpos incluyen anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, inmunoglobulinas injertadas en CDR quiméricas monocatenarias y fragmentos de anticuerpos de las mismas (por ejemplo, Fab, Fd, Fab' y F(ab')₂, regiones variables Fv, o regiones determinantes de la complementariedad). Se entiende que los anticuerpos son específicos contra la proteína de unión a TGF-beta si se unen con una K_a superior a o igual a 10^7 M^{-1} , preferentemente superior a o igual a 10^8 M^{-1} , y no se unen a otras proteínas de unión a TGF-beta, o se unen con una
 50 K_a inferior a o igual a 10^6 M^{-1} . La afinidad de un anticuerpo por su antígeno relacionado también se expresa comúnmente como una constante de disociación K_D , y un anticuerpo anti-SOST se une específicamente a un miembro de la familia de TGF-beta si se une con una K_D inferior a o igual a aproximadamente 10^{-5} M , más preferentemente inferior a o igual a aproximadamente 10^{-6} M , todavía más preferentemente inferior a o igual a 10^{-7} M , y todavía más preferentemente inferior a o igual a 10^{-8} M . La afinidad de un anticuerpo monoclonal o componente
 55 de unión, además de la inhibición de la unión, puede determinarse fácilmente por un experto habitual en la materia (véase Scatchard, Ann. N. Y. Acad. Sci. 51:660-672, 1949). La afinidad también puede determinarse por resonancia de plasmones superficiales (SPR; BIAcore, Biosensor, Piscataway, N.J.). Para resonancia de plasmones superficiales, las moléculas diana se inmovilizan sobre una fase sólida y se exponen a ligandos en una fase móvil que fluye a lo largo de una celda de flujo. Si se produce la unión del ligando a la diana inmovilizada, cambia el índice de refracción local, conduciendo a un cambio en el ángulo de SPR, que puede monitorizarse en tiempo real detectando cambios en la intensidad de la luz reflejada. Las tasas de cambio de la señal de SPR pueden analizarse para dar constantes de velocidad aparentes para las fases de asociación y disociación de la reacción de unión. La relación de estos valores da la constante de equilibrio aparente (afinidad) (véase, por ejemplo, Wolff y col., Cancer Res. 53:2560-65 (1993)).
 60
 65

Un anticuerpo según la presente invención puede pertenecer a cualquier clase de inmunoglobulinas, por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD o IgA, y puede ser uno cualquiera de los isotipos diferentes que puede comprender una clase (tal como IgG1 IgG2, IgG3, y IgG4 de la clase de IgG humana). Puede obtenerse a partir de o derivarse de un animal, por ejemplo, fow1 (por ejemplo, pollo) y mamíferos, que incluyen, pero no se limitan a, un ratón, rata, hámster, conejo u otro roedor, una vaca, caballo, oveja, cabra, camello, ser humano u otro primate.

Procedimientos muy conocidos en la técnica pueden usarse para generar anticuerpos, anticuerpos policlonales o anticuerpos monoclonales que son específicos para la proteína de unión a TGF-beta SOST. Los anticuerpos también pueden producirse como inmunoglobulinas genéticamente manipuladas (Ig) o fragmentos de Ig diseñados para tener propiedades deseables. Por ejemplo, a modo de ilustración y no limitación, los anticuerpos pueden incluir una IgG recombinante que es una proteína de fusión quimérica que tiene al menos un dominio de la región variable (V) de una primera especie de mamífero y al menos un dominio de la región constante de una segunda especie de mamífero distinta. Lo más comúnmente, un anticuerpo quimérico tiene secuencias de la región variable murina y secuencias de la región constante humana. Una inmunoglobulina quimérica murina/humana tal puede "humanizarse" injertando las regiones determinantes de la complementariedad (CDR) derivadas de un anticuerpo murino, que confieren especificidad de unión por un antígeno, en regiones estructurales de la región V derivada de ser humano y regiones constantes derivadas de ser humano. Los fragmentos de estas moléculas pueden generarse por digestión proteolítica u, opcionalmente, por digestión proteolítica seguido de reducción suave de enlaces disulfuro y alquilación. Alternativamente, tales fragmentos también pueden generarse por técnicas de manipulación genética recombinante.

Ciertos anticuerpos preferidos son aquellos anticuerpos que inhiben o bloquean una actividad de proteína de unión a TGF-beta dentro de un ensayo *in vitro*, como se describe en el presente documento. Las propiedades de unión de un anticuerpo a proteína de unión a TGF-beta pueden evaluarse generalmente usando procedimientos de inmunodetección que incluyen, por ejemplo, un ensayo de inmunoadsorción (ELISA), inmunoprecipitación, inmunotransferencia, inmunoelectroforesis en contracorriente, radioinmunoensayos, ensayos de transferencia puntual, ensayos de inhibición o competición, y similares, que pueden realizarse fácilmente por aquellos expertos habituales en la materia (véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. n° 4.376.110 y 4.486.530; Harlow y col., *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)).

Un inmunógeno puede comprender células que expresan una proteína de unión a TGF-beta, polipéptidos de unión a TGF-beta purificados o parcialmente purificados, o variantes o fragmentos (es decir, péptidos) de los mismos, o péptidos derivados de una proteína de unión a TGF-beta. Tales péptidos pueden generarse por escisión proteolítica de un polipéptido mayor, por metodologías moleculares recombinantes, o pueden sintetizarse químicamente. Por ejemplo, en el presente documento se proporcionan secuencias de ácidos nucleicos que codifican proteínas de unión a TGF-beta, de forma que aquellos expertos en la materia pueden preparar rutinariamente proteínas de unión a TGF-beta para su uso como inmunógenos. Los péptidos pueden sintetizarse químicamente mediante procedimientos como se describen en el presente documento y conocidos en la técnica. Alternativamente, pueden generarse péptidos por escisión proteolítica de una proteína de unión a TGF-beta, y aislarse péptidos individuales mediante procedimientos conocidos en la técnica tales como electroforesis en gel de poliacrilamida o cualquier número de procedimientos de cromatografía de líquidos u otra separación. Péptidos útiles como inmunógenos normalmente pueden tener una secuencia de aminoácidos de al menos 4 ó 5 aminoácidos consecutivos de una secuencia de aminoácidos de proteína de unión a TGF-beta tales como aquellas descritas en el presente documento, y preferentemente tienen al menos 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 18, 19 ó 20 aminoácidos consecutivos de una proteína de unión a TGF-beta. Ciertos otros inmunógenos de péptido preferidos comprenden al menos 6, pero no más de 12 o más aminoácidos consecutivos, de una secuencia de proteínas de unión a TGF-beta, y otros inmunógenos de péptidos preferidos comprenden al menos 21, pero no más de 50 aminoácidos consecutivos de un polipéptido de SOST. Otros inmunógenos de péptido preferidos comprenden 21-25, 26-30, 31-35, 36-40, 41-50, o cualquier número entero completo de aminoácidos entre y que incluye 21 y 100 aminoácidos consecutivos, y entre 100 y 190 aminoácidos consecutivos de una secuencia de proteínas de unión a TGF-beta.

Como se desvela en el presente documento, los anticuerpos policlonales pueden generarse fácilmente por un experto habitual en la materia a partir de una variedad de animales de sangre caliente tales como caballos, vacas, diversas aves de corral, conejos, ratones, ovejas, cabras, babuinos o ratas. Normalmente, la proteína de unión a TGF-beta o único péptido de la misma de 13-20 aminoácidos como se describe en el presente documento (preferentemente conjugado con hemocianina de lapa californiana por reticulación con glutaraldehído) se usa para inmunizar el animal mediante inyecciones intraperitoneales, intramusculares, intraoculares, intradérmicas o subcutáneas, junto con un adyuvante tal como adyuvante completo o incompleto de Freund, o el sistema de adyuvantes Ribi (Corixa Corporation, Seattle, WA). Véase entonces, por ejemplo, Harlow y col., arriba. En general, después de la primera inyección, los animales reciben una o más inmunizaciones de refuerzo según un programa preferido que puede variar según, entre otros, el antígeno, el adyuvante (si lo hay) y/o las especies de animales particulares. La respuesta inmunitaria puede monitorizarse sangrando periódicamente el animal y preparando y analizando sueros de un inmunoensayo, tal como un ELISA o ensayo de difusión de Ouchterlony, o similares, para determinar el título específico para anticuerpo. Antisueros policlonales particularmente preferidos darán una señal detectable en uno de estos ensayos, tales como un ELISA, que es preferentemente al menos tres veces superior al ruido. Una vez el título del animal ha alcanzado una meseta en términos de su reactividad a la proteína, cantidades

más grandes de antisueros puede obtenerse fácilmente tanto por sangrados semanales como desangrando el animal.

Anticuerpos policlonales que se unen específicamente a la proteína o péptido de unión a TGF-beta pueden entonces purificarse a partir de tales antisueros, por ejemplo, por cromatografía de afinidad usando proteína A. Alternativamente, la cromatografía de afinidad puede realizarse donde la proteína o péptido de unión a TGF-beta o un anticuerpo específico para una región constante de Ig de la especie de animal inmunizado particular se inmoviliza sobre un soporte sólido adecuado.

Anticuerpos para su uso en la invención incluyen anticuerpos monoclonales que se preparan por inmunización convencional y procedimientos de fusión de células como se describen en el presente documento y se conocen en la materia. Los anticuerpos monoclonales pueden generarse fácilmente usando técnicas convencionales (véanse, por ejemplo, Kohler y col., *Nature* 256:495, 1975; Coligan y col. (eds.), *Current Protocols in Immunology*, 1:2.5.1-2.6.7 (John Wiley & Sons 1991) ["Coligan"]; las patentes de EE.UU. n° RE 32.011, 4.902.614, 4.543.439 y 4.411.993; véanse también *Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses*, Plenum Press, Kennett, McKearn y Bechtol (eds.), 1980, y *Antibodies: A Laboratory Manual*, Harlow y Lane (eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988; Picksley y col., "Production of monoclonal antibodies against proteins expressed in *E. coli*", en *DNA Cloning 2: Expression Systems*, 2ª edición, Glover y col. (eds.), página 93 (Oxford University Press 1995)). Los fragmentos de anticuerpos pueden derivarse de los mismos usando cualquier técnica convencional adecuada tal como digestión proteolítica u, opcionalmente, por digestión proteolítica (por ejemplo, usando papaína o pepsina) seguido de reducción suave de enlaces disulfuro y alquilación. Alternativamente, tales fragmentos también pueden generarse por técnicas de ingeniería genética recombinantes.

Brevemente, dentro de una realización, un animal objeto tal como una rata o ratón o hámster se inmuniza con proteína de unión a TGF-beta o una parte de una región de la misma, que incluye péptidos dentro de una región, como se ha descrito en el presente documento. La proteína puede mezclarse con un adyuvante tal como adyuvante completo o incompleto de Freund o adyuvante de Ribí con el fin de aumentar la respuesta inmunitaria resultante. Entre una y tres semanas después de la inmunización inicial, el animal puede volver a inmunizarse con otra inmunización de refuerzo, y probarse para reactividad a la proteína usando ensayos descritos en el presente documento. Una vez el animal ha alcanzado una meseta en su reactividad a la proteína inyectada, se sacrifica y se recogen los órganos que contienen grandes números de linfocitos B tales como el bazo y los ganglios linfáticos. Las suspensiones de bazo y/o ganglio linfático recogidas de células se fusionan con una célula de mieloma adecuada que es sensible al fármaco con el fin de crear un "hibridoma" que secreta anticuerpo monoclonal. Líneas de mieloma adecuadas incluyen, por ejemplo, NS-0, SP20, NS-1 (ATCC n° TIB 18) y P3X63 - Ag 8.653 (ATCC n° CRL 1580).

Las células linfoides (por ejemplo, bazo) y las células de mieloma pueden combinarse durante algunos minutos con un agente promotor de la fusión de membranas, tal como polietilenglicol o un detergente no iónico, y luego se siembran a baja densidad sobre un medio selectivo que soporta el crecimiento de células de hibridoma, pero no células de mieloma sin fusionar. Tras la fusión, las células pueden disponerse en placas de cultivo que contienen un medio adecuado, tal como RPMI 1640 o DMEM (medio Eagle modificado por Dulbecco) (JRH Biosciences, Lenexa, Kansas), además de componentes adicionales tales como suero bovino fetal (SBF, es decir, de Hyclone, Logan, Utah, o JRH Biosciences). Adicionalmente, el medio debe contener un reactivo que permita selectivamente el crecimiento de células del bazo y de mieloma fusionadas tales como HAT (hipoxantina, aminopterina y timidina) (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri). Después de aproximadamente siete días, las células fusionadas resultantes o hibridomas pueden cribarse con el fin de determinar la presencia de anticuerpos que son reactivos con proteína de unión a TGF-beta (dependiendo del antígeno usado) y que bloquean, alteran o inhiben la unión de proteína de unión a TGF-beta a un miembro de la familia de TGF-beta. Se prefieren hibridomas que producen anticuerpos monoclonales que se unen específicamente a esclerostina o una variante de los mismos.

Puede utilizarse una amplia variedad de ensayos para determinar la presencia de anticuerpos que son reactivos contra las proteínas de la presente invención que incluyen, por ejemplo, inmunoelectroforesis en contracorriente, radioinmunoensayos, radioinmunoprecipitaciones, enzoinmunoanálisis de adsorción (ELISA), ensayos de transferencia puntual, transferencias Western, inmunoprecipitación, ensayos de inhibición o competición y ensayos de tipo sándwich (véanse las patentes de EE.UU. n° 4.376.110 y 4.486.530; véase también *Antibodies: A Laboratory Manual*, Harlow y Lane (eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988). Los hibridomas se clonan, por ejemplo, por clonación por dilución limitada o por aislamiento en placas de agar blando, y se vuelven a ensayar. Así pueden aislarse anticuerpos productores de hibridomas reactivos contra la proteína deseada.

Los anticuerpos monoclonales de los cultivos de hibridomas pueden aislarse de los sobrenadantes de cultivos de hibridomas. Un procedimiento alternativo para la producción de un anticuerpo monoclonal murino es inyectar las células de hibridoma en la cavidad peritoneal de un ratón singéico, por ejemplo, un ratón que ha sido tratado (por ejemplo, sensibilizado con pristano) para promover la formación de fluido ascítico que contiene el anticuerpo monoclonal. Los anticuerpos monoclonales pueden aislarse y purificarse mediante una variedad de técnicas bien establecidas. Tales técnicas de aislamiento incluyen cromatografía de afinidad con proteína A-Sepharose, cromatografía de exclusión por tamaño y cromatografía de intercambio iónico (véanse, por ejemplo, Coligan en las páginas 2.7.1-2.7.12 y las páginas 2.9.1-2.9.3; Baines y col., "Purification of Immunoglobulin G (IgG)" en *Methods in Molecular Biology*, vol. 10, páginas 79-104 (The Humana Press, Inc. 1992)). Los anticuerpos monoclonales pueden

purificarse por cromatografía de afinidad usando un ligando apropiado seleccionado basándose en propiedades particulares del anticuerpo (por ejemplo, isotipo de cadena pesada o ligera, especificidad de unión, etc.). Ejemplos de un ligando adecuado, inmovilizado sobre un soporte sólido, incluyen proteína A, proteína G, un anticuerpo anti-región constante (cadena ligera o cadena pesada), un anticuerpo antiidiotípico y una proteína de unión a TGF-beta, o fragmento o variante del mismo.

Además, un anticuerpo anti-proteína de unión a TGF-beta de la presente invención puede ser un anticuerpo monoclonal humano. Los anticuerpos monoclonales humanos pueden generarse por cualquier número de técnicas con las que aquellos expertos habituales en la materia estarán familiarizados. Tales procedimientos incluyen, pero no se limitan a, transformación con el virus de Epstein-Barr (EBV) de glóbulos sanguíneos periféricos humanos (por ejemplo, que contienen linfocitos B), inmunización *in vitro* de linfocitos B humanos, fusión de células del bazo de ratones transgénicos inmunizados que llevan genes de inmunoglobulina humana insertados, aislamiento de bibliotecas de fagos de regiones V de inmunoglobulina humana, u otros procedimientos como se conocen en la técnica y basándose en la divulgación en el presente documento. Por ejemplo, pueden obtenerse anticuerpos monoclonales humanos de ratones transgénicos que han sido manipulados para producir anticuerpos humanos específicos en respuesta a exposición antigénica. Los procedimientos para obtener anticuerpos humanos de ratones transgénicos se describen, por ejemplo, por Green y col., *Nature Genet.* 7:13, 1994; Lonberg y col., *Nature* 368:856, 1994; Taylor y col., *Int. Immun.* 6:579, 1994; patente de EE.UU. n° 5.877.397; Bruggemann y col., 1997 *Curr. Opin. Biotechnol.* 8:455-58; Jakobovits y col., 1995 *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 764:525-35. En esta técnica, elementos del sitio de la cadena pesada y ligera humana se introducen en cepas de ratones derivadas de líneas de citoblastos embrionarios que contienen alteraciones elegidas como diana de los sitios endógenos de la cadena pesada y cadena ligera (véase también Bruggemann y col., *Curr. Opin. Biotechnol.* 8:455-58 (1997)). Por ejemplo, transgenes de la inmunoglobulina humana pueden ser construcciones de mini-gen, o trans-sitios sobre cromosomas de levadura artificial, que experimentan transposición de ADN específica para linfocitos B e hipermutación en el tejido linfóide de ratón. Los anticuerpos monoclonales humanos pueden obtenerse inmunizando los ratones transgénicos, que pueden luego producir anticuerpos humanos específicos para el antígeno. Las células linfoides de los ratones transgénicos inmunizados pueden usarse para producir hibridomas secretores de anticuerpos humanos según los procedimientos descritos en el presente documento. Los sueros policlonales que contienen anticuerpos humanos también pueden obtenerse a partir de la sangre de los animales inmunizados.

Otro procedimiento para generar anticuerpos monoclonales específicos para proteína de unión a TGF-beta humana incluye inmortalizar glóbulos sanguíneos periféricos humanos por transformación de EBV. Véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. n° 4.464.456. Una línea de linfocitos B inmortalizada tal (o línea celular linfoblastoide) que produce un anticuerpo monoclonal que se une específicamente a una proteína de unión a TGF-beta (o una variante o fragmento de la misma) puede identificarse por procedimientos de inmunodetección como se proporcionan en el presente documento, por ejemplo, un ELISA, y luego aislarse por técnicas de clonación convencionales. La estabilidad de la línea celular linfoblastoide que produce un anticuerpo anti-proteína de unión a TGF-beta puede mejorarse fusionando la línea celular transformada con un mieloma murino para producir una línea celular híbrida de ratón-humano según procedimientos conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Glasky y col., *Hybridoma* 8:377-89 (1989)). Todavía otro procedimiento para generar anticuerpos monoclonales humanos es inmunización *in vitro*, que incluye sensibilizar linfocitos B esplénicos humanos con antígeno, seguido de fusión de linfocitos B sensibilizados con un componente de fusión heterohíbrido. Véase, por ejemplo, Boerner y col., 1991 *J. Immunol.* 147:86-95.

En ciertas realizaciones se selecciona un linfocito B que está produciendo un anticuerpo anti-SOST y las regiones variables de la cadena ligera y cadena pesada se clonan a partir del linfocito B según técnicas de biología molecular conocidas en la técnica (documento WO 92/02551; patente de EE.UU. 5.627.052; Babcook y col., *Proc. Natl. A cad. Sci. USA* 93:7843-48 (1996)) y descritas en el presente documento. Preferentemente, los linfocitos B de un animal inmunizado se aíslan del bazo, ganglio linfático o muestra de sangre periférica seleccionando una célula que está produciendo un anticuerpo que se une específicamente a SOST. Los linfocitos B también pueden aislarse de seres humanos, por ejemplo, de una muestra de sangre periférica. Procedimientos para detectar linfocitos B individuales que están produciendo un anticuerpo con la especificidad deseada son muy conocidos en la técnica, por ejemplo, por formación de placas, citometría activada por fluorescencia, estimulación *in vitro*, seguida de detección de anticuerpo específico, y similares. Procedimientos para la selección de linfocitos B productores de anticuerpos específicos incluyen, por ejemplo, preparar una suspensión de una sola célula de células de linfocitos B en agar blando que contiene SOST o un fragmento de péptido de la misma. La unión del anticuerpo específico producida por el linfocito B al antígeno produce la formación de un complejo, que puede ser visible como inmunoprecipitado. Después de seleccionar los linfocitos B que producen el anticuerpo específico, los genes de anticuerpos específicos pueden clonarse aislando y amplificando ADN o ARNm según procedimientos conocidos en la técnica y descritos en el presente documento.

Para usos particulares pueden desearse fragmentos de anticuerpos anti-proteína de unión a TGF-beta. Los fragmentos de anticuerpos, F(ab')₂, Fab, Fab', Fv, Fc, Fd, retienen el sitio de unión a antígeno del anticuerpo completo y, por tanto, se unen al mismo epítipo. Estos fragmentos de unión a antígeno derivados de un anticuerpo pueden obtenerse, por ejemplo, por hidrólisis proteolítica del anticuerpo, por ejemplo, digestión con pepsina o papaína de anticuerpos completos según procedimientos convencionales. Como ilustración, los fragmentos de anticuerpos pueden producirse por escisión enzimática de anticuerpos con pepsina para proporcionar un fragmento

5S indicado F(ab')₂. Este fragmento puede escindirse adicionalmente usando un agente reductor de tiol para producir fragmentos monovalentes 3.5S Fab'. Opcionalmente, la reacción de escisión puede realizarse usando un grupo de bloqueo para los grupos sulfhidrilo que resultan de la escisión de enlaces disulfuro. Como alternativa, una escisión enzimática usando papaína produce dos fragmentos monovalentes Fab y un fragmento Fc directamente. Estos procedimientos se describen, por ejemplo, por Goldenberg, patente de EE.UU. nº 4.331.647, Nisonoff y col., Arch. Biochem. Biophys. 89:230, 1960; Porter, Biochem. J. 73:119, 1959; Edelman y col., en *Methods in Enzymology* 1:422 (Academic Press 1967); y por Coligan en las páginas 2.8.1-2.8.10 y 2.10.-2.10.4. También pueden usarse otros procedimientos para escindir anticuerpos, tales como separar cadenas pesadas para formar fragmentos de la cadena ligera-pesada monovalentes (Fd), escindir adicionalmente fragmentos, u otras técnicas enzimáticas, químicas o genéticas, mientras que los fragmentos se unan al antígeno que es reconocido por el anticuerpo intacto.

Un fragmento de anticuerpo también puede ser cualquier proteína sintética o genéticamente manipulada que actúa de anticuerpo porque se une a un antígeno específico para formar un complejo. Por ejemplo, fragmentos de anticuerpos incluyen fragmentos aislados que consisten en la región variable de la cadena ligera, fragmentos "Fv" que consisten en las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras, moléculas de polipéptidos monocatenarias recombinantes en las que las regiones variables ligeras y pesadas están conectadas por un ligador de péptidos (proteínas scFv) y unidades de reconocimiento mínimo que consisten en los residuos de aminoácidos que imitan la región hipervariable. El anticuerpo de la presente invención comprende preferentemente al menos un dominio de la región variable. El dominio de la región variable puede ser de cualquier tamaño o composición de aminoácidos y generalmente comprenderá al menos una secuencia de aminoácidos hipervariable responsable de la unión a antígeno y que es adyacente a o está en marco con una o más secuencias de la región estructural. En términos generales, el dominio de la región variable (V) puede ser cualquier disposición adecuada de dominios variables de la cadena pesada (V_H) y/o ligera (V_L) de inmunoglobulina. Así, por ejemplo, el dominio de la región V puede ser monomérico y ser un dominio V_H o V_L, que puede unir independientemente antígeno con afinidad aceptable. Alternativamente, el dominio de la región V puede ser dimérico y contener dímeros V_H-V_H, V_H-V_L o V_L-V_L. Preferentemente, el dímero de la región V comprende al menos una cadena V_H y al menos una V_L que no están covalentemente asociadas (denominado en lo sucesivo F_v). Si se desea, las cadenas pueden acoplarse covalentemente tanto directamente, por ejemplo, mediante un enlace disulfuro entre los dos dominios variables, como mediante un ligador, por ejemplo, un ligador de péptidos, para formar un Fv monocatenario (scFv).

El dominio de la región variable puede ser cualquier dominio variable que se produzca naturalmente o una versión modificada del mismo. Por versión manipulada se indica un dominio de la región variable que ha sido creado usando técnicas de manipulación de ADN recombinante. Tales versiones manipuladas incluyen aquellas creadas, por ejemplo, a partir de una región variable de anticuerpo específico por inserciones, deleciones o cambios en o a las secuencias de aminoácidos del anticuerpo específico. Ejemplos particulares incluyen dominios de la región variable manipulados que contienen al menos una CDR y opcionalmente uno o más aminoácidos de la región estructural de un primer anticuerpo y el resto del dominio de la región variable de un segundo anticuerpo.

El dominio de la región variable puede unirse covalentemente en un aminoácido del extremo C a al menos otro dominio de anticuerpo o un fragmento del mismo. Así, por ejemplo, un dominio V_H que está presente en el dominio de la región variable puede ligarse a un dominio C_{H1} de inmunoglobulina, o un fragmento del mismo. Similarmente, un dominio V_L puede ligarse a un dominio C_K o un fragmento del mismo. De esta forma, por ejemplo, el anticuerpo puede ser un fragmento Fab donde el dominio de unión a antígeno contiene asociados dominios V_H y V_L covalentemente ligados en su extremo C a un dominio C_{H1} y C_K, respectivamente. El dominio C_{H1} puede extenderse con aminoácidos adicionales, por ejemplo, para proporcionar una región bisagra o una parte de un dominio de la región bisagra como se encuentra en un fragmento Fab', o para proporcionar adicionalmente dominios, tales como dominios C_{H2} y C_{H3} de anticuerpo.

Otra forma de un fragmento de anticuerpo es un péptido que comprende una única región determinante de la complementariedad (CDR). Los péptidos de CDR ("unidades de reconocimiento mínimo") pueden obtenerse construyendo polinucleótidos que codifican la CDR de un anticuerpo de interés. Tales polinucleótidos se preparan, por ejemplo, usando la reacción en cadena de la polimerasa para sintetizar la región variable usando ARNm de células productoras de anticuerpo como molde (véanse, por ejemplo, Larrick y col., *Methods: A Companion to Methods in Enzymology* 2:106, 1991; Courtenay-Luck, "Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies", en *Monoclonal Antibodies: Production, Engineering and Clinical Application*, Ritter y col. (eds.), página 166 (Cambridge University Press 1995); y Ward y col., "Genetic Manipulation and Expression of Antibodies", en *Monoclonal Antibodies: Principles and Applications*, Birch y col., (eds.), página 137 (Wiley-Liss, Inc. 1995)).

Alternativamente, el anticuerpo puede ser un anticuerpo recombinante o manipulado obtenido por el uso de técnicas de ADN recombinante que implican la manipulación y re-expresión de ADN que codifica regiones variables y/o constantes de anticuerpos. Tal ADN es conocido y/o está fácilmente disponible de bibliotecas de ADN que incluyen, por ejemplo, bibliotecas de fago-anticuerpo (véase Chiswell y McCafferty, *Tibtech*. 10:80-84 (1992)) o si se desea puede sintetizarse. Pueden usarse procedimientos de biología molecular y/o química convencionales para secuenciar y manipular el ADN, por ejemplo, para introducir codones para crear residuos de cisteína, o para modificar, añadir o deleccionar otros aminoácidos o dominios según se desee.

Según la presente invención también pueden generarse anticuerpos quiméricos, específicos para una proteína de unión a TGF-beta, y que incluyen anticuerpos humanizados. Un anticuerpo quimérico tiene al menos un dominio de la región constante derivado de una primera especie de mamífero y al menos un dominio de la región variable derivado de una segunda especie de mamífero distinta (véase, por ejemplo, Morrison y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-55 (1984)). En realizaciones preferidas, un anticuerpo quimérico puede construirse clonando la secuencia de polinucleótidos que codifica al menos un dominio de la región variable derivado de un anticuerpo monoclonal no humano, tal como la región variable derivada de un anticuerpo monoclonal murino, de rata o de hámster, en un vector que contiene una secuencia de nucleótidos que codifica al menos una región constante humana (véanse, por ejemplo, Shin y col., Methods Enzymol. 178:459-76 (1989); Walls y col., Nucleic Acids Res. 21:2921-29 (1993)). A modo de ejemplo, la secuencia de polinucleótidos que codifica la región variable de la cadena ligera de un anticuerpo monoclonal murino puede insertarse en un vector que contiene una secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de la región constante de la cadena ligera kappa humana. En un vector separado, la secuencia de polinucleótidos que codifica la región variable de la cadena pesada del anticuerpo monoclonal puede clonarse con secuencias que codifican una región constante de IgG humana, por ejemplo, la región constante de IgG1 humana. La región constante humana particular seleccionada puede depender de las funciones efectoras deseadas para el anticuerpo particular (por ejemplo, fijación del complemento, unión a un receptor de Fc particular, etc.). Preferentemente, los vectores construidos se transfectarán en células eucariotas para la expresión estable del anticuerpo quimérico. Otro procedimiento conocido en la técnica para generar anticuerpos quiméricos es recombinación de homólogos (por ejemplo, patente de EE.UU. n° 5.482.856).

Un anticuerpo quimérico no humano/humano puede manipularse adicionalmente genéticamente para crear un anticuerpo "humanizado". Un anticuerpo humanizado tal puede comprender una pluralidad de CDR derivadas de una inmunoglobulina de una especie de mamífero no humano, al menos una región estructural variable humana y al menos una región constante de inmunoglobulina humana. Estrategias útiles para diseñar anticuerpos humanizados pueden incluir, por ejemplo, a modo de ilustración y no de limitación, identificación de regiones estructurales variables humanas que son lo más homólogas con las regiones estructurales no humanas del anticuerpo quimérico. Sin desear ceñirse a teoría alguna, una estrategia tal puede aumentar la probabilidad de que el anticuerpo humanizado retenga la afinidad de unión específica por una proteína de unión a TGF-beta, que en algunas realizaciones preferidas puede ser sustancialmente la misma afinidad por una proteína de unión a TGF-beta o variante o fragmento de la misma, y en ciertas otras realizaciones preferidas puede ser una afinidad mayor por la proteína de unión a TGF-beta. Véanse, por ejemplo, Jones y col., 1986 Nature 321:522-25; Riechmann y col., 1988 Nature 332:323-27. Por tanto, el diseño de un anticuerpo humanizado tal puede incluir determinar conformaciones de bucle de CDR y determinantes estructurales de las regiones variables no humanas, por ejemplo, por modelado informático, y luego comparar los bucles de CDR y determinantes con estructuras de bucle de CDR humanas y determinantes. Véanse, por ejemplo, Padlan y col., 1995 FASEB 9:133-39; Chothia y col., 1989 Nature, 342:377-383. El modelado informático también puede usarse para comparar moldes estructurales humanos seleccionados por homología de secuencias con las regiones variables no humanas. Véanse, por ejemplo, Bajorath y col., 1995 Ther. Immunol. 2:95-103; documento EP-0578515-A3. Si la humanización de las CRD no humanas produce una disminución en la afinidad de unión, el modelado informático puede ayudar en la identificación de residuos de aminoácidos específicos que podrían cambiarse por técnicas de mutagénesis dirigidas a sitio u otras para restaurar parcialmente, completamente o supra-óptimamente (es decir, aumentar a un nivel superior al del anticuerpo no humanizado) la afinidad. Aquellos expertos habituales en la materia están familiarizados con estas técnicas, y apreciarán fácilmente numerosas variaciones y modificaciones a tales estrategias de diseño.

Un procedimiento tal para preparar un anticuerpo humanizado se llama inactivación. Como se usa en el presente documento, los términos "FR inactivadas" y "FR recombinantemente inactivadas" se refieren a la sustitución selectiva de residuos de FR de, por ejemplo, una región V de la cadena pesada o ligera de roedor, con residuos de FR humanos con el fin de proporcionar una molécula xenogénea que comprende un sitio de unión a antígeno que retiene sustancialmente toda la estructura de plegamiento de polipéptidos de FR nativa. Las técnicas de inactivación se basan en el entendimiento de que las características de unión del ligando de un sitio de unión a antígeno se determinan principalmente por la estructura y disposición relativa de los conjuntos de CDR de cadena pesada y ligera dentro de la superficie de unión a antígeno. Davies y col., Ann. Rev. Biochem. 59:439-73, 1990. Así, la especificidad de unión a antígeno puede preservarse en un anticuerpo humanizado solo donde las estructuras de CDR, su interacción entre sí y su interacción con el resto de los dominios de la región V se mantengan cuidadosamente. Usando técnicas de inactivación, residuos de FR exteriores (por ejemplo, accesibles a disolventes) que son fácilmente encontrados por el sistema inmunitario se sustituyen selectivamente con residuos humanos para proporcionar una molécula híbrida que comprende tanto una superficie inactivada débilmente inmunogénica como sustancialmente no inmunogénica.

El procedimiento de inactivación hace uso de los datos de secuencia disponibles para dominios variables de anticuerpos humanos compilados por Kabat y col. en Sequences of Proteins of Immunological Interest, 4ª ed., (U.S. Dept. of Health and Human Services, U.S. Government Printing Office, 1987), actualizaciones de la base de datos de Kabat y otras bases de datos de EE.UU. y extrajeras accesibles (tanto de ácido nucleico como proteína). Las accesibilidades al disolvente de aminoácidos de la región V pueden deducirse de la estructura tridimensional conocida para fragmentos de anticuerpos humanos y murinos. Inicialmente, las FR de los dominios variables de una molécula de anticuerpo de interés se comparan con secuencias de FR correspondientes de dominios variables

humanos obtenidos de las fuentes anteriormente identificadas. Entonces, las regiones V humanas más homólogas se comparan residuo a residuo con aminoácidos murinos correspondientes. Los residuos en la FR murina que se diferencian del homólogo humano se sustituyen con los residuos presentes en el resto humano usando técnicas recombinantes muy conocidas en la técnica. El cambio de residuos solo se lleva a cabo con restos que están al menos parcialmente expuestos (accesibles al disolvente), y se tiene cuidado en la sustitución de residuos de aminoácidos que puedan tener un efecto significativo sobre la estructura terciaria de dominios de la región V, tales como prolina, glicina y aminoácidos cargados.

De este modo, los sitios de unión a antígeno "inactivados" resultantes se diseñan así para retener los residuos de CDR de roedor, los residuos sustancialmente adyacentes a las CDR, los residuos identificados como enterrados o principalmente enterrados (inaccesibles al disolvente), los residuos que se cree que participan en contactos no covalentes (por ejemplo, electrostáticos e hidrófobos) entre dominios de la cadena pesada y ligera, y los residuos de regiones estructurales conservadas de las FR que se cree que influyen en las estructuras terciarias "canónicas" de los bucles de CDR. Entonces, estos criterios de diseño se usan para preparar secuencias de nucleótidos recombinantes que combinan las CDR de tanto la cadena pesada como ligera de un sitio de unión a antígeno en FR que parecen humanas que pueden usarse para transfectar células de mamífero para la expresión de anticuerpos humanos recombinantes que presentan la especificidad por antígenos de la molécula de anticuerpo de roedor.

Un procedimiento adicional para seleccionar anticuerpos que se unen específicamente a una proteína de unión a TGF-beta o variante o fragmento de la misma es por expresión en fago. Véanse, por ejemplo, Winter y col., 1994 *Annu. Rev. Immunol.* 12:433-55; Burton y col., 1994 *Adv. Immunol.* 57:191-280. Pueden crearse bibliotecas combinatorias de genes de regiones variables de inmunoglobulina humanas o murinas en vectores de fago que pueden cribarse para seleccionar fragmentos de Ig (Fab, Fv, sFv, o multímeros de los mismos) que se unen específicamente a proteína de unión a TGF-beta o variante o fragmento de la misma. Véanse, por ejemplo, la patente de EE.UU. n° 5.223.409; William D. Huse y col., "Generation of a Large Combinational Library of the Immunoglobulin Repertoire in Phage Lambda", *Science* 246:1275-1281, diciembre de 1989; véanse también L. Sastry y col., "Cloning of the Immunological Repertoire in *Escherichia coli* for Generation of Monoclonal Catalytic Antibodies: Construction of a Heavy Chain Variable Region-Specific cDNA Library", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:5728-5732, agosto de 1989; véanse también Michelle Alting-Mees y col., "Monoclonal Antibody Expression Libraries: A Rapid Alternative to Hybridomas", *Strategies in Molecular Biology* 3:1-9, enero de 1990; Kang y col., 1991 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:4363-66; Hoogenboom y col., 1992 *J. Molec. Biol.* 227:381-388; Schlebusch y col., 1997 *Hybridoma* 16:47-52 y referencias citadas en su interior). Un sistema comercial está disponible de Stratagene (La Jolla, California) que permite la producción de anticuerpos mediante técnicas recombinantes. Brevemente, se aísla ARNm de una población de linfocitos B y se utiliza para crear bibliotecas de expresión de ADNc de inmunoglobulina de la cadena pesada y ligera en los vectores λ ImmunoZap(H) y λ ImmunoZap(L). Placas positivas pueden convertirse posteriormente en un plásmido no lítico que permite la expresión de alto nivel de fragmentos de anticuerpo monoclonal de *E. coli*. Alternativamente, una biblioteca que contiene una pluralidad de secuencias de polinucleótidos que codifica fragmentos de la región variable de Ig puede insertarse en el genoma de un bacteriófago filamentoso, tal como M13 o una variante del mismo, en marco con la secuencia que codifica una proteína de la envoltura de fago. Una proteína de fusión puede ser una fusión de la proteína de la envoltura con el dominio de la región variable de la cadena ligera y/o con el dominio de la región variable de la cadena pesada. Según ciertas realizaciones, fragmentos Fab de inmunoglobulina también pueden expresarse en una partícula de fago (véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. n° 5.698.426). Estos vectores pueden cribarse individualmente o co-expresarse para formar fragmentos Fab o anticuerpos (véase Huse y col., arriba; véase también Sastry y col., arriba).

Similarmente, porciones o fragmentos, tales como fragmentos Fab y Fv, de anticuerpos también pueden construirse utilizando digestión enzimática convencional o técnicas de ADN recombinante para incorporar las regiones variables de un gen que codifica un anticuerpo que se une específicamente. Dentro de una realización, los genes que codifican la región variable de un hibridoma que produce un anticuerpo monoclonal de interés se amplifican usando cebadores de nucleótidos para la región variable. Estos cebadores pueden sintetizarse por un experto habitual en la materia, o pueden comprarse de fuentes comercialmente disponibles. Stratagene (La Jolla, California) comercializa cebadores para regiones variables de ratón y humanas que incluyen, entre otros, cebadores para regiones V_{Ha} , V_{Hb} , V_{Hc} , V_{Hd} , C_{H1} , V_L y C_L . Estos cebadores pueden utilizarse para amplificar regiones variables de la cadena pesada o ligera, que pueden entonces insertarse en vectores tales como ImmunoZAP™ H o ImmunoZAP™ L (Stratagene), respectivamente. Estos vectores pueden entonces introducirse en *E. coli*, levadura o sistemas basados en mamífero para la expresión. Utilizando estas técnicas pueden producirse grandes cantidades de una proteína monocatenaria que contienen una fusión de los dominios V_H y V_L (véase Bird y col., *Science* 242:423-426, 1988). Además, tales técnicas pueden utilizarse para cambiar un "anticuerpo murino" a un anticuerpo "humano" sin alterar la especificidad de unión del anticuerpo.

En ciertas realizaciones particulares de la invención también pueden usarse bibliotecas de fagos combinatorias para humanización de regiones variables no humanas. Véanse, por ejemplo, Rosok y col., 1996 *J. Biol. Chem.* 271:22611-18; Rader y col., 1998 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:8910-15. Una biblioteca de fagos puede cribarse para seleccionar un fragmento de la región variable de Ig de interés por procedimientos de inmunodetección conocidos en la técnica y descritos en el presente documento, y la secuencia de ADN del gen de inmunoglobulina

insertado en el fago así seleccionado puede determinarse por técnicas convencionales. Véase, Sambrook y col., 2001 *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press. La secuencia codificante de Ig seleccionada puede entonces clonarse en otro vector adecuado para la expresión del fragmento de Ig u, opcionalmente, puede clonarse en un vector que contiene regiones constantes de Ig, para la expresión de cadenas de inmunoglobulina completas.

En ciertas otras realizaciones, la invención contempla anticuerpos específicos para SOST que son fragmentos multímeros de anticuerpos. Metodologías útiles se describen generalmente, por ejemplo, en Hayden y col. 1997, *Curr Opin. Immunol.* 9:201-12; Coloma y col., 1997 *Nat. Biotechnol.* 15:159-63). Por ejemplo, pueden crearse fragmentos multímeros de anticuerpos por técnicas de fago para formar minianticuerpos (patente de EE.UU. n° 5 910 573) o diacuerpos (Holliger y col., 1997, *Cancer Immunol. Immunother.* 45:128-130).

En ciertas realizaciones de la invención, un anticuerpo específico para SOST puede ser un anticuerpo que se expresa como una proteína intracelular. Tales anticuerpos intracelulares también se denominan intracuerpos y pueden comprender un fragmento Fab, o preferentemente comprenden un fragmento scFv (véase, por ejemplo, Lecerf y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:4764-49 (2001)). Las regiones estructurales que flanquean las regiones CDR pueden modificarse para mejorar los niveles de expresión y solubilidad de un intracuerpo en un entorno reductor intracelular (véase, por ejemplo, Worn y col., *J. Biol. Chem.* 275:2795-803 (2000)). Un intracuerpo puede dirigirse a una localización celular particular u orgánulo, por ejemplo, construyendo un vector que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica las regiones variables de un intracuerpo que puede fusionarse operativamente con una secuencia de polinucleótidos que codifica un antígeno diana particular dentro de la célula (véanse, por ejemplo, Graus-Porta y col., *Mol. Cell Biol.* 15:1182-91 (1995); Lener y col., *Eur. J. Biochem.* 267:1196-205 (2000)). Un intracuerpo puede introducirse en una célula mediante una variedad de técnicas disponibles para el experto que incluyen mediante un vector de terapia génica, o una mezcla de lípidos (por ejemplo, Provectin™ fabricado por Imgenex Corporation, San Diego, CA), o según procedimientos de internalización fotoquímica.

La introducción de mutaciones de aminoácidos en una molécula de inmunoglobulina específica para una proteína de unión a TGF-beta puede ser útil para aumentar la especificidad o afinidad por proteína de unión a TGF-beta o para alterar una función efectora. Inmunoglobulinas con mayor afinidad por proteína de unión a TGF-beta pueden generarse por mutagénesis dirigida a sitio de residuos particulares. El modelado molecular tridimensional asistido por ordenador puede emplearse para identificar los residuos de aminoácidos que van a cambiarse, con el fin de mejorar la afinidad por la proteína de unión a TGF-beta. Véase, por ejemplo, Mountain y col., 1992, *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.* 10: 1-142. Alternativamente, pueden generarse bibliotecas combinatorias de CDR en fago M13 y cribarse para fragmentos de inmunoglobulina con afinidad mejorada. Véanse, por ejemplo, Glaser y col., 1992, *J. Immunol.* 149:3903-3913; Barbas y col., 1994 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:3809-13; patente de EE.UU n° 5.792.456.

También pueden alterarse las funciones efectoras por mutagénesis dirigida a sitio. Véanse, por ejemplo, Duncan y col., 1988 *Nature* 332:563-64; Morgan y col., 1995 *Immunology* 86:319-24; Eghtedarzede-Kondri y col., 1997 *Biotechniques* 23:830-34. Por ejemplo, la mutación del sitio de glucosilación sobre la porción de Fc de la inmunoglobulina puede alterar la capacidad de la inmunoglobulina para fijar el complemento. Véase, por ejemplo, Wright y col., 1997 *Trends Biotechnol.* 15:26-32. Otras mutaciones en los dominios de la región constante pueden alterar la capacidad de la inmunoglobulina para fijar el complemento, o para efectuar citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo. Véanse, por ejemplo, Duncan y col., 1988 *Nature* 332:563-64; Morgan y col., 1995 *Immunology* 86:319-24; Sensel y col., 1997 *Mol. Immunol.* 34:1019-29.

Según ciertas realizaciones, regiones variables de la cadena pesada y cadena ligera no humanas, humanas o humanizadas de cualquiera de las moléculas de Ig descritas en el presente documento pueden construirse como fragmentos de polipéptidos monocatenarios Fv (scFv) (anticuerpos monocatenarios). Véanse, por ejemplo, Bird y col., 1988 *Science* 242:423-426; Huston y col., 1988 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883. Pueden generarse proteínas de fusión de scFv multifuncionales enlazando una secuencia de polinucleótidos que codifica un polipéptido scFv en marco con al menos una secuencia de polinucleótidos que codifica cualquiera de una variedad de proteínas efectoras conocidas. Estos procedimientos se conocen en la técnica y se desvelan, por ejemplo, en el documento EPB1-0318554, patente de EE.UU. n° 5.132.405, patente de EE.UU. n° 5.091.513 y patente de EE.UU. n° 5.476.786. Proteínas efectoras a modo de ejemplo pueden incluir secuencias de la región constante de inmunoglobulina. Véase, por ejemplo, Hollenbaugh y col., 1995 *J. Immunol. Methods* 188:1-7. Otros ejemplos de proteínas efectoras son enzimas. Como ejemplo no limitante, una enzima tal puede proporcionar una actividad biológica para fines terapéuticos (véase, por ejemplo, Siemers y col., 1997 *Bioconjug. Chem.* 8:510-19), o puede proporcionar una actividad detectable, tal como conversión catalizada por peroxidasa de rábano picante de distintos sustratos muy conocidos en un producto detectable, para usos de diagnóstico. Todavía otros ejemplos de proteínas de fusión de scFv incluyen fusiones de Ig-toxina, o inmunotoxinas, donde el polipéptido de scFv está enlazado con una toxina.

scFv o cualquier fragmento de anticuerpo descrito en el presente documento puede fusionarse, en ciertas realizaciones, con dominios de péptido o de polipéptido que permiten la detección de la unión específica entre la proteína de fusión y el antígeno (por ejemplo, una proteína de unión a TGF-beta). Por ejemplo, el dominio de

polipéptidos de fusión puede ser un polipéptido de marca de afinidad para detectar la unión de la proteína de fusión de scFv a una proteína de unión a TGF-beta por cualquiera de una variedad de técnicas con las que aquellos expertos en la materia estarán familiarizados. Ejemplos de una marca de péptido incluyen avidina, estreptavidina o His (por ejemplo, polihistidina). Técnicas de detección también pueden incluir, por ejemplo, unión de una proteína de fusión de avidina o estreptavidina a biotina o a una secuencia mimética de biotina (véase, por ejemplo, Luo y col., 1998 J. Biotechnol. 65:225 y referencias citadas en su interior), modificación covalente directa de una proteína de fusión con un resto detectable (por ejemplo, un resto de marcado), unión no covalente de la proteína de fusión con una molécula indicadora marcada específica, modificación enzimática de un sustrato detectable por una proteína de fusión que incluye una parte que tiene actividad enzimática, o inmovilización (covalente o no covalente) de la proteína de fusión sobre un soporte de fase sólida. Otros polipéptidos de afinidad útiles para la construcción de proteínas de fusión de scFv pueden incluir proteínas de fusión de estreptavidina, como se desvela, por ejemplo, en los documentos WO 89/03422, U.S. 5.489.528, U.S. 5.672.691, WO 93/24631, U.S. 5.168.049, U.S. 5.272.254; proteínas de fusión de avidina (véase, por ejemplo, el documento EP 511.747); una enzima tal como glutatión-S-transferasa; y polipéptido de proteína A de *Staphylococcus aureus*.

Los polinucleótidos que codifican un anticuerpo o fragmento del mismo que se unen específicamente a una proteína de unión a TGF-beta, como se describe en el presente documento, pueden propagarse y expresarse según cualquiera de una variedad de procedimientos muy conocidos para escisión, ligación, transformación y transfección de ácido nucleico usando cualquier número de vectores de expresión conocidos. Así, en ciertas realizaciones, la expresión de un fragmento de anticuerpo puede preferirse en un huésped procarionta tal como *Escherichia coli* (véase, por ejemplo, Pluckthun y col., 1989 Methods Enzymol. 178:497-515). En ciertas otras realizaciones, la expresión del anticuerpo o un fragmento del mismo puede preferirse en una célula huésped eucariota, que incluye levadura (por ejemplo, *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe* y *Pichia pastoris*), células animales (incluyendo células de mamífero) o células vegetales. Ejemplos de células animales adecuadas incluyen, pero no se limitan a, células de mieloma (tal como una línea de NSO de ratón), COS, CHO o de hibridoma. Ejemplos de células vegetales incluyen células de tabaco, maíz, soja y arroz.

Una vez se han obtenido anticuerpos adecuados, pueden aislarse o purificarse por muchas técnicas muy conocidas para aquellos expertos habituales en la materia (véase Antibodies: A Laboratory Manual, Harlow y Lane (eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988). Técnicas adecuadas incluyen columnas de afinidad de péptido o proteína (incluyendo uso de anticuerpos anti-región constante unidos a la matriz de la columna), HPLC o RP-HPLC, purificación sobre columnas de proteína A o proteína G, o cualquier combinación de estas técnicas.

COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la invención y un vehículo fisiológicamente aceptable. Generalmente, tales vehículos deben ser no tóxicos para los receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas. Generalmente, la preparación de tales composiciones implica combinar el agente terapéutico con tampones, antioxidantes tales como ácido ascórbico, polipéptidos de bajo peso molecular (inferior a aproximadamente 10 residuos), proteínas, aminoácidos, hidratos de carbono que incluyen glucosa, maltosa, sacarosa o dextrinas, agentes quelantes tales como EDTA, glutatión y otros estabilizadores y excipientes. Solución salina tamponada neutra o solución salina mezclada con albúmina de suero no específica son diluyentes apropiados a modo de ejemplo.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden prepararse para administración mediante una variedad de vías diferentes. En general, el tipo de vehículo se selecciona basándose en el modo de administración. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse para cualquier modo apropiado de administración, que incluye, por ejemplo, administración tópica, oral, nasal, intratecal, rectal, vaginal, sublingual o parenteral, que incluye inyección o infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraesternal, intracavernosa, intrameatal o intrauretral. Una composición farmacéutica (por ejemplo, para administración por vía oral o administración por inyección) puede estar en forma de un líquido (por ejemplo, un elixir, jarabe, disolución, emulsión o suspensión). Una composición farmacéutica líquida puede incluir, por ejemplo, uno o más de los siguientes: diluyentes estériles tales como agua para inyección, solución salina, preferentemente solución salina fisiológica, disolución de Ringer, cloruro sódico isotónico, aceites no volátiles que pueden servir de disolvente o medio de suspensión, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes; agentes antibacterianos; antioxidantes; agentes quelantes; tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos, y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro sódico o dextrosa. Una preparación parenteral puede encerrarse en ampollas, jeringuillas desechables o viales de múltiples dosis hechos de vidrio o plástico. Se prefiere el uso de solución salina fisiológica, y una composición farmacéutica inyectable es preferentemente estéril.

Las composiciones descritas en el presente documento pueden formularse para liberación sostenida (es decir, una formulación tal como una cápsula o esponja que efectúa una liberación lenta del compuesto tras la administración). Tales composiciones pueden prepararse generalmente usando tecnología muy conocida y administrarse por, por ejemplo, implantación oral, rectal o subcutánea, o por implantación en el sitio diana deseado. Las formulaciones de liberación sostenida pueden contener un agente dispersado en una matriz de vehículo y/o contenido dentro de un

recipiente rodeado por una membrana que controla la tasa. Vehículos para su uso dentro de tales formulaciones son biocompatibles, y también pueden ser biodegradables; preferentemente, la formulación proporciona un nivel relativamente constante de liberación de componente activo. La cantidad de compuesto activo contenido dentro de una formulación de liberación sostenida depende del sitio de implantación, la tasa y duración esperada de la liberación y la naturaleza de la afección que va a tratarse o prevenirse. Vehículos útiles ilustrativos a este respecto incluyen micropartículas de poli(lactida-co-glicolida), poliacrilato, látex, almidón, celulosa, dextrano y similares. Otros vehículos de liberación retardada ilustrativos incluyen biovectores supramoleculares, que comprenden un núcleo hidrófilo no líquido (por ejemplo, un polisacárido u oligosacárido reticulado) y, opcionalmente, una capa externa que comprende un compuesto anfifílico, tal como un fosfolípido (véanse, por ejemplo, la patente de EE.UU. nº 5.151.254 y las solicitudes PCT WO 94/20078, WO/94/23701 y WO 96/06638).

En otra realización ilustrativa, microesferas biodegradables (por ejemplo, polilactato-poliglicolato) se emplean como vehículos para las composiciones de la presente invención. Microesferas biodegradables adecuadas se desvelan, por ejemplo, en las patentes de EE.UU. nº 4.897.268; 5.075.109; 5.928.647; 5.811.128; 5.820.883; 5.853.763; 5.814.344, 5.407.609 y 5.942.252. Sistemas de vehículo para proteínas Core de hepatitis B modificadas, tal como se describen en el documento WO/99 40934, y referencias citadas en su interior, también serán útiles para muchas aplicaciones. Otro sistema de vehículo/administración ilustrativo emplea un vehículo que comprende complejos de partícula-proteína tales como aquellos descritos en la patente de EE.UU. nº 5.928.647, que pueden inducir respuestas de linfocitos T citotóxicos restringidos a la clase I en un huésped.

En otra realización ilustrativa, las partículas de núcleo de fosfato de calcio se emplean como vehículos o como matrices de liberación controlada para las composiciones de la presente invención. Partículas de fosfato de calcio a modo de ejemplo se desvelan, por ejemplo, en la solicitud de patente publicada nº WO/0046147.

El desarrollo de pautas de dosificación y de tratamiento adecuadas para usar las composiciones particulares descritas en el presente documento en una variedad de pautas de tratamiento que incluyen, por ejemplo, administración y formulación oral, parenteral, intravenosa, intranasal e intramuscular, es muy conocido en la técnica, algunas de las cuales se tratan brevemente más adelante para fines generales de ilustración.

En ciertas aplicaciones, las composiciones farmacéuticas desveladas en el presente documento pueden administrarse por administración por vía oral a un animal. Como tales, estas composiciones pueden formularse con un diluyente inerte o con un vehículo comestible asimilable, o pueden encerrarse en cápsula de gelatina de vaina dura o blanda, o pueden comprimirse en comprimidos, o pueden incorporarse directamente con la comida de la dieta.

En ciertas circunstancias será deseable administrar las composiciones farmacéuticas desveladas en el presente documento parenteralmente, intravenosamente, intramuscularmente, o incluso intraperitonealmente. Tales enfoques son muy conocidos para el experto, algunos de los cuales se describen adicionalmente, por ejemplo, en la patente de EE.UU. nº 5.543.158; la patente de EE.UU. nº 5.641.515 y la patente de EE.UU. nº 5.399.363. En ciertas realizaciones, disoluciones de los compuestos activos como base libre o sales farmacológicamente aceptables pueden prepararse en agua adecuadamente mezcladas con un tensioactivo, tal como hidroxipropilcelulosa. También pueden prepararse dispersiones en glicerol, polietilenglicoles líquidos y mezclas de los mismos y en aceites. Bajo condiciones habituales de almacenamiento y uso, estas preparaciones generalmente contendrán un conservante para prevenir el crecimiento de microorganismos.

Formas farmacéuticas ilustrativas adecuadas para uso inyectable incluyen disoluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de disoluciones o dispersiones inyectables estériles (por ejemplo, véase la patente de EE.UU. nº 5.466.468). En todos los casos, la forma debe ser estéril y debe ser fluida hasta el punto de que exista fácil jeringabilidad. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe preservarse contra la acción contaminante de microorganismos, tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido, y similares), mezclas adecuadas de los mismos y/o aceites vegetales. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, por el uso de un recubrimiento, tal como lecitina, por el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y/o por el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos puede facilitarse por diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal y similares. En muchos casos será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro sódico. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede provocarse por el uso en las composiciones de agentes que retardan la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

En una realización, para administración parenteral en una disolución acuosa, la disolución debe estar adecuadamente tamponada, si fuera necesaria, y el diluyente líquido convertirse primero en isotónico con suficiente solución salina o glucosa. Estas disoluciones acuosas particulares son especialmente adecuadas para administración intravenosa, intramuscular, subcutánea e intraperitoneal. A este respecto, un medio acuoso estéril que puede emplearse será conocido para aquellos expertos en la materia en vista de la presente divulgación. Por ejemplo, una dosificación puede disolverse en 1 ml de disolución de NaCl isotónica y tanto añadirse a 1000 ml de

fluido de hipodermoclisis como inyectarse en el sitio de infusión propuesto (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 15ª ed., pág. 1035-1038 y 1570-1580). Alguna variación en la dosificación se producirá necesariamente dependiendo de la afección del sujeto que está tratándose. Además, para administración humana, las preparaciones cumplirán por supuesto preferentemente la esterilidad, pirogenicidad y los patrones de seguridad y pureza generales según se requiera por la Oficina de la FDA de patrones biológicos.

En otra realización de la invención, las composiciones desveladas en el presente documento pueden formularse en una forma neutra o de sal. Sales farmacéuticamente aceptables ilustrativas incluyen las sales de adición de ácido (formadas con los grupos amino libres de la proteína) y que se forman con ácidos inorgánicos tales como, por ejemplo, ácidos clorhídrico o fosfórico, o tales ácidos orgánicos como acético, oxálico, tartárico, mandélico y similares. Sales formadas con los grupos carboxilo libres también pueden derivarse de bases inorgánicas tales como, por ejemplo, hidróxidos de sodio, potasio, amonio, calcio o férrico, y tales bases orgánicas como isopropilamina, trimetilamina, histidina, procaína y similares. Tras la formulación, las disoluciones se administrarán de un modo compatible con la formulación de dosificación y en cantidad tal que sea terapéuticamente eficaz.

Los vehículos pueden comprender además todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, vehículos, recubrimientos, diluyentes, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y que retrasan la absorción, tampones, disoluciones de vehículo, suspensiones, coloides y similares. El uso de tales medios y agentes para sustancias activas farmacéuticas es muy conocido en la técnica. Excepto en tanto que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el principio activo, su uso en las composiciones terapéuticas se contempla. Principios activos suplementarios también pueden incorporarse en las composiciones. El término "farmacéuticamente aceptable" se refiere a entidades y composiciones moleculares que no producen una reacción alérgica o inadecuada similar cuando se administran a un ser humano.

En ciertas realizaciones, liposomas, nanocápsulas, micropartículas, partículas de lípidos, vesículas y similares se usan para la introducción de las composiciones de la presente invención en células huésped/organismos adecuados. En particular, las composiciones de la presente invención pueden formularse para la administración tanto encapsulada en una partícula de lípido, un liposoma, una vesícula, una nanoesfera como una nanopartícula o similares. Alternativamente, las composiciones de la presente invención pueden unirse, tanto covalentemente como no covalentemente, a la superficie de tales vehículos de excipiente.

La formación y uso de preparaciones de liposoma y similares a liposoma como posibles vehículos de fármaco se conoce generalmente para aquellos expertos en la materia (véanse, por ejemplo, Lasic, Trends Biotechnol. 16(7):307-21, 1998; Takakura, Nippon Rinsho 56(3):691-95, 1998; Chandran y col., Indian J. Exp. Biol. 35(8):801-09, 1997; Margalit, Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 12(2-3):233-61, 1995; patente de EE.UU. nº 5.567.434; patente de EE.UU. nº 5.552.157; patente de EE.UU. nº 5.565.213; patente de EE.UU. nº 5.738.868 y patente de EE.UU. nº 5.795.587.

Los liposomas se han usado satisfactoriamente con varios tipos de células que son normalmente difíciles de transfectar por otros procedimientos, que incluyen suspensiones de linfocitos T, cultivos de hepatocitos primarios y células PC 12 (Renneisen y col., J. Biol. Chem. 265(27):16337-42, 1990; Muller y col., DNA Cell Biol. 9(3):221-29, 1990). Además, los liposomas están libres de limitaciones de longitud de ADN que son típicas de sistemas de administración basados en virus. Los liposomas se han usado eficazmente para introducir genes, diversos fármacos, agentes radioterapéuticos, enzimas, virus, factores de transcripción, efectores alostéricos y similares, en una variedad de líneas de células cultivadas y animales. Además, el uso de liposomas no parece estar asociado a respuestas autoinmunitarias o citotoxicidad inaceptable después de la administración sistémica.

En ciertas realizaciones, los liposomas se forman a partir de fosfolípidos que se dispersan en un medio acuoso y forman espontáneamente vesículas de bicapa concéntrica multilaminar (también se llaman vesículas multilaminares (MLV)).

Alternativamente, en otras realizaciones, la invención proporciona formulaciones de nanocápsula farmacéuticamente aceptables de las composiciones de la presente invención. Las nanocápsulas pueden atrapar generalmente compuestos en una forma estable y reproducible (véase, por ejemplo, Quintanar-Guerrero y col., Drug Dev. Ind. Pharm. 24(12):1113-28, 1998). Para evitar efectos secundarios debido a sobrecarga polimérica intracelular, tales partículas ultrafinas (de tamaño aproximadamente 0,1 µm) pueden diseñarse usando polímeros capaces de degradarse *in vivo*. Tales partículas pueden prepararse como se describe, por ejemplo, por Couvreur y col., Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 5(1):1-20, 1988; zur Muhlen y col., Eur. J. Pharm. Biopharm. 45(2):149-55, 1998; Zambaux y col., J. Controlled Release 50(1-3):31-40, 1998; y la patente de EE.UU. nº 5.145.684.

Además, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden disponerse dentro de recipientes, junto con material de envasado que proporciona instrucciones referentes al uso de tales composiciones farmacéuticas. Generalmente, tales instrucciones incluirán una expresión tangible que describe la concentración de reactivo, además de dentro de ciertas realizaciones, cantidades relativas de componentes o diluyentes de excipientes (por ejemplo, agua, solución salina o PBS) que pueden ser necesarias para reconstituir la composición farmacéutica.

TRATAMIENTO La presente invención también proporciona aumentar el contenido mineral y la densidad mineral de hueso. Brevemente, numerosas condiciones producen la pérdida de contenido mineral óseo que incluyen, por ejemplo, enfermedad, predisposición genética, accidentes que producen la falta de uso de hueso (por ejemplo, debido a fractura), terapéuticos que efectúan la resorción ósea, o que destruyen células formadoras de hueso y envejecimiento normal. Mediante el uso de las moléculas descritas en el presente documento que inhiben la proteína de unión a TGF-beta que se une a un miembro de la familia de TGF-beta, tales afecciones pueden tratarse o prevenirse. Como se utiliza en el presente documento, debe entenderse que el contenido mineral óseo se ha aumentado si el contenido mineral óseo se ha aumentado de un modo estadísticamente significativo (por ejemplo, más de la mitad de la desviación estándar), en un sitio seleccionado.

Una amplia variedad de afecciones que producen pérdida de contenido mineral óseo pueden tratarse con las moléculas descritas en el presente documento. Pacientes con tales afecciones pueden identificarse mediante diagnóstico clínico utilizando técnicas muy conocidas (véase, por ejemplo, Harrison's Principles of Internal Medicine, McGraw-Hill, Inc.). Ejemplos representativos de enfermedades que pueden tratarse incluyen displasias, donde hay crecimiento o desarrollo anormal de hueso. Ejemplos representativos de tales afecciones incluyen acondroplasia, disostosis cleidocraneal, encondromatosis, displasia fibrosa, enfermedad de Gaucher, raquitismo hipofosfatémico, síndrome de Marfan, exostosis múltiple hereditaria, neurofibromatosis, osteogénesis imperfecta, osteopetrosis o osteopoiquilosis, lesiones escleróticas, fracturas, enfermedad periodontal, pseudoartrosis y osteomielitis piogénica.

Otras afecciones que pueden tratarse o prevenirse incluyen una amplia variedad de causas de osteopenia (es decir, una afección que produce más de una desviación estándar del contenido o densidad mineral óseo inferior al contenido mineral esquelético pico en la juventud). Ejemplos representativos de tales afecciones incluyen estados anémicos, afecciones producidas por esteroides, afecciones producidas por heparina, trastornos de la médula ósea, hipovitaminosis C, desnutrición, deficiencia de calcio, osteoporosis idiopática, osteopenia u osteoporosis congénita, alcoholismo, enfermedad hepática crónica, senilidad, estado posmenopáusico, oligomenorrea, amenorrea, embarazo, diabetes mellitus, hipertiroidismo, enfermedad de Cushing, acromegalia, hipogonadismo, inmovilización o inactividad, síndrome de distrofia simpática refleja, osteoporosis regional transitoria y osteomalacia.

Ejemplos de animales de sangre caliente que pueden tratarse incluyen tanto vertebrados como mamíferos, que incluyen, por ejemplo, seres humanos, caballos, vacas, cerdos, ovejas, perros, gatos, ratas y ratones.

La determinación del elevado contenido mineral óseo puede determinarse directamente mediante el uso de rayos X (por ejemplo, absorciometría de rayos X de doble energía o "DEXA") o por inferencia mediante marcadores de renovación ósea (tales como fosfatasa alcalina específica para osteoblastos, osteocalcina, propéptido de procolágeno C' tipo 1 (PICP) y fosfatasa alcalina total; véase Comier, C., Curr. Opin. in Rheu. 7:243, 1995), o por marcadores de resorción ósea (piridinolina, desoxipiridinolina, N-telopéptido, hidroxiprolina urinaria, fosfatasas ácidas resistentes a tartrato en plasma y galactosil hidroxilisina; véase Comier, arriba). La cantidad de masa ósea también puede calcularse a partir de los pesos corporales o por otros procedimientos conocidos en la técnica (véase Guinness-Hey, Metab. Bone Dis. and Relat. Res. 5:177-181, 1984).

Como será evidente para un experto en la materia, la cantidad y frecuencia de administración dependerá, por supuesto, de factores tales como la naturaleza y gravedad de la indicación que está tratándose, la respuesta deseada, la condición del paciente, etc. Normalmente, las composiciones pueden administrarse mediante una variedad de técnicas, como se observa anteriormente.

Los siguientes ejemplos se ofrecen a modo de ilustración y no a modo de limitación.

Ejemplos

EJEMPLO 1

MAPAS DE ESCLEROSTEOSIS PARA EL BRAZO LARGO DEL CROMOSOMA 17 HUMANO

El mapeo genético de los responsables del defecto de esclerosteosis en seres humanos localizó el gen responsable de este trastorno en la región del cromosoma 17 humano que codifica un novedoso miembro de la familia de proteína de unión a TGF-beta. En esclerosteosis, el hueso esquelético muestra un aumento sustancial en la densidad mineral con respecto a la de individuos sin afectar. El hueso en la cabeza también muestra sobrecrecimiento. Los pacientes con esclerosteosis están generalmente sanos, aunque pueden presentar grados variables de sindactilia al nacer y grados variables de compresión craneal y compresión nerviosa en el cráneo.

El análisis de enlace del defecto génico asociado a esclerosteosis se realizó aplicando el procedimiento de mapeo de homocigosidad a muestras de ADN recogido de 24 familias africanas sudafricanas en las que se produjo la enfermedad (Sheffield y col., 1994, Human Molecular Genetics 3:1331-1335. "Identification of a Bardet-Biedl syndrome locus on chromosome 3 and evaluation of an efficient approach to homozygosity mapping"). La población africana de Sudáfrica es genéticamente homogénea; la población es descendiente de un pequeño número de fundadores que colonizaron el área hace varios siglos, y se ha aislado por barreras geográficas y sociales desde la

fundación. La esclerosteosis es rara en todas las partes en el mundo fuera de la comunidad africana, que sugiere que una mutación en el gen estaba presente en la población fundadora y desde entonces ha aumentado en número junto con el aumento en la población. El uso de mapeo de homocigosidad se basa en la suposición de que es probable que los marcadores de mapeo de ADN adyacentes a una mutación recesiva sean homocigóticos en individuos afectados de familias consanguíneas y poblaciones aisladas.

Un conjunto de 371 marcadores de microsatélite (Research Genetics, conjunto 6) de los cromosomas autosómicos se seleccionó para tipar conjuntos de ADN de muestras de pacientes con esclerosteosis. Las muestras de ADN para este análisis procedieron de 29 pacientes con esclerosteosis en 24 familias, 59 miembros de la familia sin afectar y un conjunto de individuos de control sin parentesco de la misma población. Los conjuntos consistieron en 4-6 individuos, tanto individuos afectados, individuos afectados de familias consanguíneas, padres y hermanos sin afectar, como controles sin parentesco. En los conjuntos de individuos sin parentesco y en la mayoría de los conjuntos con individuos afectados o miembros de la familia, el análisis de los marcadores mostró varios tamaños de alelo para cada marcador. Un marcador, D17S1299, mostró una indicación de homocigosidad: una banda en varios de los conjuntos de individuos afectados.

Las 24 familias con esclerosteosis se tiparon con un total de 19 marcadores en la región de D17S1299 (en 17q12-q21). Se mostró que los individuos afectados de cada familia eran homocigóticos en esta región, y 25 de los 29 individuos eran homocigóticos para un haplotipo de núcleo; cada uno tuvo los mismos alelos entre D17S1787 y D17S930. Los otros cuatro individuos tuvieron un cromosoma que coincidió con este haplotipo y un segundo que no. En resumen, los datos sugirieron convincentemente que esta región de 3 megabases contuvo la mutación de la esclerosteosis. El análisis de secuencias de la mayoría de los exones en esta región de 3 megabases identificó una mutación terminadora en la novedosa secuencia codificante de proteínas de unión a TGF-beta (la mutación C>T en la posición 117 de SEC ID N° 1 produce un codón de terminación). Se mostró que esta mutación era única para pacientes con esclerosteosis y portadores de descendientes africanos. La identidad del gen se confirmó adicionalmente identificando una mutación en su intrón (la mutación A>T en la posición +3 del intrón) que produce procesamiento de ARNm inapropiado en un único paciente sin parentesco con esclerosteosis diagnosticada.

EJEMPLO 2

ESPECIFICIDAD POR TEJIDO DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE PROTEÍNA DE UNIÓN A TGF-BETA

A. Expresión del gen *Beer* humano por RT-PCR:

Se preparó ADNc de la primera cadena a partir de las siguientes muestras de ARN total usando un kit comercialmente disponible ("Superscript Preamplification System for First-Strand cDNA Synthesis", Life Technologies, Rockville, MD): cerebro humano, hígado humano, bazo humano, timo humano, placenta humana, músculo esquelético humano, tiroides humana, pituitaria humana, osteoblasto humano (NHOst de Clonetics Corp., San Diego, CA), línea celular de osteosarcoma humano (Saos-2, ATCC n° HTB-85), hueso humano, médula ósea humana, cartilago humano, hueso de mono vervet, *Saccharomyces cerevisiae* y monocitos de sangre periférica humana. Todas las muestras de ARN se compraron de una fuente comercial (Clontech, Palo Alto, CA), excepto los siguientes que se prepararon internamente: osteoblasto humano, línea celular de osteosarcoma humano, hueso humano, cartilago humano y hueso de mono vervet. Estas muestras de ARN internas se prepararon usando un kit comercialmente disponible ("TRI Reagent", Molecular Research Center, Inc., Cincinnati, OH).

Se realizó PCR en estas muestras, y adicionalmente en una muestra genómica humana como control. El cebador de oligonucleótidos de Beer de sentido directo tuvo la secuencia 5'-CCGGAGCTGGAGAACAACAAG-3' (SEC ID N°: 19). El cebador de oligonucleótidos de Beer de sentido inverso tuvo la secuencia 5'-GCACTGGCCGGAGCACACC-3' (SEC ID N°: 20). Además, la PCR se realizó usando cebadores para el gen beta-actina humano, como control. El cebador de oligonucleótidos de beta-actina de sentido directo tuvo la secuencia 5'-AGGCCAACCGCGAGAAGATGACC-3' (SEC ID N°: 21). El cebador de oligonucleótidos de beta-actina de sentido inverso tuvo la secuencia 5'-GAAGTCCAGGGCGACGTAGCA-3' (SEC ID N°: 22). La PCR se realizó usando condiciones convencionales en reacciones de 25 ul, con una temperatura de hibridación de 61 grados Celsius. Se realizaron treinta y dos ciclos de PCR con los cebadores de Beer y se realizaron veinticuatro ciclos con los cebadores de beta-actina.

Tras la amplificación, 12 ul de cada reacción se analizaron por electroforesis en gel de agarosa y tinción con bromuro de etidio. Véase la Figura 2A.

B. Hibridación *in situ* de ARN de secciones de embrión de ratón:

El ADNc de *Beer* de ratón de longitud completa (SEC ID N° 11) se clonó en el vector pCR2.1 (Invitrogen, Carlsbad, CA) en la dirección no codificante y codificante usando el protocolo del fabricante. Se sintetizaron transcritos codificantes y no codificantes de ARNc marcado con ³⁵S-alfa-GTP usando reactivos de transcripción *in vitro* suministrados por Ambion, Inc (Austin, TX). La hibridación *in situ* se realizó según los protocolos de Lyons y col. (J. Cell Biol. 111:2427-2436, 1990).

La sonda de ARNc de *Beer* de ratón detectó un mensajero específico expresado en el tubo neural, yemas de extremidades, vasos sanguíneos y cartílagos osificantes de embriones de ratón en desarrollo. El panel A en la Figura 3 muestra la expresión en la cresta ectodérmica apical (aer) de la yema (1) de extremidades, vasos sanguíneos (bv) y el tubo neural (nt). El panel B muestra la expresión en el 4º ventrículo del cerebro (4). El panel C muestra la expresión en las vertebrales cervicales (cv) de mandíbula (ma), hueso occipital (oc), paladar (pa) y un vaso sanguíneo (bv). El panel D muestra la expresión en las costillas (r) y una válvula del corazón (va). El panel A es una sección transversal de embrión de 10,5 dpc. El panel B es una sección sagital de embrión de 12,5 dpc y los paneles C y D son secciones sagitales de embriones de 15,5 dpc.

10 ba= arco branquial, h= corazón, te= telencéfalo (prosencefalo), b= cerebro, f= masa frontonasal, g= intestino, h= corazón, j= mandíbula, li= hígado, lu= pulmón, ot= vesícula ótica, ao=, sc= médula espinal, skm= músculo esquelético, ns= seno nasal, th= timo, to= lengua, fl= extremidad anterior, di= diafragma

15 EJEMPLO 3

EXPRESIÓN Y PURIFICACIÓN DE PROTEÍNA BEER RECOMBINANTE

A. Expresión en células COS-1:

20 La secuencia de ADN que codifica la proteína Beer humana de longitud completa se amplificó usando los siguientes cebadores con oligonucleótidos de PCR: El cebador de oligonucleótidos de 5' tuvo la secuencia 5'-**AAGCTTGGTACCATGCAGCTCCAC**-3' (SEC ID N°: 23) y contuvo un sitio de enzima de restricción HindIII (en negrita) seguido de 19 nucleótidos del gen *Beer* empezando 6 pares de bases antes del supuesto codón de iniciación del extremo amino (ATG). El cebador de oligonucleótidos de 3' tuvo la secuencia 5'-**AAGCTTCTACTTGTTCATCGTCGTCCTTGTAGTCGTAGGCGTTCTCCAGCT**-3' (SEC ID N°: 24) y contuvo un sitio de enzima de restricción HindIII (en negrita) seguido de un codón de terminación del complemento inverso (CTA), seguido del complemento inverso del epítipo FLAG (subrayado, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO) flanqueado por el complemento inverso de nucleótidos que codifica los 5 aminoácidos del extremo carboxi de Beer. El producto de PCR se clonó por TA ("Original TA Cloning Kit", Invitrogen, Carlsbad, CA) y los clones individuales se cribaron por secuenciación de ADN. Un clon de secuencia verificada se digirió entonces por HindIII y se purificó sobre 1,5% de gel de agarosa usando reactivos comercialmente disponibles ("QIAquick Gel Extraction Kit", Qiagen Inc., Valencia, CA). Este fragmento se ligó entonces al plásmido pcDNA3.1 tratado con fosfatasa digerido con HindIII (Invitrogen, Carlsbad, CA) con T4 ADN ligasa. Se transformaron DH10B de *E. coli* y se sembraron en LB, 100 µg/ml de placas de ampicilina. Las colonias que llevan el recombinante deseado en la orientación apropiada se identificaron por un cribado basado en PCR usando un cebador de 5' correspondiente al promotor/sitio de cebado de T7 en pcDNA3.1 y un cebador de 3' con la secuencia 5'-GCACTGGCCGGAGCACACC-3' (SEC ID N°: 25) que se corresponde con el complemento inverso de la secuencia de BEER inversa. La secuencia del fragmento clonado se confirmó por secuenciación de ADN.

40 Se usaron células COS-1 (ATCC n° CRL-1650) para la transfección. 50 µg del plásmido de expresión pADNc-Beer-Flag se transfectaron usando un kit comercialmente disponible siguiendo los protocolos suministrados por el fabricante ("DEAE-Dextran Transfection Kit", Sigma Chemical Co., St. Louis, MO). El medio final tras la transfección fue DMEM (Life Technologies, Rockville, MD) que contenía 0,1% de suero bovino fetal. Después de 4 días en cultivo, el medio se eliminó. La expresión de BEER recombinante se analizó por SDS-PAGE y transferencia Western usando anticuerpo monoclonal anti-FLAG® M2 (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO). La purificación de la proteína BEER recombinante se realizó usando una columna de afinidad anti-FLAG M2 ("Mammalian Transient Expression System", Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO). El perfil de la columna se analizó por SDS-PAGE y transferencia Western usando anticuerpo monoclonal anti-FLAG M2.

50 B. Expresión en células de insecto SF9:

La secuencia del gen *Beer* humano se amplificó usando PCR con condiciones convencionales y los siguientes cebadores:

55 Cebador de sentido directo: 5'-GTCGTCGGATCCATGGGGTGGCAGGCGTTCAAGAATGAT-3' (SEC ID N°: 26)
Cebador de sentido contrario: 5'-GTCGTCAGCTTCTACTTGTTCATCGTCCTTGTAGTCGTAGGCGTTCTCCAGCTCGGC-3' (SEC ID N°: 27)

60 El ADNc resultante contuvo la región codificante de Beer con dos modificaciones. La señal de secreción del extremo N se eliminó y una marca de epítipo FLAG (Sigma) se fusionó en marco con el extremo C del inserto. Se añadieron los sitios de clonación BamHI y HindIII y el gen se subclonó en vector pMelBac (Invitrogen) para la transferencia a un vector de expresión baculoviral usando procedimientos convencionales.

65 Se prepararon baculovirus recombinantes que expresan proteína Beer usando el kit de transfección Bac-N-Blue (Invitrogen) y se purificaron según las instrucciones del fabricante.

Células SF9 (Invitrogen) se mantuvieron en medio TNM_FH (Invitrogen) que contenía 10% de suero bovino fetal. Para la expresión de proteínas, cultivos de SF9 en matraces con agitación centrífuga se infectaron a una MOI superior a 10. Diariamente se tomaron muestras del medio y células durante cinco días, y la expresión de Beer se monitorizó por transferencia Western usando un anticuerpo monoclonal anti-FLAG M2 (Sigma) o un antisuero policlonal de conejo anti-Beer.

Después de cinco días, las células SF9 infectadas con baculovirus se recogieron por centrifugación y la proteína asociada a células se extrajo del sedimento de células usando un tampón de extracción de alto contenido de sales (NaCl 1,5 M, Tris 50 mM a pH 7,5). El extracto (20 ml por 300 ml de cultivo) se clarificó por centrifugación, se dializó tres veces contra cuatro litros de solución salina tamponada con Tris (NaCl 150 mM, Tris 50 mM a pH 7,5) y se clarificó de nuevo por centrifugación. Esta fracción de alto contenido de sales se aplicó a heparina Hitrap (Pharmacia; volumen de lecho de 5 ml), se lavó ampliamente con solución salina tamponada con HEPES (HEPES 25 mM a 7,5, NaCl 150 mM) y las proteínas unidas se eluyeron con un gradiente de NaCl 150 mM a NaCl 1200 mM. La elución de Beer se observó a aproximadamente NaCl 800 mM. Las fracciones que contenían Beer se complementaron con 10% de glicerol y DTT 1 mM y se congelaron a -80 °C.

EJEMPLO 4

PREPARACIÓN Y PRUEBA DE ANTICUERPOS POLICLONALES PARA BEER, GREMLIN Y DAN

A. Preparación de antígeno:

Las secuencias de ADN de *Beer* humana, *Gremlin* humana y *Dan* humana se amplificaron usando procedimientos de PCR convencionales con los siguiente cebadores de oligonucleótidos:

Beer h.

Sentido: 5' -GACTTGGATCCCAGGGGTGGCAGGCGTIC- 3' (SEC ID N°: 28)

Antisentido: 5' -AGCATAAGCTICTAGTAGGCGTTCTCCAG- 3' (SEC ID N°: 29)

Gremlin h.

Sentido: 5' -GACTTGGATCCGAAGGGAAAAAGAAAGGG- 3' (SEC ID N°: 30)

Antisentido: 5' -AGCATAAGCTTTTAATCCAAATCGATGGA- 3' (SEC ID N°: 31)

Dan h.

Sentido: 5' -ACTACGAGCTCGGCCCCACCACCCATCAACAAG- 3' (SEC ID N°: 32)

Antisentido: 5' -ACTTAGAAGCTTTCAGTCCTCAGCCCCCTCTTCC-3' (SEC ID N°: 33)

En cada caso, los cebadores enumerados amplificaron la región codificante entera menos la secuencia señal de la secreción. Éstos incluyen sitios de restricción para subclonar en el vector de expresión bacteriano pQE-30 (Qiagen Inc., Valencia, CA) en sitios BamHI/HindIII para Beer y Gremlin, y sitios SacI/HindIII para Dan. pQE30 contiene una secuencia codificante para una marca de 6x His en el extremo 5' de la región de clonación. Las construcciones completadas se transformaron en la cepa de *E. coli* M-15/pRep (Qiagen Inc) y los clones individuales se verificaron por secuenciación. La expresión de proteínas en M-15/pRep y purificación (marca de afinidad 6xHis que se une a Ni-NTA acoplada a Sepharose) se realizaron como se describe por el fabricante (Qiagen, The QIAexpresionist).

La proteína Beer derivada de *E. coli* se recuperó en cantidad significativa usando solubilización en guanidina 6 M y se dializó a 2-4 M para prevenir la precipitación durante el almacenamiento. La proteína Gremlin y Dan se recuperaron en mayor cantidad con solubilización en guanidina 6 M y una concentración de guanidina postpurificación de 0,5 M.

B. Producción y prueba de anticuerpos policlonales:

Se produjeron anticuerpos policlonales para cada uno de los tres antígenos en huéspedes de conejo y de pollo usando protocolos convencionales (R & R Antibody, Stanwood, WA; protocolo convencional para la inmunización de conejo y recuperación de antisueros; Short Protocols in Molecular Biology. 2ª edición. 1992. 11.37-11.41. Contributors Helen M. Cooper y Yvonne Paterson; se generaron antisueros de pollo con Strategic Biosolutions, Ramona, CA).

Los antisueros de conejo y la fracción de IgY de óvulo de pollo se cribaron para actividad mediante transferencia Western. Cada uno de los tres antígenos se separó por PAGE y se transfirió a nitrocelulosa de 0,45 µm (Novex, San Diego, CA). La membrana se cortó en tiras, conteniendo cada tira aproximadamente 75 ng de antígeno. Las tiras se bloquearon en 3% de Blotting Grade Block (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) y se lavaron 3 veces en 1X solución salina tamponada con Tris (TBS)/0,02% de tampón TWEEN. El anticuerpo primario (sangrados de preinmunización, antisueros de conejo o IgY de óvulo de pollo en diluciones que oscilan de 1:100 a 1:10.000 en tampón de bloqueo) se incubó con las tiras durante una hora con agitación por balanceo suave. Una segunda serie de tres lavados 1X TBS/0,02% de TWEEN fue seguida de incubación de una hora con el anticuerpo secundario (anti-conejo de burro conjugado con peroxidasa, Amersham Life Science, Piscataway, NJ; o anti-pollo de burro conjugado con peroxidasa, Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA). Se realizó un ciclo final de 3X lavados de

1X TBS/0,02% de TWEEN y las tiras se revelaron con sustrato de transferencia Western Lumi-Light (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Alemania).

C. Prueba de reactividad cruzada de anticuerpos:

- 5 Tras el protocolo descrito en la sección previa, tiras de nitrocelulosa de Beer, Gremlin o Dan se incubaron con diluciones (1:5000 y 1:10.000) de sus antisueros de conejo respectivos o IgY de óvulo de pollo, además de con
 10 antisueros o IgY de óvulo de pollo (diluciones 1:1000 y 1:5000) preparadas para los dos antígenos restantes. Los elevados niveles de anticuerpos no coincidentes se realizaron para detectar la unión de baja afinidad por aquellos anticuerpos que pueden observarse solo a elevada concentración. El protocolo y duración del revelado es el mismo
 que para los tres eventos de unión usando el protocolo descrito anteriormente. No se observó reactividad cruzada de antígeno para ninguno de los antígenos probados.

EJEMPLO 5

15 INTERACCIÓN DE BEER CON PROTEÍNAS DE LA SUPERFAMILIA DE TGF-BETA

La interacción de Beer con proteínas de diferentes brazos filogenéticos de la superfamilia de TGF- β se estudió usando procedimientos de inmunoprecipitación. Se obtuvieron TGF β -1, TGF β -2, TGF β -3, BMP-4, BMP-5, BMP-6 y GDNF purificados de fuentes comerciales (R&D Systems; Mineápolis, MN). Un protocolo representativo es del
 20 siguiente modo. Beer parcialmente purificada se dializó en solución salina tamponada con HEPES (HEPES 25 mM 7,5, NaCl 150 mM). Las inmunoprecipitaciones se hicieron en 300 μ l de tampón IP (NaCl 150 mM, Tris 25 mM a pH 7,5, EDTA 1 mM, β -mercaptoetanol 1,4 mM, 0,5% de Triton X 100 y 10% de glicerol). Se aplicaron 30 ng de proteína BMP-5 humana recombinante (R&D Systems) a 15 μ l de matriz de afinidad por FLAG (Sigma; St Louis MO) en presencia y ausencia de 500 ng de Beer marcada con el epítotope FLAG. Las proteínas se incubaron durante 4 horas
 25 a 4 °C y luego las proteínas asociadas a la matriz de afinidad se lavaron 5 veces en tampón IP (1 ml por lavado). Las proteínas unidas se eluyeron de la matriz de afinidad en 60 microlitros de 1X tampón de muestra de SDS-PAGE. Las proteínas se resolvieron por SDS-PAGE y BMP-5 asociada a Beer se detectó por transferencia Western usando antisuero anti-BMP-5 (Research Diagnostics, Inc) (véase la Figura 5).

30 Ensayo de unión a ligando de BEER:

Se añade proteína FLAG-Beer (20 ng) a 100 μ l de PBS/0,2% de BSA y se adsorbe en cada pocillo de la placa de microtitulación de 96 pocillos previamente recubierta con anticuerpo monoclonal anti-FLAG (Sigma; St Louis MO) y se bloquea con 10% de BSA en PBS. Esto se realiza a temperatura ambiente durante 60 minutos. Esta disolución de
 35 proteína se elimina y los pocillos se lavan para eliminar la proteína sin unir. Se añade BMP-5 a cada pocillo en concentraciones que oscilan de 10 pM a 500 nM en PBS/0,2% de BSA y se incuban durante 2 horas a temperatura ambiente. La disolución de unión se elimina y la placa se lava tres veces con volúmenes de 200 μ l de PBS/0,2% de BSA. Entonces, los niveles de BMP-5 se detectan usando antisuero para BMP-5 mediante ELISA (F.M. Ausubel y col. (1998) Current Protocols in Mol Biol. Vol 2 11.2.1-11.2.22). La unión específica se calcula restando la unión no
 40 específica de la unión total y se analiza por el programa LIGAND (Munson y Podbard, Anal. Biochem., 107, pág. 220-239, (1980).

En una variación de este procedimiento, Beer se manipula y se expresa como una proteína de fusión de Fc humana. Asimismo, el ligando BMP se manipula y se expresa como fusión de Fc de ratón. Estas proteínas se incuban juntas
 45 y el ensayo se realiza como se describe por Mellor y col. usando detección por fluorescencia resuelta en el tiempo homogénea (G.W. Mellor y col., J of Biomol Screening, 3(2) 91-99, 1998).

EJEMPLO 6

50 ENSAYO DE CRIBADO PARA LA INHIBICIÓN DE LA UNIÓN DE PROTEÍNA DE UNIÓN A TGF-BETA A MIEMBROS DE LA FAMILIA DE TGF-BETA

El ensayo descrito anteriormente se repite con dos excepciones. Primera, la concentración de BMP se mantiene fija a la Kd previamente determinada. Segunda, un conjunto de candidatos a antagonista se añade a una concentración
 55 fija (20 μ M en el caso de los conjuntos de moléculas orgánicas pequeñas y 1 μ M en estudios de anticuerpo). Estas moléculas candidatas (antagonistas) de unión a proteína de unión a TGF-beta incluyen compuestos orgánicos derivados de conjuntos comerciales o internos que representan diversas estructuras químicas. Estos compuestos se preparan como disoluciones madre en DMSO y se añaden a los pocillos de ensayo a \leq 1% del volumen final bajo las condiciones de ensayo convencionales. Éstos se incuban durante 2 horas a temperatura ambiente con BMP y Beer,
 60 la disolución se elimina y la BMP unida se cuantifica como se ha descrito. Agentes que inhiben el 40% de la unión de BMP observada en ausencia del compuesto o anticuerpo se consideran antagonistas de esta interacción. Éstos se evalúan adicionalmente como posibles inhibidores basándose en estudios de valoración para determinar sus constantes de inhibición y su influencia sobre la afinidad de unión de proteínas de unión a TGF-beta. También pueden realizarse ensayos de control de especificidad comparable para establecer el perfil de selectividad para el
 65 antagonista identificado mediante estudios usando ensayos dependientes de la acción del ligando BMP (por ejemplo, estudio de competencia de BMP/receptor de BMP).

EJEMPLO 7

INHIBICIÓN DE LA LOCALIZACIÓN DE LA PROTEÍNA QUE SE UNE A TGF-BETA EN MATRIZ ÓSEA

5 La evaluación de la inhibición de la localización en matriz ósea (hidroxiapatita) se realiza usando modificaciones al procedimiento de Nicolas (Nicolas, V. Calcif Tissue Int 57:206, 1995). Brevemente, se prepara proteína de unión a TGF-beta marcada con ¹²⁵I como se describe por Nicolas (arriba). Se añade hidroxiapatita a cada pocillo de una placa de microtitulación de 96 pocillos equipada con una membrana de filtración de polipropileno (Polyfiltroninc, Weymouth MA). La proteína de unión a TGF-beta se añade a 0,2% de albúmina en tampón PBS. Los pocillos que
10 contienen matriz se lavan 3 veces con este tampón. La proteína de unión a TGF-beta adsorbida se eluye usando NaOH 0,3 M y se cuantifica.

La identificación de inhibidores se realiza mediante incubación de proteína de unión a TGF-beta con moléculas de prueba y aplicando la mezcla a la matriz como se ha descrito anteriormente. La matriz se lava 3 veces con 0,2% de albúmina en tampón PBS. La proteína de unión a TGF-beta adsorbida se eluye usando NaOH 0,3 M y se cuantifica. Agentes que inhiben el 40% de la unión de proteína de unión a TGF-beta observada en ausencia de compuesto o anticuerpo se consideran inhibidores de la localización ósea. Estos inhibidores se caracterizan adicionalmente por estudios de respuesta a dosis para determinar sus constantes de inhibición y su influencia sobre la afinidad de unión a proteína de unión a TGF-beta.
15
20

EJEMPLO 8

CONSTRUCCIÓN DE MUTANTE DE PROTEÍNA DE UNIÓN A TGF-BETA

25 A. Mutagénesis:

Un ADNc de proteína de unión a TGF-beta de longitud completa en pBluescript SK sirve de molde para mutagénesis. Brevemente, cebadores apropiados (véase la discusión proporcionada anteriormente) se utilizan para generar el fragmento de ADN por reacción en cadena de la polimerasa usando ADN polimerasa Vent (New England Biolabs, Beverly, MA). La reacción en cadena de la polimerasa se ejecuta durante 23 ciclos en tampones proporcionados por el fabricante usando una temperatura de hibridación de 57 °C. El producto se expone entonces a dos enzimas de restricción y, después del aislamiento usando electroforesis en gel de agarosa, se liga de nuevo a pRBP4-503 del que se había eliminado la secuencia de apareamiento por digestión enzimática. La integridad del mutante se verifica por secuenciación de ADN.
30
35

B. Expresión y aislamiento de células de mamífero de proteína de unión a TGF-beta mutante:

Los ADNc de proteína de unión a TGF-beta mutante se transfieren al vector de expresión de mamífero pcDNA3.1 descrito en el Ejemplo 3. Después de verificar la secuencia, las construcciones resultantes se transfectan en células COS-1, y la proteína secretada se purifica como se describe en el EJEMPLO 3.
40

EJEMPLO 9

MODELOS ANIMALES - I

45

GENERACIÓN DE RATONES TRANSGÉNICOS QUE EXPRESAN EN EXCESO EL GEN *BEER*

El clon de BAC de ~200 kilobases (kb) 15G5, aislado de la biblioteca de ADN genómico de ratón CITB (distribuida por Research Genetics, Huntsville, AL), se usó para determinar la secuencia completa del gen *Beer* de ratón y sus regiones flanqueantes de 5' y 3'. Un fragmento Sall de 41 kb, que contiene el cuerpo del gen entero, más ~17 kb de secuencia flanqueante de 5' y ~20 kb de secuencia flanqueante de 3', se subclonó en el sitio BamHI del vector de cósmido SuperCosI (Stratagene, La Jolla, CA) y se propagó en la cepa de *E. coli* DH10B. Entonces, a partir de esta construcción de cósmido, un fragmento de restricción MluI - AvII de 35 kb (SEC N° 6), que incluye el gen *Beer* de ratón entero, además de 17 kb y 14 kb de secuencia flanqueante de 5' y 3', respectivamente, se purificó en gel usando medios convencionales y se usó para microinyección de cigotos de ratón (DNX Transgenics; patente de EE.UU. n° 4.873.191). Se obtuvieron animales fundadores en los que el fragmento de ADN clonado se integró al azar en el genoma a una frecuencia del 5-30% de crías nacidas viva. La presencia del transgén se determinó realizando análisis de transferencia Southern de ADN genómico extraído de una pequeña cantidad de tejido de ratón, tal como la punta de la cola. El ADN se extrajo usando el siguiente protocolo: se digirió tejido durante la noche a 55 °C en un tampón de lisis que contenía NaCl 200 mM, Tris 100 mM a pH 8,5, EDTA 5 mM, 0,2% de SDS y 0,5 mg/ml de proteinasa K. Al día siguiente, el ADN se extrajo una vez con fenol/cloroformo (50:50), una vez con cloroformo/alcohol isoamílico (24:1) y se precipitó con etanol. Tras la resuspensión en TE (Tris 10 mM a pH 7,5, EDTA 1 mM), 8-10 ug de cada muestra de ADN se digirieron con una endonucleasa de restricción, tal como EcoRI, se sometieron a electroforesis en gel y se transfirieron a una membrana de nailon cargada tal como HyBondN+ (Amersham, Arlington Heights, IL). Entonces, el filtro resultante se hibridó con un fragmento de ADN radiactivamente marcado que se deriva del sitio del gen *Beer* de ratón, y puede reconocer tanto un fragmento del sitio del gen
50
55
60
65

endógeno como un fragmento de un tamaño diferente que se deriva del transgén. Los animales fundadores se reprodujeron dando ratones no transgénicos normales para generar números suficientes de progenie transgénica y no transgénica en la que determinar los efectos de la expresión en exceso del gen *Beer*. Para estos estudios, animales a diversas edades (por ejemplo, 1 día, 3 semanas, 6 semanas, 4 meses) se someten a varios ensayos diferentes diseñados para determinar formación esquelética macroscópica, densidad mineral ósea, contenido mineral óseo, actividad de osteoclastos y osteoblastos, grado de osificación endocondral, formación de cartílago, etc. La actividad transcripcional del transgén puede determinarse extrayendo ARN de diversos tejidos, y usando un ensayo de RT-PCR que se aprovecha de polimorfismos de un solo nucleótido entre la cepa de ratón de la que se deriva el transgén (129Sv/J) y la cepa de ratones usada para la microinyección de ADN [(C57BL5/J x SJL/J)F2].

MODELOS ANIMALES - II

ALTERACIÓN DEL GEN *BEER* DE RATÓN POR RECOMBINACIÓN HOMÓLOGA

Pueden usarse recombinación homóloga en células madre embrionarias (ES) para inactivar el gen *Beer* de ratón endógeno y posteriormente generar animales que llevan la mutación de pérdida de función. Un gen indicador, tal como el gen β -galactosidasa de *E. coli*, se manipuló en el vector que elige diana de manera que su expresión estuviera controlada por el promotor del gen *Beer* endógeno y señal de iniciación de la traducción. De esta forma, los patrones especiales y temporales de la expresión del gen *Beer* pueden determinarse en animales que llevan un alelo elegido como diana.

El vector que elige diana se construyó clonando primero el promotor de fosfoglicerato cinasa (PGK) de selección de fármaco accionado por el casete del gen de resistencia a neomicina (*neo*) de pGT-N29 (New England Biolabs, Beverly, MA) en el vector de clonación pSP72 (Promega, Madison, WI). Se usó PCR para flanquear el casete de *PGKneo* con sitios P1 loxP de bacteriófago, que son sitios de reconocimiento para la Cre recombinasa de P1 (Hoess y col., PNAS USA, 79:3398, 1982). Esto permite la posterior eliminación del marcador de resistencia a neo en células ES elegidas como diana o animales derivados de células ES (patente de EE.UU. 4.959.317). Los cebadores de PCR comprendieron la secuencia de loxP de 34 nucleótidos (ntd), 15-25 ntd complementarios a los extremos 5' y 3' del casete de *PGKneo*, además de sitios de reconocimiento de enzima de restricción (BamHI en el cebador de sentido directo y EcoRI en el cebador de sentido contrario) para clonar en pSP72. La secuencia del cebador de sentido directo fue 5'-AATCTGGATCCATAAATTCGTATAGCATACATTATACGAAGTTATCTGCAG GATTCGAGGGCCCCT-3' (SEC ID N°: 34); la secuencia del cebador de sentido contrario fue 5'-AATCTGAATTCCACCGGTGTTAATTAATAAATTCGTATAATGTATGCTATACGAAGTTATAGATCTAGAGTCAGC TTCTGA-3' (SEC ID N°: 35).

La siguiente etapa fue clonar un fragmento XhoI-HindIII de 3,6 kb, que contiene el gen β -galactosidasa de *E. coli* y la señal de poliadenilación SV40 de pSV β (Clontech, Palo Alto, CA), en el plásmido pSP72-PGKneo. El "brazo corto" de homología del sitio del gen *Beer* de ratón se generó amplificando un fragmento de 2,4 kb del clon de BAC 15G5. El extremo 3' del fragmento coincidió con el sitio de iniciación de la traducción del gen *Beer*, y el cebador de sentido contrario usado en la PCR también incluyó 30 ntd complementarios al extremo 5' del gen β -galactosidasa de manera que su región codificante pudiera fusionarse en marco con el sitio de iniciación de Beer. El enfoque tomado para introducir el "brazo corto" en el plásmido pSP72- β gal-PGKneo fue linealizar el plásmido en un sitio en la dirección 5' del gen β -gal y luego co-transformar este fragmento con el producto de PCR de "brazo corto" y seleccionar plásmidos en los que el producto de PCR se integró por recombinación homóloga. El cebador de sentido directo para la amplificación del "brazo corto" incluyó 30 ntd complementarios al vector pSP72 para permitir este evento de recombinación. La secuencia del cebador de sentido directo fue 5'-ATTTAGGTGACACTATAGAAGCTCGAGCAGCTGAAGCTTAAC CACATGGTGGCTCACAACCAT-3' (SEC ID N°: 36) y la secuencia del cebador de sentido contrario fue 5'-AACGACGGCCAGTGAATCCGTAATCATGTCATGCTGCCAGGTGGAG GAGGGCA-3' (SEC ID N°: 37).

El "brazo largo" del sitio del gen *Beer* se generó amplificando un fragmento de 6,1 kb del clon de BAC 15G5 con cebadores que también introducen los sitios de enzimas de restricción de corte raro SgrAI, FseI, AclI y PacI. Específicamente, la secuencia del cebador de sentido directo fue 5'-ATTACCACCGGTGACACCCGCTTCCTGACAG-3' (SEC ID N°: 38); la secuencia del cebador de sentido contrario fue 5'-ATTACTTAATTAACATGGCGGCCATATGGCCGGCCCTAATTGCGGCGCATCGTTAATT-3' (SEC ID N°: 39). El producto de PCR resultante se clonó en el vector TA (Invitrogen, Carlsbad, CA) como etapa intermedia.

La construcción que elige como diana el gen *Beer* de ratón también incluyó un segundo marcador de selección, el gen *timidina cinasa del virus 1 del herpes simple* (HSVTK) bajo el control del elemento de repetición del extremo largo del virus del sarcoma de Rous (RSV LTR). La expresión de este gen hace que las células de mamífero sean sensibles (e inviables) a ganciclovir; es, por tanto, una forma conveniente para seleccionar contra células resistentes a neomicina en las que la construcción se ha integrado por un evento no homólogo (patente de EE.UU. 5.464.764). El casete de RSVLTR-HSVTK se amplificó a partir de pPS1337 usando cebadores que permiten la posterior clonación en los sitios FseI y AclI del plásmido del vector TA de "brazo largo". Para esta PCR, la secuencia del cebador de sentido directo fue 5'-ATTACGGCCGGCCGCAAAGGAATTCAAGATCTGA-3' (SEC ID N°: 40); la

secuencia del cebador de sentido contrario fue 5'-ATTACGGCGCGCCCTCACAGGCCGCACCCAGCT-3' (SEC ID N°: 41).

La etapa final en la construcción del vector que elige diana implicó la clonación del fragmento SgrAI-Ascl de 8,8 kb que contiene el "brazo largo" y el gen RSVLTR-HSVTK en los sitios SgrAI y Ascl del plásmido pSP72-"brazo corto"-βgal-PGKneo. Este vector que elige diana se linealizó por digestión con tanto Ascl como PacI antes de la electroporación en células ES.

EJEMPLO 10

INACTIVACIÓN DE BEER MEDIADA POR ANTISENTIDO

Se preparan oligonucleótidos antisentido de 17 nucleótidos en un formato de solapamiento, de tal forma que el extremo 5' del primer oligonucleótido se solape con AUG que inicia la traducción del transcrito de Beer y los extremos 5' de oligonucleótidos sucesivos se produzcan en incrementos de 5 nucleótidos que se mueven en la dirección 5' (hasta 50 nucleótidos alejados), con respecto a AUG de Beer. Se diseñan y preparan oligonucleótidos de control correspondientes usando composición de bases equivalente, pero se redistribuyen en la secuencia para inhibir cualquier hibridación significativa con el ARNm codificante. La administración de reactivos al sistema celular de prueba se realiza mediante administración de lípidos catiónicos (P.L. Felgner, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:7413, 1987). 2 ug de oligonucleótido antisentido se añaden a 100 ul de medio de suero reducido (medio de suero reducido Opti-MEM I; Life Technologies, Gaithersburg MD) y éste se mezcla con reactivo Lipofectin (6 ul) (Life Technologies, Gaithersburg MD) en los 100 ul de medio de suero reducido. Éstos se mezclan, se deja que se complejen durante 30 minutos a temperatura ambiente y la mezcla se añade a las células MC3T3E21 o KS483 previamente sembradas. Estas células se cultivan y se recupera el ARNm. El ARNm de Beer se monitoriza usando RT-PCR conjuntamente con cebadores específicos para Beer. Además, se recogen pocillos experimentales separados y los niveles de proteína se caracterizan por procedimientos de transferencia Western descritos en el Ejemplo 4. Las células se recogen, se resuspenden en tampón de lisis (Tris 50 mM a pH 7,5, NaCl 20 mM, EDTA 1 mM, 1% de SDS) y se recoge la proteína soluble. Este material se aplica al 10-20% de gradiente en SDS-PAGE desnaturizante. Las proteínas separadas se transfieren a nitrocelulosa y la transferencia Western se realizó como antes usando los reactivos de anticuerpo descritos. En paralelo, los oligonucleótidos de control se añaden a cultivos idénticos y se repiten las operaciones experimentales. La disminución en los niveles de ARNm de Beer o proteína se consideran significativos si el tratamiento con el oligonucleótido antisentido produce un cambio del 50% en cualquier caso en comparación con el oligonucleótido de control negativo de control. Esta metodología permite la inactivación de genes selectiva y posterior caracterización de fenotipos de los nódulos mineralizados en el modelo de cultivo de tejido.

EJEMPLO 11

MODELADO DE LA REGIÓN CORE DE ESCLEROSTINA

Las técnicas de reconocimiento de homología (por ejemplo, PSI-BLAST (Altschul y col., Nucleic Acids Res. 25:3389-402 (1997)); FUGUE (Shi y col., J. Mol. Biol. 310:243-57 (2001)) sugirieron que la región Core de SOST (SOST_Core) adopta un pliegue de nudo de cisteína. FUGUE es un procedimiento sensible para detectar homología entre secuencias y estructuras. La gonadotropina coriónica humana β (hCG-β), para la que se conoce una estructura 3D experimentalmente determinada, se identificó por FUGUE (Shi y col., arriba) en el homólogo más relacionado de SOST_Core. Por tanto, hCG-β se usó como molde estructural para construir modelos 3D para SOST_Core.

Un alineamiento de SOST_Core y sus homólogos relacionados se muestra en la Figura 7. Entre los homólogos mostrados en el alineamiento, solo hCG-β (CGHB) tuvo estructura 3D conocida. La identidad de secuencias entre SOST_Core y hCG-β fue aproximadamente del 25%. Ocho residuos de CYS se conservaron en toda la familia, enfatizando la similitud estructural global entre SOST_Core y hCG-β. Tres pares de cisteínas (1-5, 3-7, 4-8) formaron enlaces disulfuro (mostrados con líneas continuas en la Figura 7) en una configuración de "nudo", que fue característica del pliegue del nudo de cisteína. Un enlace disulfuro adicional (2-6), mostrado como una línea discontinua en la Figura 7, fue único para esta familia y distinguió la familia de proteínas de otras familias de nudos de cisteína (por ejemplo, TGF-β, BMP).

SOST_Core se modeló usando la entrada de PDB (Berman y col., Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr. 58(Pt 6 Pt1):899-907 (2002)) 1HCN, la estructura 3D de hCG-β (Wu y col., Structure 2:545-58 (1994)), como molde estructural. Los modelos se calcularon con MODELER (Sali & Blundell, J. Mol. Biol. 234:779-815 (1993)). Una imagen del mejor modelo se muestra en la Figura 8.

La mayoría de las proteínas del nudo de cisteína forman dímeros debido a la falta de núcleo hidrófobo en un monómero (Scheufler y col., arriba; Schlunegger y Grutter, J. Mol. Biol. 231:445-58 (1993)); Wu y col., arriba). SOST probablemente sigue la misma regla y forma un homodímero para aumentar su estabilidad. La construcción de un modelo para la región SOST_Core dimerizada presentó varios retos debido a que (1) la similitud de secuencias entre

SOST_Core y hCG- β era baja (25%); (2) en lugar de un homodímero, hCG- β formó un heterodímero con hCG- α ; y (3) se han observado varias conformaciones relativas diferentes de monómeros en proteínas de nudo de cisteína dimerizadas de diferentes familias (por ejemplo, PDGF, TGF- β , neurotrofina, IL-17F, gonadotropina), que sugirieron que la conformación del dímero de SOST podría desviarse significativamente de la conformación del heterodímero de hCG- α/β . En la construcción del modelo, hCG- α se sustituyó con hCG- β de la estructura del heterodímero (1HCN) usando técnicas de superposición de estructuras combinadas con ajuste manual, y luego se construyó un modelo de homodímero SOST_Core según la pseudoestructura de homodímero hCG- β . El modelo final se muestra en la Figura 9.

10 EJEMPLO 12

MODELADO DE LA INTERACCIÓN SOST-BMP

15 Este ejemplo describe el modelado de proteínas de sitios de unión a receptor de tipo I y tipo II sobre BMP que participan en la interacción entre BMP y SOST.

Los estudios de competencia demostraron que SOST compitió con tanto receptores de tipo I como de tipo II para unirse a BMP. En un ensayo de competencia basado en ELISA, BMP-6 interaccionó selectivamente con la superficie recubierta de esclerostina (300 ng/pocillo) con alta afinidad ($K_D = 3,4$ nM). Cantidades crecientes de receptor IA de BMP (construcción de fusión de FC) compitieron con esclerostina para unirse a BMP-6 (11 nM) ($CI_{50} = 114$ nM). Un exceso molar de 10 veces del receptor de BMP fue suficiente para reducir la unión de esclerostina a BMP-6 aproximadamente el 50%. Esta competencia también se observó con una proteína de fusión de receptor II de BMP - Fc ($CI_{50} = 36$ nM) y DAN ($CI_{50} = 43$ nM). La especificidad del ensayo se mostró por falta de competencia para unirse a BMP-6 entre esclerostina y una proteína de fusión de rActivina R1B-FC, un miembro de la familia de receptores de TGF- β que no se unió a BMP.

Se han mapeado los sitios de unión a receptor de tipo I y tipo II sobre un polipéptido de BMP y se separaron espacialmente (Scheufler y col., arriba; Innis y col., arriba; Nickel y col., arriba; Hart y col. arriba). Noggin, otro antagonista de BMP que se une a BMP con alta afinidad, pone en contacto BMP en los sitios de unión a receptor de tanto tipo I como tipo II mediante la porción del extremo N de Noggin (Groppe y col., arriba). Las dos hebras β en la región Core próxima al extremo C también ponen en contacto BMP en el sitio de unión a receptor de tipo II.

Un alineamiento manualmente ajustado de Noggin y SOST indicó que los dos polipéptidos compartieron similitud de secuencias entre las porciones del extremo N de las proteínas y entre las regiones Core. Un alineamiento de secuencias de aminoácidos se presenta en la Figura 10. Los residuos de cisteína que forman el nudo de cys característico se conservaron entre Noggin y SOST. La identidad de secuencias global fue del 24%, y la identidad de secuencias dentro de la región de unión del extremo N (posiciones de alineamiento 1-45) fue del 33%. Se informó que dos residuos en la región de unión del extremo N de Noggin, concretamente Leu (L) en la posición de alineamiento 21 y Glu (E) en la posición 23, desempeñaban funciones importantes en la unión de BMP (Groppe y col., arriba). Ambos residuos también se conservaron en SOST. La similitud de secuencias dentro de la región Core (posiciones de alineamiento 131-228) fue aproximadamente del 20%, pero el andamiaje del nudo de cys mantuvo y conservó un número suficiente de residuos clave, soportando la homología entre Noggin y SOST.

La estructura de Noggin también se comparó con SOST para entender cómo se dimerizan dos monómeros de SOST. Como se muestra en la Figura 11, la estructura de Noggin sugirió que el ligador entre la región del extremo N y la región Core no solo desempeñó una función en conectar entre las dos regiones, sino que también formó parte de la superficie de separación por dimerización entre dos monómeros Noggin. Una diferencia importante entre Noggin y SOST fue que el ligador entre la región del extremo N y la región Core fue mucho más corto en SOST.

La región del extremo C de SOST puede desempeñar una función en la dimerización de SOST. La secuencia de Noggin terminó con la región Core, mientras que SOST tuvo una región del extremo C adicional. En la estructura de Noggin, un enlace disulfuro conectó los extremos C de dos monómeros de Noggin. Así, la región del extremo C de SOST empezó próxima a la superficie de separación de dos monómeros y podría contribuir a la dimerización. Además, la predicción de la estructura secundaria mostró que algunas porciones de la región del extremo C de SOST tuvieron una tendencia a formar hélices. Esta región en SOST puede ser responsable de la actividad de dimerización, posiblemente mediante el empaquetamiento hélice-hélice, que imitó la función del ligador más largo en Noggin. Otra diferencia entre la estructura de Noggin y SOST fue la inserción del aminoácido en la región Core de SOST en posiciones de alineamiento 169-185 (véase la Figura 10). Esta inserción extendió una horquilla β , que señalaba hacia la superficie de separación de la dimerización en la estructura de Noggin (mostrada en la Figura 11 como una región de bucle en el centro de los monómeros y por encima del residuo de Cys del extremo C). Esta horquilla β alargada también podría contribuir a una dimerización de SOST.

EJEMPLO 13

65 DISEÑO Y PREPARACIÓN DE INMUNÓGENOS DE PÉPTIDOS SOST

Este ejemplo describe el diseño de inmunógenos de péptidos SOST que se usan para inmunizar animales y generar anticuerpos que bloquean interacciones entre BMP y SOST y previene la formación de dímeros de monómeros de SOST.

5 Fragmentos de unión a BMP

La similitud global entre SOST y Noggin y la similitud entre las regiones del extremo N de los dos polipéptidos sugiere que SOST puede interactuar con BMP de un modo similar a Noggin. Es decir, la región del extremo N de SOST puede interactuar con tanto sitios de unión a receptor tipo I como tipo II sobre BMP, y una parte de la región Core (posiciones de alineamiento de aminoácidos 190-220 en la Figura 10) puede interactuar con el sitio de unión a receptor de tipo II de forma que anticuerpos específicos para estas regiones de SOST puedan bloquear o alterar la unión de BMP a SOST.

Las secuencias de aminoácidos de estos fragmentos de polipéptidos de SOST para SOST de rata y humana se proporcionan del siguiente modo.

SOST_N_Ligador: La región del extremo N (incluye el ligador corto que conecta con la región Core)

Humana: QGWQAFKNDATEIPELGEYPEPPPELENNKTMNRAE
NGGRPPHHPFETKDVSEYS (SEC ID N°: 92)

20

Rata: QGWQAFKNDATEIIPGLREYPEPPQLENNQTMNRAEN
GGRPPHHPYDTKDVSEYS (SEC ID N°: 93)

SOST_Core_Unión: Porción de la región Core que es probable que se ponga en contacto con BMP en su sitio de unión a receptor tipo II (extendido ligeramente en ambos extremos para incluir los anclajes del residuo de CYS):

25

Humana: CIPDRYRAQRVQLLCPGGEAPRARKVRLVASC (SEC ID N°: 94)

Rata: CIPDRYRAQRVQLLCPGGAAPRSRKVRLVASC (SEC ID N°: 95)

30 Fragmentos de dimerización de SOST

30

Es probable que la región del extremo C de SOST participe en la formación de homodímeros de SOST (véase el Ejemplo 12). La horquilla β alargada también puede desempeñar una función en la formación de homodímeros. Anticuerpos que se unen específicamente a tales regiones pueden prevenir o alterar la dimerización de monómeros de SOST, que pueden a su vez interferir con interacción entre SOST y BMP. Los fragmentos de polipéptidos en SOST de rata y humana correspondientes a estas regiones son del siguiente modo.

35

SOST_C: la región del extremo C

Humana: LTRFHNQSELKDFGTEAARPQKGRKPRPRARSAKANQA
ELENAY (SEC ID N°: 96)

40

Rata: LTRFHNQSELKDFGPETARPQKGRKPRPRARGAKANQAB
LENAY (SEC ID N°: 97)

SOST_Core_Dímero: Porción de la región Core que es probable que participe en la dimerización de SOST (ligeramente extendida en ambos extremos para incluir los anclajes del residuo de Cys):

45

Humana: CGPARLLPNAIGRGKWWRPSGPDFRC (SEC ID N°: 98)

Rata: CGPARLLPNAIGRVKWWRPNGPDFRC (SEC ID N°: 99)

Fragmento de unión a BMP en el extremo N de SOST

La región de unión del extremo N clave de SOST (posiciones de alineamiento 1-35 en la Figura 10) se modeló basándose en la estructura compleja de Noggin/BMP-7 (entrada del banco de datos de proteínas n°: 1M4U) y el alineamiento de secuencias de aminoácidos (véase la Figura 10) para identificar residuos de aminoácidos del extremo N de SOST que probablemente interactúan con BMP. El modelo de SOST se presenta en la Figura 12. En el modelo comparativo, fenilalanina (Phe, F) en la posición de alineamiento 8 (véase la flecha y el texto adjunto) en la secuencia de SOST se proyecta en un bolsillo hidrófobo sobre la superficie del dímero de BMP. La misma característica de "botón en ojal" se ha observado en la estructura compleja de BMP y receptor de tipo I (Nickel y col., arriba), ajustándose Phe85 del receptor en el mismo bolsillo, que es una característica clave en el reconocimiento de receptores tipo I de ligando para miembros de la superfamilia de TGF- β (incluyendo, por ejemplo, familia de TGF- β , familia de BMP y similares). Según el modelo, también se conserva un giro dirigido a prolina (Pro), que permite que

50

55

el fragmento de unión del extremo N se pliegue a lo largo de la superficie del dímero de BMP, desplazándose del sitio de unión de receptor tipo I al sitio de unión de receptor tipo II sobre los otros lados del complejo. También se conserva otro giro dirigido a Pro próximo al extremo carboxi del fragmento de unión, que luego se conecta con la región del ligador. Amplios contactos entre SOST y BMP son evidentes en la Figura 12.

5

Inmunógenos de péptido

Se diseñaron péptidos para englobar la región del extremo N de SOST predicha que hacía contacto con proteínas BMP. Las secuencias de péptidos se presentan a continuación. Para inmunizar animales, las secuencias de péptidos se diseñaron para el solapamiento, y se añadió una cisteína adicional al extremo C para facilitar la reticulación con KLH. Los péptidos se usaron entonces para inmunización. Las secuencias de péptidos de los inmunógenos son del siguiente modo.

15 SOST humana:

QGWQAFKNDATEIIPPELGEY (SEC ID N°: 47)
 TEIIPPELGEYPEPPPELENN (SEC ID N°: 48)
 PBPPPBLBNNKTMNRAENGG (SEC ID N°: 49)
 KTMNRAENGGRRPPHHPFETK (SEC ID N°: 50)
 20 RPPHHPFETKDVSEYS (SEC ID N°: 51)

Péptidos de SOST humana con Cys adicional:

25 QGWQAFKNDATEIIPPELGEY-C (SEC ID N°: 52)
 TEIIPPELGEYPEPPPELENN-C (SEC ID N°: 53)
 PEPPPELENNKTMNRAENGG-C (SEC ID N°: 54)
 KTMNRAENGGRRPPHHPFETK-C (SEC ID N°: 55)
 RPPHHPFETKDVSEYS-C (SEC ID N°: 56)

30 SOST de rata:

QGWQAFKNDATEIIPGLREYPEPP (SEC ID N°: 57)
 PEPPQLENNQTMNRAENGG (SEC ID N°: 58)
 ENGGRPPBBPYDTKDVSEYS (SEC ID N°: 59)
 35 TEIIPGLREYPEPPQLENN (SEC ID N°: 60)

Péptidos de SOST de rata con Cys adicional:

40 QGWQAFKNDATEIIPGLREYPEPP-C (SEC ID N°: 61)
 PEPPQLENNQTMNRAENGG-C (SEC ID N°: 62)
 ENGGRPPHHPYDTKDVSEYS-C (SEC ID N°: 63)
 TEIIPGLREYPEPPQLENN-C (SEC ID N°: 64)

45 Se diseñaron los siguientes péptidos para contener la porción de aminoácido de la región Core que se predijo que hizo contacto con proteínas BMP. La cisteína se añadió en el extremo C de cada péptido para conjugación con KLH, y los péptidos conjugados se usaron para inmunización. En el péptido del extremo N Core de enlace, una cisteína interna se cambió con una serina para evitar la doble conjugación con KLH.

50 Para SOST humana:

Secuencia de aminoácidos sin residuos de Cys añadidos:
 Enlace_Core_extremo N_Péptido: IPDRYRAQRVQLLCPGGEAP (SEC ID N°: 66)
 Enlace_Core_extrC_Péptido: QLLCPGGEAPRARIKVRLVAS (SEC ID N°: 67)
 Enlace_Core_extremo N_Péptido: IPDRYRAQRVQLLCPGGEAP-C (SEC ID N°: 68)
 55 Enlace_Core_extrC_Péptido: QLLCPGGEAPRARKVRLVAS-C (SEC ID N°: 69)

Para SOST de rata:

60 Secuencia de aminoácidos sin residuos de Cys añadidos o sustituidos:
 Enlace_Core_extremo N_Péptido: IPDRYRAQRVQLLSPGG (SEC ID N°: 70)
 Enlace_Core_extrC_Péptido: PGGAAPRSRKVRLVAS (SEC ID N°: 71)
 Inmunógenos de péptido con Cys añadida y sustituida:
 Enlace_Core_extremo N_Péptido: IPDRYRAQRVQLLSPGG-C (SEC ID N°: 72)
 Enlace_Core_extrC_Péptido: PGGAAPRSRKVRLVAS-C (SEC ID N°: 73)
 65

Dos regiones dentro de SOST que posiblemente interaccionan para formar homodímeros de SOST incluyen los aminoácidos con la región Core de SOST que no están presentes en Noggin. Péptidos SOST humanos diseñados para contener esta secuencia tuvo un Cys del extremo C o extremo N que se conjugó con KLH. Para el péptido de SOST de rata, una cisteína se añadió al extremo carboxi de la secuencia (SEC ID N°: 76). Los péptidos conjugados con KLH se usaron para inmunización.

Para SOST humana:

CGPARLLPNAIGRGKWWRPS (SEC ID N°: 74)
IGRGKWWRPSGPDFRC (SEC ID N°: 75)

Para SOST de rata:

PNAIGRVKWWRPNGPDFR (SEC ID N°: 76)
Péptido de SOST de rata con cisteína añadida
PNAIGRVKWWRPNGPDFR-C (SEC ID N°: 77)

La segunda región dentro de SOST que posiblemente interacciona para formar homodímeros de SOST incluye la región del extremo C. Se diseñaron inmunógenos de péptido que incluyeran secuencias de aminoácidos dentro de esta región (véase más adelante). Para conjugación con KLH, un residuo de cisteína se añadió al extremo C, y los péptidos conjugados se usaron para inmunización.

Para SOST humana:

KRLTRFHNQS ELKDFGTEAA (SEC ID N°: 78)
ELKDFGTEAA RPQKGRKPRP (SEC ID N°: 79)
RPQKGRKPRP RARSAKANQA (SEC ID N°: 80)
RARSAKANQA ELENAY (SEC ID N°: 81)

Inmunógenos de péptido con Cys añadida en el extremo C:

KRLTRFHNQS ELKDFGTEAA-C (SEC ID N°: 82)
ELKDFGTEAA RPQKGRKPRP-C (SEC ID N°: 83)
RPQKGRKPRP RARSAKANQA-C (SEC ID N°: 84)
RARSAKANQA ELENAY-C (SEC ID N°: 85)

Para SOST de rata:

KRLTRFHNQSELKDFGPETARPQ (SEC ID N°: 86)
KGRKPRPRARGAKANQAELENAY (SEC ID N°: 87)
SELKDFGPETARPQKGRKPRPRAR (SEC ID N°: 88)

Inmunógenos de péptido con Cys añadida en el extremo C:

KRLTRFHNQSELKDFGPETARPQ-C (SEC ID N°: 89)
KGRKPRPRARGAKANQAELENAY-C (SEC ID N°: 90)
SELKDFGPETARPQKGRKPRPRAR-C (SEC ID N°: 91)

EJEMPLO 14

ENSAYO PARA DETECTAR LA UNIÓN DE ANTICUERPOS PARA UNA PROTEÍNA DE UNIÓN A TGF-BETA

Este ejemplo describe un ensayo para detectar la unión de un ligando, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo del mismo, a esclerostina.

Se preparó una proteína de fusión FLAG®-esclerostina según protocolos proporcionados por el fabricante (Sigma Aldrich, St. Louis, MO) y como se describe en la patente de EE.UU. n° 6.395.511. Cada pocillo de una placa de microtitulación de 96 pocillos se recubre con anticuerpo monoclonal anti-FLAG® (Sigma Aldrich) y luego se bloquea con 10% de BSA en PBS. La proteína de fusión (20 ng) se añade a 100 µl de PBS/0,2% de BSA y se adsorbe sobre la placa de 96 pocillos durante 60 minutos a temperatura ambiente. Se elimina esta disolución de proteína y los pocillos se lavan para eliminar proteína de fusión sin unir. Una BMP, por ejemplo, BMP-4, BMP-5, BMP-6 o BMP-7, se diluye en PBS/0,2% de BSA y se añade a cada pocillo a concentraciones que oscilan de 10 pM a 500 nM. Después de una incubación durante 2 horas a temperatura ambiente, la disolución de unión se elimina y la placa se lava tres veces con volúmenes de 200 µl de PBS/0,2% de BSA. La unión de BMP a esclerostina se detecta usando antisuero policlonal o anticuerpo monoclonal específico para BMP y un reactivo de segunda etapa conjugado con enzima apropiado según técnicas de ELISA convencionales (véase, por ejemplo, Ausubel y col., Current Protocols in

Mol Biol. Vol 2 11.2.1-11.2.22 (1998)). La unión específica se calcula restando la unión no específica de la unión total y se analiza usando el programa LIGAND (Munson y Podbard, Anal. Biochem. 107:220-39 (1980)).

5 La unión de esclerostina a BMP también se detecta por detección por fluorescencia resuelta en el tiempo homogénea (Mellor y col., J Biomol. Screening, 3:91-99 (1998)). Una secuencia de polinucleótidos que codifica esclerostina está operativamente ligada a una región constante de inmunoglobulina humana en una construcción de ácidos nucleicos recombinantes y se expresa como una proteína de fusión de Fc humana-esclerostina según procedimientos conocidos en la técnica y descritos en el presente documento. Similarmente, un ligando de BMP se manipula y se expresa como un proteína de fusión de BMP-Fc de ratón. Estas dos proteínas de fusión se incuban juntas y el ensayo se realiza como se describe por Mellor y col.

EJEMPLO 15

15 ENSAYO DE CRIBADO PARA ANTICUERPOS QUE INHIBEN LA UNIÓN DE MIEMBROS DE LA FAMILIA DE TGF-BETA A PROTEÍNA DE UNIÓN A TGF-BETA

Este ejemplo describe un procedimiento para detectar un anticuerpo que inhibe la unión de un miembro de la familia de TGF-beta a esclerostina. Se realiza un ELISA esencialmente como se describe en el Ejemplo 14, excepto que la concentración de BMP se mantiene fija a su Kd (determinada, por ejemplo, por análisis BIAcore). Además, un anticuerpo o una biblioteca o conjunto de anticuerpos se añaden a los pocillos a una concentración de 1 µM. Los anticuerpos se incuban durante 2 horas a temperatura ambiente con BMP y esclerostina, la disolución se elimina y BMP unida se cuantifica como se ha descrito (véase el Ejemplo 14). Los anticuerpos que inhiben el 40% de unión de BMP observada en ausencia de anticuerpo se consideran antagonistas de esta interacción. Estos anticuerpos se evalúan adicionalmente como posibles inhibidores realizando estudios de valoración para determinar sus constantes de inhibición y su efecto sobre la afinidad de unión a proteína de unión a TGF-beta. También pueden realizarse ensayos de control de especificidad comparables para establecer el perfil de selectividad para el antagonista identificado usando ensayos dependientes de la acción del ligando de BMP (por ejemplo, un estudio de competencia de BMP/receptor de BMP).

30 EJEMPLO 16

INHIBICIÓN DE LA LOCALIZACIÓN DE PROTEÍNA DE UNIÓN A TGF-BETA EN MATRIZ ÓSEA

35 La evaluación de la inhibición de la localización en matriz ósea (hidroxiapatita) se realiza usando modificaciones al procedimiento de Nicolas (Nicolas, V. Calcif Tissue Int. 57:206-12 (1995)). Brevemente, se prepara proteína de unión a TGF-beta marcada con ¹²⁵I como se describe por Nicolas (arriba). Se añade hidroxiapatita a cada pocillo de una placa de microtitulación de 96 pocillos equipada con una membrana de filtración de polipropileno (Polyfiltroninc, Weymouth MA). Entonces, la proteína de unión a TGF-beta diluida en 0,2% de albúmina en tampón PBS se añade a los pocillos. Los pocillos que contienen matriz se lavan 3 veces con 0,2% de albúmina en tampón PBS. La proteína de unión a TGF-beta adsorbida se eluye usando NaOH 0,3 M y luego se cuantifica.

Un anticuerpo que inhibe o altera la unión de la proteína de unión a TGF-beta esclerostina a hidroxiapatita se identifica incubando la proteína de unión a TGF-beta con el anticuerpo y aplicando la mezcla a la matriz como se ha descrito anteriormente. La matriz se lava 3 veces con 0,2% de albúmina en tampón PBS. La esclerostina adsorbida se eluye con NaOH 0,3 M y luego se cuantifica. Un anticuerpo que inhibe el nivel de unión de esclerostina a hidroxiapatita al menos el 40% en comparación con el nivel de unión observado en ausencia de anticuerpo se considera un inhibidor de la localización ósea. Un anticuerpo tal se caracteriza adicionalmente en estudios de respuesta a dosis para determinar su constante de inhibición y su efecto sobre la afinidad de unión de proteína de unión a TGF-beta.

50 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Brunkow, Mary E. Galas, David J. Kovacevich, Brian Mulligan, John T. Paeper, Bryan W. Van Ness, Jeffrey Winkler, David G.

55 <120> COMPOSICIONES Y PROCEDIMIENTOS PARA AUMENTAR LA MINERALIZACIÓN ÓSEA

<130> 60117-136

60 <140>

<141> 15-06-2004

<150> US 10/463.190

<151> 16-06-2003

65 <160> 143

ES 2 428 767 T3

<170> FastSEQ para Windows Versión 3.0

<210> 1
 <211> 2301
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 1

```

agagcctgtg ctactggaag gtggcgtgoc etcctctggc tggtagcatg cagctcccac      60
tggccctgtg tctcgtctgc ctgctggtac acacagcctt ccgtgtagtg gagggccagg     120
ggtggcaggc gttcaagaat gatgccacgg aaatcatccc cgagctcggg gagtaccocg     180
agcctccacc ggagctggag aacaacaaga ccatgaaccg ggcgggagaac ggagggcggc     240
ctccccacca cccctttgag .accaaagacg tgtccgagta cagctgccgc gagctgcact     300
tcaccgcgta cgtgaccgat gggccgtgcc gcagcgcaa gccggtcacc gagctggtgt     360
gctccggcca gtgcccggc gcgcccctgc tgcccaacgc catcggccgc ggcaagtggg     420
ggcgacctag tgggcccgc ttccgctgca tcccgcacg ctaccgcgcg cagcgcgtgc     480
agctgctgtg tcccgtggt gagggcgcgc gcgcccga ggtgcgcctg gtggcctcgt     540
gcaagtgcaa gcgcctcacc cgcttccaca accagtccga gctcaaggac ttcgggaccg     600
aggccgctcg gccgcagaag ggccggaagc cgcggcccgc cgcccggagc gccaaagcca     660
accaggccga gctggagaac gcctactaga gcccccgc gccccctccc accggcgggc     720
gccccggccc tgaaccgcg ccccacattt ctgtcctctg cgcgtggttt gattgtttat     780
atctcattgt aatgcctgc aaccagggc aggggctga gaacctccag gccctgagga     840
atcccgggcg ccggcaaggc ccccctcagc ccgccagctg aggggtcca cggggcaggg     900
gagggaaattg agagtacag acactgagcc acgcagccc gcctctgggg ccgcctacct     960
ttgctggtcc cacttcagag gaggcagaaa tggaaagcatt ttcaccgccc tggggtttta    1020
agggagcggg gtgggagtgg gaaagtccag ggactggtta agaaagttag ataagattcc    1080
cccttgacc tgcgtgcca tcagaaagcc tgaggcgtgc ccagagcaca agactggggg    1140
caactgtaga tgtggtttct agtccctggc ctgccactaa cttgctgtgt aacctgaaac    1200
tacacaattc tccctcggga cctcaatttc cactttgtaa aatgaggggt gaggtgggaa    1260
taggatctcg aggagactat tggcatatga ttccaaggac tccagtgcc tttgaatggg    1320
cagaggtgag agagagagag agaaagagag agaatgaatg cagttgcatt gattcagtgc    1380
caaggtcact tccagaattc agagttgtga tgctctcttc tgacagcaa agatgaaaaa    1440
    
```

```

caaacagaaa aaaaaaagta aagagtctat ttatggctga catatttacg gctgacaaac     1500
tcctggaaga agctatgctg ctcccagccc tggctcccc ccgatggttg ctacctccac     1560
ccctccatct caaagaaata acatcatcca ttgggtaga aaaggagagg gtccgagggg     1620
ggtgggaggg atagaaatca catccgccc aacttccca agagcagcat cctcccccg     1680
accatagcc atgttttaa gtcaccttc gaagagaagt gaaaggttca aggacactgg     1740
ccttgaggc ccgagggagc agccatcaca aactcacaga ccagcacatc cttttgaga     1800
cacgccttc tgcccaccac tcacggacac attctgcct agaaaacagc ttcttactgc     1860
tcttacatgt gatggcatat cttaactaa aagaatatta ttgggggaaa aactacaagt     1920
gctgtacata tgctgagaaa ctgcagagca taatagctgc cacccaaaaa tcttttgaa     1980
aatcatttcc agacaacctc ttaacttctg ttagttttt aattgttaa aaaaaaagt     2040
tttaaacaga agcacatgac atatgaaagc ctgcaggact ggtcgttttt ttggcaattc     2100
ttccacgtgg gacttgtcca caagaatgaa agtagtgggt tttaaagagt taagttacat     2160
atctatttcc tcaactaagt tatttatgca aaagttttc ttgtagagaa tgacaatggt     2220
aatattgctt tatgaattaa cagtctgttc tccagagtc cagagacatt gtttaataaag     2280
acaatgaatc atgaccgaaa g
    
```

10

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

15

<400> 2

```

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

```

<210> 3
 <211> 2301
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 3

```

agagcctgtg ctactggaag gtggcgtgcc ctccctctggc tggtagcatg cagctccac 60
tggccctgtg tctcgtctgc ctgctgggtac acacagcctt ccgtgtagtg gagggctagg 120
ggtggcagge gttcaagaat gatgccacgg aaatcatccc cgagctcgga gagtaccocg 180
agcctccacc ggagctggag aacaacaaga ccatgaaccg ggccggagaac ggagggcggc 240
ctccccacca cccttttgag accaaagacg tgtccgagta cagctgccgc gagctgcact 300
tcacccgcta cgtgaccgat gggccgtgcc gcagcgcaa gccggtcacc gagctggtgt 360
gctccggcca gtgcccgcg gcgcgcctgc tgcccaacgc catcggccgc ggcaagtggg 420
ggcgacctag tggcccgcgac ttccgctgca tcccgcaccg ctaccgcgcg cagcgcgtgc 480
agctgctgtg tcccgggtggg gagggcgccgc gcgcgcgcaa ggtgcgcctg gtggcctcgt 540
gcaagtgcaa gcgcctcacc cgcttcaca accagtccga gctcaaggac tccgggaccg 600
aggccgctcg gccgcagaag gcccggaagc cgcggccccg gccccggagc gccaaagcca 660
accaggccga gctggagaac gcctactaga gccgcgccgc gccctcccc gccggcgggc 720
cccccgcccc tgaacccgcg ccccacattt ctgtcctctg cgcgtggttt gattgtttat 780
atctcattgt aatgcctgc aaccagggc aggggctga gacctccag gccctgagga 840
atcccggggc ccggcaaggc cccctcagc ccgcagctg aggggtccca cggggcaggg 900
gagggcaatt agagtccacg aactgagcc acgcagcccc gcctctgggg ccgcctacct 960
ttgctggtcc cacttcagag gaggcagaaa tggaaagcatt ttcaccgcc tgggggtttta 1020
agggagcggg gtgggagtg gaaagtccag ggaactggta agaaagtggg ataagattcc 1080
cccttgacc tcgctgcccc tcagaaagcc tgaggcgtgc ccagagcaca agactggggg 1140
caactgtaga tgtggtttct agtcctggct ctgcactaa cttgctgtgt aacctgaac 1200
tacacaattc tcttcgggga cctcaatttc cactttgtaa aatgagggtg gaggtgggaa 1260
taggatctcg aggagactat tggcatatga ttccaaggac tccagtgcct tttgaatggg 1320
cagaggtgag agagagagag agaaagagag agaataatg cagttgcatt gattcagtgc 1380
caaggctact tccagaattc agagtgtgta tgcctctctc tgacagccaa agatgaaaaa 1440
caaacagaaa aaaaaagta aagagtctat ttatggctga catatttacg gctgacaaac 1500
tcctggaaga agctatgctg ctcccagcc tggcttcccc ggatgtttgg ctacctccac 1560
ccctccatct caaagaaata acatcatcca ttggggtaga aaaggagagg gtccgagggg 1620
ggtgggaggg atagaaatca catccgcccc aacttcccaa agagcagcat ccctccccg 1680
accatagcc atgttttaaa gtcaccttc gaagagaagt gaaaggttca aggacactgg 1740
ccttgcaggc ccgagggagc agccatcaca aactcacaga ccagcacatc ccttttgaga 1800
caccgcttc tgcccaccac tcacggacac atttctgcct agaaaacagc ttcttactgc 1860
tottacatgt gatggcatat cttacactaa aagaatatta ttgggggaaa aactacaagt 1920
gctgtacata tgcagagaaa ctgcagagca taatagctgc cacccaaaaa tctttttgaa 1980
aatcatttcc agacaacctc ttactttctg tgtagtttt aattgttaaa aaaaaaagt 2040
tttaaacaga agcacatgac atatgaaagc ctgcaggact ggtcgtttt ttggcaattc 2100
ttccacgtgg gacttgtcca caagaatgaa agtagtgggt tttaaagat taagttacat 2160
atatttttc tcaactaagt tatttatgca aaagttttc ttgtagagaa tgacaatggt 2220
aatattgctt tatgaattaa cagtctgttc ttccagagtc cagagacatt gtttaataaag 2280
acaatgaatc atgaccgaaa g

```

<210> 4
 <211> 23
 5 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4

```

Met Gln Leu Pro Leu Ala Leu Cys Leu Val Cys Leu Leu Val His Thr
  1           5           10           15
Ala Phe Arg Val Val Glu Gly
                20

```

10

<210> 5
 <211> 2301
 <212> ADN
 15 <213> Homo sapiens

<400> 5

```

agagcctgtg ctactggaag gtggcgtgcc ctctctctggc tgggtaccatg cagctcccac      60
tggccctgtg tctcatctgc ctgctggtac acacagcctt ccggtgtagtg gagggccagg      120
ggtggcaggc gttcaagaat gatgccacgg aaatcatccg cgagctcggg gagtaccccc      180
agcctccacc ggagctggag aacaacaaga ccatgaaccg ggcggaagac ggagggcggc      240
ctccccacca cccctttgag accaaagacg tgtccgagta cagctgccgc gagctgcact      300
tcaaccogta cgtgaccgat gggccgtgcc gcagcgccaa gccggtcacc gagctggtgt      360
gctccggcca gtggcgcccg gcgcgcctgc tgcccaacgc catcggccgc ggcaagtggg      420
ggcgacctag tgggcccgcac ttccgctgca tccccgaccg ctaccgcgcg cagcgcgtgc      480
agctgctgtg tcccggtggt gaggcgcgcg gcgcgcgcaa ggtgcgcctg gtggectcgt      540
gcaagtgcaa gcgcctcacc cgcttcacca accagtccga gctcaaggac ttcgggaccg      600
aggccgctcg gccgcagaag ggcgcgaagc cgcgcgcccg cgcccggagc gccaaagcca      660
accaggccga gctggagaac gcctactaga gcccgcccg cccctcccc accggcgggc      720
gcccggccc tgaaccocgc ccccacattt ctgtcctctg cgcgtggttt gattgtttat      780
attcattgt aaatgcctgc aaccagggc agggggctga gaccttcacg gccctgagga      840
atccggggcg ccggcaaggc ccccctcagc ccgccaactg aggggtcca cggggcaggg      900
gagggcaattg agagtccacg aactgagcc acgcagcccc gcctctgggg ccgcctacct      960
ttgctggtcc cacttcagag gaggcagaaa tggaaagcatt ttcaccgccc tggggtttta     1020
agggagcggg gtgggagtg gaaagtccag ggactggtta agaaagtgg ataagattcc     1080
cccttgcaac tgcctgcccc tcagaaaagc tgaggcgtgc ccagagcaca agactggggg     1140
caactgtaga tgtggtttct agtccctggc ctgcccactaa cttgctgtgt aaccttgaac     1200
tacacaattc tccttcggga cctcaatttc cactttgtaa aatgaggggt gaggtgggaa     1260
taggatctcg aggagactat tggcatatga tccaaggac tccagtgcct tttgaatggg     1320
cagaggtgag agagagagag agaaagagag agaatgaatg cagttgcatt gattcagtgc     1380
caaggtcact tccagaattc agagtgtgta tgctctcttc tgacagccaa agatgaaaaa     1440
caaacagaaa aaaaaaagta aagagtctat ttatggctga catatttacg gctgacaaaac     1500
tcctggaaga agctatgctg cttcccagcc tggcctcccc ggatgtttgg ctacctccac     1560
ccctccatct caaagaaata acatcatcca ttggggtaga aaaggagagg gtccgagggg     1620
ggtgggaggg atagaaatca catccgcccc aactcccaa agagcagcat ccctcccccg     1680
accatagcc atgtttttaa gtcaccttcc gaagagaagt gaaaggttca aggacactgg     1740
ccttgcaagg ccgaggggagc agccatcaca aactcacaga ccagcacatc ccttttgaga     1800
caccgccttc tgcccaccac tcacggacac atttctgcct agaaaacagc ttcttactgc     1860
tcttacatgt gatggcatat cttacactaa aagaatatta ttgggggaaa aactacaagt     1920
gctgtacata tgctgagaaa ctgcagagca taatagctgc cacccaaaaa tctttttgaa     1980
aatcatttc agacaacctc ttactttctg tgtagttttt aattgtttaa aaaaaaaggt     2040
tttaaacaga agcacatgac atatgaaagc ctgcaggact ggtcgttttt ttggcaattc     2100
ttcacgtgg gacttgtcca caagaatgaa agtagtgggt tttaaagagt taagttacat     2160
atztattttc tcaacttaagt tatttatgca aaagtttttc ttgtagagaa tgacaatggt     2220
aatattgctt tatgaattaa cagtctgttc ttccagagtc cagagacatt gtaataaag     2280
acaatgaatc atgaccgaaa g

```

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

<400> 6

```

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

```

5

10

ES 2 428 767 T3

				85						90				95			
Ala	Lys	Pro	Val	Thr	Glu	Leu	Val	Cys	Ser	Gly	Gln	Cys	Gly	Pro	Ala		
			100					105					110				
Arg	Leu	Leu	Pro	Asn	Ala	Ile	Gly	Arg	Gly	Lys	Trp	Trp	Arg	Pro	Ser		
		115					120					125					
Gly	Pro	Asp	Phe	Arg	Cys	Ile	Pro	Asp	Arg	Tyr	Arg	Ala	Gln	Arg	Val		
	130					135					140						
Gln	Leu	Leu	Cys	Pro	Gly	Glu	Ala	Pro	Arg	Ala	Arg	Lys	Val	Arg			
145					150					155					160		
Leu	Val	Ala	Ser	Cys	Lys	Cys	Lys	Arg	Leu	Thr	Arg	Phe	His	Asn	Gln		
				165					170					175			
Ser	Glu	Leu	Lys	Asp	Phe	Gly	Thr	Glu	Ala	Ala	Arg	Pro	Gln	Lys	Gly		
			180					185					190				
Arg	Lys	Pro	Arg	Pro	Arg	Ala	Arg	Ser	Ala	Lys	Ala	Asn	Gln	Ala	Glu		
		195					200					205					
Leu	Glu	Asn	Ala	Tyr													
	210																

<210> 7
 <211> 2301
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 7

agagcctgtg	ctactggaag	gtggcgtgcc	ctcctctggc	tggtaccatg	cagctcccac	60
tggccctgtg	tctcgtctgc	ctgctggtac	acacagcctt	ccgtgtagtg	gagggccagg	120
ggtggcaggc	gttcaagaat	gatgccacgg	aaatcatccg	cgagctcgga	gagtaccccg	180
agcctccacc	ggagctggag	aacaacaaga	ccatgaaccg	ggcggagAAC	ggagggcggc	240
ctcccacca	cccctttgag	accaaagacg	tgtccgagta	cagctgccgc	gagctgcact	300
tcacccgcta	cgtgaccgat	gggcccgtgc	gcagcgcAA	gccggtcacc	gagctggtgt	360
gctccggcca	gtgcccggcg	ggcgcctgc	tgcccAAC	catcggccgc	ggcaagtggg	420
ggcgacctag	tgggcccggc	ttccgctgca	tccccgaccg	ctaccgcgcg	cagcgcgtgc	480
agctgctgtg	tcccgggtgg	gagggccgc	ggcgcgcgca	ggtgcgcctg	gtggcctcgt	540
gcaagtgcaa	gcccctcacc	cgcttccaca	accagtcgga	gctcaaggac	ttcgggaccg	600
aggccgctcg	gcccagaaag	ggcccgaagc	cgcccggcgc	cgcccggagc	gcccagcca	660
accaggccga	gctggagaac	gcctactaga	gcccggccgc	gcccctcccc	accggcgggc	720
gcccggccc	tgaaccgcg	ccccacattt	ctgtcctctg	cgcggtggtt	gattgtttat	780
atctcattgt	aaatgcctgc	aaccagggc	agggggctga	gaccttccag	gcccctgagga	840
atcccgggg	ccggcaaggc	ccccctcagc	ccgccagctg	aggggtccca	cggggcaggg	900
gagggaaatg	agagtcacag	acactgagcc	acgcagcccc	gocctcgggg	cgccctacct	960
ttgctggtcc	cacttcagag	gaggcagaaa	tggaagcatt	ttcaccgccc	tggggtttta	1020
agggagcggg	gtgggagtgg	gaaagtccag	ggactgggta	agaaagtggg	ataagattcc	1080
cccttgccc	tgcgtgcccc	tcagaaagcc	tgaggcgtgc	ccagagcaca	agactggggg	1140
caactgtaga	tgtggtttct	agtccctggc	ctgccactaa	cttgctgtgt	aaccttgAAC	1200
tacacaattc	tcttcgggga	cctcaatttc	cactttgtaa	aatgaggggt	gaggtgggaa	1260
taggatctcg	aggagactat	tggcatatga	ttccaaggac	tcacgtgcct	tttgaatggg	1320
cagaggtgag	agagagagag	agaaagagag	agaatgaatg	cagttgcatt	gattcagtgc	1380
caaggtcact	tccagaattc	agagttgtga	tgctctcttc	tgacagccaa	agatgaaaaa	1440
caaacagaaa	aaaaaaagta	aagagtcctat	ttatggctga	catatttacg	gctgacaaac	1500
tcctggaaga	agctatgctg	cttcccagcc	tggcttcccc	ggatggttgg	ctacctccac	1560
ccctccatct	caaagaaata	acatcatcca	ttggggtaga	aaaggagagg	gtccgagggg	1620
ggtgggaggg	atagaaatca	catccgcccc	aacttcccaa	agagcagcat	ccctcccccg	1680
accatagcc	atgttttaaa	gtcaccttcc	gaagagaagt	gaaaggttca	aggacactgg	1740
ccttgaggc	ccgagggagc	agccatcaca	aactcacaga	ccagcacatc	ccctttgaga	1800
caccgccttc	tgcccaccac	tcacggacac	atctctgcct	agaaaacagc	ttcttactgc	1860
tcttacatgt	gatggcatat	cttactactaa	aagaatatta	ttgggggaaa	aactacaagt	1920
gctgtacata	tgctgagaaa	ctgcagagca	taatagctgc	cacccaaaaa	tctttttgaa	1980
aatcatttcc	agacaacctc	ttactttctg	tgtagttttt	aattgttaaa	aaaaaaagt	2040
tttaaacaga	agcacatgac	atatgaaagc	ctgcaggact	ggtcgttttt	ttggcaattc	2100
ttccacgtgg	gacttgcca	caagaatgaa	agtagtggtt	tttaaagagt	taagttacat	2160
atatttttc	tcacttaagt	tatttatgca	aaagtttttc	ttgtagagaa	tgacaatggt	2220
aatattgctt	tatgaattaa	cagtctgttc	ttccagagtc	cagagacatt	gttaataaag	2280
acaatgaatc	atgaccgaaa	g				2301

10

ES 2 428 767 T3

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

5

<400> 8

```

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

10

<210> 9
 <211> 642
 <212> ADN
 <213> Cercopithecus pygerythrus

15

<400> 9

```

atgcagctcc cactggccct gtgtcttgtc tgcctgctgg tacacgcagc cttccgtgta      60
gtggagggcc aggggtggca ggccttcaag aatgatgcca cggaaatcat ccccgagctc      120
ggagagtacc ccgagcctcc accggagctg gagaacaaca agaccatgaa ccgggaggag      180
aatggagggc ggctcccca ccacccttt gagaccaaa acgtgtccga gtacagctgc      240
cgagagctgc acttcaccog ctacgtgacc gatgggccgt gccgcagcgc caagccagtc      300
accgagttgg tgtgctccgg ccagtgcggc ccggcaacgc tgetgcccga cgccatcggc      360
cgcggaagt ggtggcgccc gagtgggccc gacttccgct gcatccccga ccgctaccgc      420
gcgcagctg tgcagctgct gtgtcccggt ggtgcgcgcg cgcgcgcgcg caaggtgcgc      480
ctggtggcct cgtgcaagtg caagcgcctc acccgccttc acaaccagtc ggagctcaag      540

gacttcggtc ccgaggcgc tcggccgcag aagggcgga agccgcggcc ccgcgcccgg      600
ggggccaaa ccaatcaggc cgagctggag aacgcctact ag                                642
    
```

20

<210> 10
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Cercopithecus pygerythrus

25

<400> 10

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

<210> 11
 <211> 638
 <212> ADN
 <213> Mus musculus

5

<400> 11

```

atgcagccct cactagcccc gtgctcctc tgcctacttg tgcacgctgc cttctgtgct 60
gtggagggcc aggggtggca agccttcagg aatgatgcca cagaggtcat cccagggctt 120
ggagagtacc ccgagcctcc tcctgagaac aaccagacca tgaaccgggc ggagaatgga 180
ggcagacctc cccaccatcc ctatgacgcc aaaggtgtgt ccgagtacag ctgccgcgag 240
ctgcactaca cccgcttctc gacagacggc ccatgccgca gcgccaagcc ggtcaccgag 300
ttggtgtgct ccggccagtg cgcccccgcg cggtgctgct ccaacgccat cgggcgcgtg 360
aagtgggtggc gcccgaaacgg accggatttc cgctgcatcc cggatcgcta ccgcgcgcag 420
cgggtgcagc tgctgtgccc cgggggcgcg gcgcccgcgt cgcgcaaggt gcgtctgggtg 480
gcctcgtgca agtgcaagcg cctcaccgcg ttccacaacc agtcggagct caaggacttc 540
gggccggaga ccgcgcggcc gcagaagggt cgcaagccgc ggcccggcgc ccggggagcc 600
aaagccaacc aggcggagct ggagaacgcc tactagag 638
    
```

10

<210> 12
 <211> 211
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

15

<400> 12

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

<210> 13
 <211> 674
 <212> ADN
 <213> Rattus norvegicus

5

<400> 13

gaggaccgag tgccttct ccttctggca ccatgcagct ctactagcc ccttgccttg 60
 cctgcctgct tgtacatgca gccttcggtg ctgtggagag ccaggggtgg caagccttca 120
 agaatgatgc cacagaaatc atcccgggac tcagagagta cccagagcct cctcaggaac 180
 tagagaacaa ccagaccatg aaccgggccc agaacggagg cagacccccc caccatcctt 240
 atgacaccaa agacgtgtcc gagtacagct gccgcgagct gcactacacc cgcttcgtga 300
 ccgacggccc gtgcccagct gccaaagcgg tcaccgagtt ggtgtgctcg ggccagtgcg 360
 gccccgccc gctgctgccc aacgcatcg ggcgcgtgaa gtggtggcgc ccgaaacggac 420
 ccgacttccg ctgcatcccg gatcgtacc gcgcgcagcg ggtgcagctg ctgtgccccg 480
 gcggcgccc gccgcgctcg cgcaaggtgc gtctggtggc ctctgtgcaag tgcaagcgcc 540
 tcaccgctt ccacaaccag tcggagctca aggacttcgg acctgagacc gcgcccggcgc 600
 agaagggtcg caagccgccc ccccgcgccc ggggagccaa agccaaccag gcggagctgg 660
 agaacgccta ctag 674

10

<210> 14
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus

15

<400> 14

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

<210> 15
 <211> 532
 <212> ADN
 <213> Bos torus

5

<400> 15

agaatgatgc cacagaaatc atccccgagc tggggcgagta cccccgagcct ctgccagagc 60
 tgaacaacaa gaccatgaac cgggcgagga acggagggag acctcccac caccctttg 120
 agaccaaaga cgctccgag tacagctgcc gggagctgca cttcaccgc tacgtgaccg 180
 atgggcccgtg ccgcagcgcc aagccggtca ccgagctggt gtgctcgggc cagtgcggcc 240
 cggcgcgctt gctgcccac gccatcggcc gcggcaagtg gtggcgcca agcgggcccg 300
 acttccgctg catccccgac cgtaccgcg cgcagcgggt gcagctgtt tgcctggcg 360
 gcgcggcgcc gcgcgcgcgc aaggtgcgcc tgggtggcctc gtgcaagtgc aagcgctca 420
 ctcgctcca caaccagtc gagtcaagg acttcgggccc cgaggccgcg cggccgcaaa 480
 cgggccggaa gctgcggccc cgcgccggg gcaccaaagc cagccgggccc ga 532

10

<210> 16
 <211> 176
 <212> PRT
 <213> Bos torus

15

<400> 16

Asn Asp Ala Thr Glu Ile Ile Pro Glu Leu Gly Glu Tyr Pro Glu Pro
 1 5 10 15
 Leu Pro Glu Leu Asn Asn Lys Thr Met Asn Arg Ala Glu Asn Gly Gly
 20 25 30

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

<210> 17
 <211> 35828
 <212> ADN
 <213> Mus musculus

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(35828)
 <223> n = A,T,C o G

<400> 17

```

cgcggttttg tgagcagcaa tattgcgctt cgatgagcct tggcggttgag attgatacct      60
ctgctgcaca aaaggcaatc gaccgagctg gaccagcgca ttcgtgacac cgtctccttc      120
gaacttattc gcaatggagt gtcattcatc aaggacngcc tgatcgcaaa tgggtgctatc      180
cacgcagcgg caatcgaaaa ccctcagccg gtgaccaata tctacaacat cagccttgggt      240
atcctgctgt atgagccagc gcagaacaag gtaaccgtca gtgccgataa gttcaaagtt      300
aaacctgggt tgataccaa cattgaaaac ttgatcgaaa acgcgctgaa aaacgctgct      360
gaatgtgcgg cgctggatgt cacaaagcaa atggcagcag acaagaaagc gatggatgaa      420
ttggcttcct atgtccgcac ggccatcatg atggaatggt tcccgggtgg tgttatctgg      480
cagcagtgcc gtcgatagta tgcaattgat aattattatc atttgcggtt cctttccggc      540
gatccgcctt gttacggggc ggcgacctcg cgggttttct ctatttatga aaattttccg      600
gtttaaggcg tttccgttct tcttcgtcat aacttaatgt ttttatttaa aataccctct      660
gaaaagaaag gaaacgacag gtgctgaaag cgagcttttt ggcctctgtc gtttcctttc      720
tctgtttttg tccgtggaat gaacaatgga agtcaacaaa aagcagagct tatcgatgat      780
aagcgggtcaa acatgagaat tcgcggccgc ataatacgac tcaactatagg gatcgacgcc      840
tactccccgc gcatgaagcg gaggagctgg actccgcctg cccagagacg ccccccaacc      900
cccaaagtgc ctgacctcag cctctaccag ctctggcttg ggcttggggc ggggtcaagge      960
taccacgttc tettaacagg tggctgggct gtctcttggc cgcgcgtcat gtgacagctg     1020
cctagttctg cagtgaggtc accgtggaat gtctgccttc gttgccatgg caacgggatg     1080
acgttacaat ctgggtgtgg agcttttctt gtccgtgtca ggaaatccaa ataccctaaa     1140
ataccctaga agaggaagta gctgagccaa ggcttttctg gcttctccag ataaagtttg     1200
acttagatgg aaaaaaacia aatgataaag acccgagcca tctgaaaatt cctcctaatt     1260
gcaccactag gaaatgtgta tattattgag ctcgtatgtg ttcttatttt aaaaagaaaa     1320
ctttagtcat gttattaata agaatttctc agcagtggga gagaaccaat attaacacca     1380
agataaaagt tggcatgac cacattgcag gaagatccac gttgggtttt catgaatgtg     1440
aagaccccat ttattaaagt cctaagctct gtttttgcac actaggaagc gatggccggg     1500
atggctgagg ggctgtaagg atccttcaat gtcttacatg tgtgttctct gtectgcacc     1560
taggacctgc tgectagcct gcagcagagc cagaggggtt tcacatgatt agtctcagac     1620
    
```

5

10

15

acttgggggc	aggttgcattg	tactgcattg	cttatttcca	tacggagcac	ctactatgtg	1680
tcaaacacca	tatgggtgttc	actcttcaga	acgggtgggg	tcatcatggg	gcatttgcctg	1740
acgggtggat	tgggtgtaga	gagctgagat	atatggacgc	actcttcagc	attctgtcaa	1800
cgtggctgtg	cattcttgct	cctgagcaag	tggctaaca	gactcacagg	gtcagcctcc	1860
agctcagtcg	ctgcatagtc	ttagggaaac	tctcccagtc	ctcctacct	caactatcca	1920
agaagccagg	gggcttggcg	gtctcaggag	cctgcttgcct	gggggacagg	ttgttgagtt	1980
ttatctgcag	taggttgcct	aggcatagtg	tcaggactga	tggctgcctt	ggagaacaca	2040
tcctttgccc	tctatgcaaa	tctgaccttg	acatgggggc	gctgctcagc	tgggaggatc	2100
aactgcatac	ctaaagccaa	gcctaaagct	tcttgcctca	cctgaaactc	ctggaccaag	2160
gggcttccgg	cacatcctct	caggccagtg	agggagtctg	tgtgagctgc	actttccaat	2220
ctcagggcgt	gagaggcaga	gggaggtggg	ggcagagcct	tcagctctt	tcctcccac	2280
tggacagcgc	tctggctcag	cagccatata	gagcacaggc	acatccccac	cccacccc	2340
cctttcctgt	cctgcagaat	ttaggctctg	ttcacggggg	gggggggggg	ggggcagctc	2400
tatcctctct	taggtagaca	ggactctgca	ggagacactg	ctttgtaaga	tactgcagtt	2460
taaatttggg	tgttgtgagg	ggaaagcgaa	gggcctcttt	gaccattcag	tcaaggtacc	2520
ttctaactcc	catcgtattg	ggggctact	ctagtgttag	acattgcaga	gagcctcaga	2580
actgtagtta	ccagtgtggg	aggattgatc	cttcaggagg	cctgacatgt	gacagttcca	2640
ttcttcaccc	agtcaccgaa	catttattca	gtacctacc	cgtaacaggc	accgtagcag	2700
gtactgaggg	acggaccact	caaagaactg	acagaccgaa	gccttggat	ataaacacca	2760
aagcatcagg	ctctgccaac	agaacactct	ttaacactca	ggcctttaa	cactcaggac	2820
ccccaccccc	acccaagca	gttggcactg	ctatccacat	tttacagaga	ggaaaaacta	2880
ggcacaggac	gatataagtg	gcttgcctaa	gcttgcctgc	atggtaaatg	gcagggtcgg	2940
attgagaccc	agacattcca	actctagggg	ctattttct	ttttctcgt	tgttcgaatc	3000
tgggtcttac	tgggtaaact	caggctagcc	tcacactcat	atccttctcc	catggcttac	3060
gagtgtcagg	attccagggtg	tgtgctacca	tgtctgactc	cctgtagctt	gtctatacca	3120
tcctcacaac	ataggaattg	tgatagcagc	acacacaccg	gaaggagctg	gggaaatccc	3180
acagagggct	cgcagggatg	acaggcgaat	gcctacacag	aaggtgggga	aggggaagcag	3240
agggaaacagc	atgggcgtgg	gaccacaagt	ctatttgggg	aagctgccgg	taaccgtata	3300
tggctggggg	gaggggagag	gtcatgagat	gaggcaggaa	gagccacagc	aggcagcggg	3360
tacgggctcc	ttattgccaa	gaggctcgga	tcttctcct	cttctcctt	ccggggctgc	3420
ctgttcattt	tccaccactg	cctcccaccc	aggtctgtgg	ctcaggacat	caccagctg	3480
cagaaactgg	gcatacacca	cgtcctgaat	gctgccgagg	gcaggctcct	catgcacgtc	3540
aacaccagtg	ctagcttcta	cgaggattct	ggcatcacct	acttgggcat	caaggccaat	3600
gatacgcagg	agttcaacct	cagtgtctac	tttgaaaggg	ccacagattt	cattgaccag	3660
gcgctggccc	ataaaaatgg	taaggaaact	acattccggc	acccatggag	cgtagccct	3720
ctgggacctg	cttctccaa	agaggccccc	acttgaaaaa	ggttccagaa	agatcccaa	3780
atatgccacc	aactagggat	taagtgtct	acatgtgagc	cgatgggggc	cactgcata	3840
agtctgtgcc	atagacatga	caatggataa	taatatttca	gacagagagc	aggagttag	3900
tagctgtgct	cctttccctt	taattgagtg	tgcccatttt	ttattcatg	tatgtgtata	3960
catgtgtgtg	caocacatgcc	ataggtgat	actgaacacc	gtcttcaatc	gttccccacc	4020
ccaccttatt	ttttgaggca	gggtctcttc	cctgatcctg	gggtcattg	gtttatctag	4080
gctgctggcc	agtgagctct	ggagttctgc	ttttctctac	ctccttagcc	ctgggactgc	4140
aggggcatgt	gctgggcccag	gcttttatgt	cgcggtgggg	atctgaactt	aggctcctag	4200
gctgagcac	cgtaaagact	ctgccacatc	cccagcctgt	ttgagcaagt	gaaccattcc	4260
ccagaattcc	cccagtgggg	ctttctacc	cttttattgg	ctaggcattc	atgagtggtc	4320
acctcgccag	aggaatgagt	ggccacgact	ggctcagggt	cagcagccta	gagatactgg	4380
gttaagtctt	cctgcccctc	gctccctgca	gcccagaca	gaaagtagga	ctgaatgaga	4440
gctggctagt	ggtcagacag	gacagaaggc	tgagagggtc	acagggcaga	tgtcagcaga	4500
gcagacaggt	tctccctctg	tgggggaggg	gtggcccact	gcagggtgtaa	ttggccttct	4560
ttgtgctcca	tagaggcttc	ctgggtacac	agcagcttcc	ctgtcctggg	gattcccaa	4620
gagaactccc	taccactgga	cttacagaag	ttctattgac	tggtgtaacg	gttcaacagc	4680
tttggctctt	ggtggacggg	gcatactgct	gtatcagctc	aagagctcat	tcacgaatga	4740
acacacacac	acacacacac	acacacacac	acacaagcta	atthtगतat	gccttaacta	4800
gctcagtgac	tgggcatttc	tgaacatccc	tgaagttagc	acacatttcc	ctctgggtgtt	4860
cctggcttaa	ccacttccct	atctatattt	tatctttgct	gcctgttac	cttctgagaa	4920
gcccctaggg	ccacttccct	tcgcacctac	attgctggat	ggtttctctc	ctgcagctct	4980
taaactctgat	ccctctgcct	ctgagccatg	ggaacagccc	aataactgag	ttagacataa	5040

aaacgtctct	agccaaaact	tcagctaaat	ttagacaata	aatcttactg	gttgtggaat	5100
ccttaagatt	cttcatgacc	tccttcacat	ggcacgagta	tgaagcttta	ttacaattgt	5160
ttattgatca	aactaactca	taaaaagcca	gttgtcttcc	acctgctcaa	ggaaggaaca	5220
aaattcatcc	ttactgatc	tgtgcacctt	gcacaatcca	tacgaatac	ttaagagtac	5280
taagattttg	gttgtgagag	tcacatgtta	cagaatgtac	agctttgaca	aggtgcatcc	5340
ttgggatgcc	gaagtgacct	gctgttccag	cccctacct	tctgaggctg	ttttggaagc	5400
aatgctctgg	aagcaacttt	aggaggtagg	atgctggaac	agcgggtcac	ttcagcatcc	5460
cgatgacgaa	tcccgtaaaa	gctgtacatt	ctgtaacaga	ctgggaaagc	tgcagacttt	5520
aaggccaggg	cctatgggc	cctcttaatc	cctgtcacac	ccaacccgag	cccttctcct	5580
ccagccgttc	tgtgcttctc	actctggata	gatggagaac	acggccttgc	tagttaaagg	5640
agtgaggctt	cacccttctc	acatggcagt	ggttggctat	cctcattcag	ggaactctgg	5700
ggcattctgc	ctttacttcc	tctttttgga	ctacagggaa	tatatgctga	cttgttttga	5760
ccttgtgtat	ggggagactg	gatctttggt	ctggaatggt	tcctgctagt	ttttcccat	5820
cccttggcaa	accctatcta	tatcttacca	ctaggcatag	tggccctcgt	tctggagcct	5880
gccttcaggc	tggttctcgg	ggaccatgtc	cctggtttct	cccagcata	tgggtgtcac	5940
agtggttcact	gcgggtggtt	gctgaacaaa	gcggggattg	catcccagag	ctccggtgcc	6000
ttgtgggtac	actgctaaga	taaaatggat	actggcctct	ctctgaccac	ttgcagagct	6060
ctggtgcctt	gtgggtacac	tgctaagata	aaatggatac	tggcctctct	ctatccactt	6120
gcaggactct	agggaacagg	aatccattac	tgagaaaaac	aggggctagg	agcagggagg	6180
tagctgggca	gctgaagtgc	ttggcgacta	accaatgaat	accagagttt	ggatctctag	6240
aatactctta	aaatctgggt	gggcagagtg	gcctgcctgt	aatcccagaa	ctcgggagge	6300
ggagacaggg	aatcatcaga	gcaaacctggc	taaccagaat	agcaaaacac	tgagctctgg	6360
gctctgtgag	agatcctgcc	ttaacatata	agagagagaa	taaaaacattg	agaagacag	6420
tagatgcca	ttttaagccc	ccacatgcac	atggacaagt	gtgcgtttga	acacacatat	6480
gcactcatgt	gaaccaggca	tgcacactcg	ggcttatcac	acacataaatt	tgaagagag	6540
agtgagagag	gagagtgcac	attagagttc	acaggaaagt	gtgagtgagc	acacccatgc	6600
acacagacat	gtgtgccagg	gagtaggaaa	ggagcctggg	tttgtgtata	agagggagcc	6660
atcatgtgtt	tctaaggagg	gcgtgtgaag	gaggcgttgt	gtgggctggg	actggagcat	6720
ggttgaact	gagcatgctc	cctgtgggaa	acaggagggt	ggccaccctg	cagagggtcc	6780
cactgtccag	cgggatcagt	aaaagcccct	gctgagaact	ttaggtaata	gccagagaga	6840
gaaaggtagg	aaagtggggg	gactcccctc	tctgatgtag	gaggatctgg	gcaagttag	6900
gtgcgttga	ggtagaaaaga	gggggtgcaga	ggagatgctc	ttaattctgg	gtcagcagtt	6960
tctttccaaa	taatgcctgt	gaggaggtgt	aggtgggtggc	cattcactca	ctcagcagag	7020
ggatgatgat	gcccgggtgga	tgctggaaat	ggccgagcat	caaccctggc	tctggaagaa	7080
ctccatcttt	cgaaggaga	gtggatctgt	gtatggccag	cggggtcaca	ggtgcttggg	7140
gcccctgggg	gactcctagc	actgggtgat	gtttatcgag	tgctcttgtg	tgccaggcac	7200
tggcctgggg	ctttgtttct	gtctctgttt	tgtttcgttt	tttgagacag	actcttgcta	7260
tgtatccgtg	tcaatcttgg	aatctcactg	catagcccag	gctgcggaga	gaggggaggg	7320
caataggcct	tgaagcaag	ccacacttca	gagactagac	tccaccctgc	gaatgatgac	7380
aggtcagagc	tgagttccgg	aagatttttt	ttccagctgc	caggtggagt	gtggagtggc	7440
agctagcggc	aagggtagag	ggcgagctcc	ctgtgcagga	gaaatgcaag	caagagatgg	7500
caagccagtg	agttaagcat	tctgtgtggg	gagcaggtgg	atgaagagag	aggctgggct	7560
ttcgccctctg	gggggggggt	gaggggtggg	gatgaggtga	gaggagggca	gctccctgca	7620
gtgtgatgag	atttttcctg	acagtgacct	ttggcctctc	cctccccac	ttcccttctt	7680
tcctttcttc	ccaccattgc	tttcttbtgc	cttgagaaat	tctgagtttc	cacttccactg	7740
gtgatgcaga	cggaaaacaga	agccgtgtgt	gtgtgtgtgt	gtgtgtgtgt	gtgtgtgtgt	7800
gtgtgtgtgt	ttgtgtgtat	gtgtgtgtgt	gtgtttgtgt	gtatgtgtgt	cagtgggaat	7860
ggctcatagt	ctgcaggaag	gtgggcagga	aggaataagc	tgtaggctga	ggcagtgtgg	7920
gatgcagggg	gagaggagag	gagggatacc	agagaaggaa	attaagggag	ctacaagagg	7980
gcatgttgg	ggtgtgtgtg	tgtgtgtgtt	gtttatattt	gtattgaaa	tacattcttt	8040
taaaaaatac	ttatocattt	atttattttt	atgtgcacgt	gtgtgtgctt	gcatgagttc	8100
atgtgtgcca	cgtgtgtgcg	ggaacccttg	gaggccacaa	gggggcatct	gatcccctgg	8160
aactggagtt	ggaggagggt	gtgagtcocc	tgacatgttt	gctgggaact	gaaccccggg	8220
cctatgcaag	agcaggaagt	gcagttatct	gctgagccat	ctctccagtc	ctgaaatcca	8280
ttctctaaa	atacacgtgg	cagagacatg	atgggattta	cgtatggatt	taatgtggcg	8340
gtcattaagt	tcocgcacag	gcaagcacct	gtaaagccat	caccacaacc	gcaacagtg	8400
atgtgaccat	cacccccatg	ttcttcatgt	cccctgtccc	ctccatcctc	catctcgaag	8460

caectctg	tctgctctg	tgcgtggaga	acagtgtgca	tctgcacact	cttatgtcag	8520
tgaagtcaca	cagcctgcac	cccttccctgg	tctgagtatt	tgggttctga	ctctgctatc	8580
acacactact	gtactgcatt	ctctcctctct	ctttttttaa	acatattttt	atctgtttgt	8640
gtgtatgcac	atgtgccaca	tgtgtacaga	tactatggag	gccagaagag	gccatggccg	8700
tccctggagc	tggagttaca	ggcagcgtgt	gagctgcctg	gtgtgggtgc	tgggaaccaa	8760
acttgaatct	aaagcaagca	cttttaactg	ctgaggcagc	tctcagtacc	cttcttcatt	8820
tctccgcctg	ggttccattg	tatggacaca	tgtagctaga	atatcttgct	tatctaatta	8880
tgtacattgt	tttgtgctaa	gagagagtaa	tgctctatag	cctgagctgg	cctcaacctt	8940
gccatcctcc	tgcctcagcc	tcctcctcct	gagtgtcagg	atgacaggcg	agtggtaact	9000
tacatggttt	catgttttgt	tcaagactga	aggataacat	tcatacagag	aaggtctggg	9060
tcacaaagtg	tgcagttcac	tgaatggcac	aaccctgat	caagaaacaa	aactcagggg	9120
ctggagagat	ggcactgact	gctcttccag	aggtccggag	ttcaattccc	agcaaccaca	9180
tgggtggctca	cagccatcta	taacgagatc	tgacgcctc	ttctggtgtg	tctgaagaca	9240
gctacagtgt	actcacataa	aataaataaa	tctttaaaac	acacacacac	acacaattac	9300
caccccagaa	agccactcc	atgttccctc	ccacgtctct	gcctacagta	ctcccaggtt	9360
accactgttc	aggcttctaa	caacctgggt	tacttggggc	tcttttctgc	tctgtggagc	9420
cacacatttg	tgtgcctcat	acacgttctt	tctagtaagt	tgcatattac	tctgctgttt	9480
tacatgtatt	tatttattgt	agttgtgtgt	gcgtgtgggc	ccatgcatgg	cacagtgtgt	9540
ggggatgtca	gagtattgtg	aacagggggac	agttcttttc	ttcaatcatg	tgggttccag	9600
aggttgaact	caggtcatca	tgtgtggcag	caaatgcctt	taccactga	gacatctcca	9660
tattcttttt	ttttccctcg	aggtggggggc	ttgtccata	gccccaaactg	gctttgcact	9720
tgcagttcaa	agtgactccc	tgtctccacc	tcttagagta	ttggaattac	gatgtgtact	9780
accacacctg	actggatcat	taattctttg	atgggggctg	ggaagcgcac	atgctgcagg	9840
tgaagggatg	actggactgg	acatgagcgt	ggaagccaga	gaacagcttc	agtctaattgc	9900
tctcccaact	gagctatttc	ggtttggccag	agaacaactt	acagaaagt	ctcagtgcca	9960
tgtggattcg	gggttggagt	tcaactcctc	agcttgacat	tggctcctct	accactgag	10020
ccttctcact	actctctacc	tagactatta	attctttttt	aaaaagactt	attagggggc	10080
tggagagatg	gctcagccgt	taagagcacc	gaatgcctct	ccagaggtcc	tgagttcaat	10140
tcccagcatg	ccattgctgg	gcagtagggg	gcgcaggtgt	tcaacgtgag	tagctgttgc	10200
cagttttccg	cggtggagaa	cctcttgaca	ccctgctgtc	cctggtcatt	ctgggtgggt	10260
gcatggatgat	atgcttgttg	tatggaagac	tttgactggt	acagtgaagt	tgggttcca	10320
cccttaccac	actctccctg	tttcttgacg	gccgggtgct	tgtccattgc	cgcgagggct	10380
acagccgctc	cccaacgcta	gttatgcct	acotcatgat	gcggcagaag	atggacgtca	10440
agtctgctct	gagtaactgt	aggcagaatc	gtgagatcgg	ccccaacgat	ggcttccctgg	10500
cccaactctg	ccagctcaat	gacagactag	ccaggagggg	caaggtgaaa	ctctaggggtg	10560
cccacagcct	cttttgcaga	ggtctgactg	ggagggccct	ggcagccatg	tttaggaaac	10620
acagatatac	cactccctgc	accaccagac	acgtgcccac	atctgtcca	ctctggctcct	10680
cggggggccac	tccaccctta	gggagcacat	gaagaagctc	cctaagaagt	tctgctcctt	10740
agccatcctt	tctgttaatt	tatgtctctc	cctgaggtga	ggttcaggtt	tatgtccctg	10800
tctgtggcat	agatacatct	cagtgacca	gggtgggagg	gctatcaggg	tgcattggcc	10860
gggacacggg	cactcttcat	gacccctccc	ccactgggt	tcttctgtg	tgggtccagaa	10920
ccacgcccct	ggtaaaggaa	ctatgcaaac	acaggccctg	acctcccac	gtctgttctt	10980
ggctctcaca	gcccgacaag	ccctgctgag	gcagacgaat	gacattaagt	tctgaagcag	11040
agtggagata	gattagtgc	tagatttcca	aaaagaagga	aaaaaaaggc	tgcattttaa	11100
aattatbtcc	ttagaattaa	agatactaca	tagggggcct	tgggtaagca	aatccatttt	11160
tcccagaggc	tatcttgatt	ctttggaatg	tttaaagtgt	gccttgccag	agagcttacg	11220
atctatctct	gctgcttcag	agccttccct	gaggatggct	ctgttctttt	gcttgttaga	11280
agagcgatgc	cttgggcagg	gtttcccct	ttcagaata	caggggtgaa	agtcagcct	11340
attacaaaca	aaacaaacaa	caacaaaca	aaggacctcc	atctggagaa	ttgcaaggat	11400
tttatcctga	attatagtgt	tgggtgagttc	aagtcatcac	gccaaagtct	tgccatcctg	11460
gttgctattc	taagaataat	taggaggagg	aacotagcca	atctgcagctc	atgtccgtgg	11520
gtgtgtgcac	gggtgcatat	gttggaaagg	gtgctgtctc	ccttggggac	agaaggaaaa	11580
tgaagggcc	ctctgctcac	cctggccatt	cagaaaggcc	tctgctggtt	ccaaggtgtc	11640
tgtgcaggat	cctgaaactg	actcgctgga	cagaaacgag	acttggcggc	accatgagaa	11700
tggagagaga	gagagcaaac	aaagaaacag	cctttaaag	aactttctaa	gggtgggtttt	11760
tgaacctcgc	tggaccttgt	atgtgtgcac	atctgcccaga	gattgaaat	aatcctcttg	11820
ggacttcacg	ttctcattat	ttgtatgtct	ccgggtcac	gcagagccgt	cagccaccac	11880

cccagcacc	ggcacatagg	cgtctcataa	aagcccattt	tatgagaacc	agagctgttt	11940
gagtaccccg	tgtatagaga	gagttgttgt	cgtggggcac	ccggatccca	gcagcctggt	12000
tgcctgctcg	taggatgtct	tacaggagtt	tgagagaaa	ccttccctgg	agggaaagaa	12060
atatcagggga	ttttgttga	atatttcaaa	ttcagcttta	agtgtaaagac	tcagcagtg	12120
tcattgggttaa	ggtaaggaac	atgccttttc	cagagctgct	gcaagaggca	ggagaagcag	12180
acctgtctta	ggatgtcact	cccagggtaa	agacctctga	tcacagcagg	agcagagctg	12240
tgcagcctgg	atggatcatg	tcccctattc	tgtgtgacca	cagcaaccct	ggtcacatag	12300
ggetggteat	cctttttttt	tttttttttt	tttttttttg	gcccagaatg	aagtgaccat	12360
agccaagttg	tgtacctcag	tcttttagttt	ccaagcggct	ctcttgetca	atacaatgtg	12420
catttcaaaa	taacactgta	gagttgacag	aactggttca	tgtgttatga	gagaggaaaa	12480
gagaggaag	aacaaaacaa	aacaaaacac	cacaaaacca	aaacatctgg	gctagccagg	12540
catgattgca	atgtctacag	gccagttca	tgcagggcag	agacaggaag	accgccgaaa	12600
ggtaacggat	agcatggctc	acgtatcgag	actccagcca	gggctacgg	cccaagatcc	12660
taggttttgg	attttgggct	ttggtttttg	agacaggggt	tctctgtgta	gcctgggctg	12720
tcctggaact	cgctctgtag	accaggctgg	cctcaaaact	agagatctgc	ctgactctgc	12780
ccttgagggc	tgggacgaat	gccaccactg	cccaactaag	attccattaa	aaaaaaaaaa	12840
agttcaagat	aattaagagt	tgccagctcg	ttaaagctaa	gtagaagcag	tctcaggcct	12900
gctgcttgag	gctgtctctg	gcttggacct	gaaatctgcc	cccaacagtg	tccaagtcca	12960
catgactttg	agccatctcc	agagaaggaa	gtgaaaattg	tggctcccca	gtcgatggg	13020
acacagttct	tctttgtcta	ggtaacacat	ggtgacacat	agcattgaac	tctccactct	13080
gaggggtgggt	ttccctcccc	ctgcctcttc	tgggttggct	accccatagg	acagccacag	13140
gacagttcact	agcacctact	ggaaacctct	ttgtgggaac	atgaagaaa	agccttggg	13200
agattccctgg	ccttccatta	gggctgaaag	tacaacgggt	cttgggtggc	tttgcctcgt	13260
gtttataaaa	ctagctacta	ttcttcaggt	aaaataccga	tgttgtggaa	aagccaacce	13320
cgtggctgcc	cgtagtagg	gggtgggggt	gggaatcctg	gatagtgttc	tatccatgga	13380
aagtgggtgga	ataggaatta	aggggtgttc	ccccccccc	aacctcttcc	tcagaccocag	13440
ccactttcta	tgacttataa	acatccaggt	aaaaattaca	aacataaaaa	tggtttctct	13500
tctcaatctt	ctaaagtctg	octgcctttt	ccagggtag	gtctgtttct	ttgctgttct	13560
attgtcttga	gagcacagac	taacacttac	caaagtgggg	aaactcttgg	ccatactaa	13620
gctcttctgg	gctccagcac	tcttaagtta	ttttaagaat	tctcacttgg	cctttagcac	13680
accgccacc	cccaagtggg	tgtggataat	gccatggcca	gcagggggca	ctgttgaggc	13740
gggtgccttt	ccaccttaag	ttgcttatag	tatttaagat	gctaaatgtt	ttaatcaaga	13800
gaagcactga	tcttataata	cgaggataag	agattttctc	acaggaattt	gtcttttca	13860
taattctttt	acaggtcttg	tctgatcgt	agcatagaga	gaatagctgg	atatttaact	13920
tgtattccat	ttcctctg	cagcgttagg	ttaactcogt	aaaaagtgat	tcagtggacc	13980
gaagaggctc	agagggcagg	ggatgggtgg	gtgaggcaga	gcactgtcac	ctgccaggca	14040
tgggaggtcc	tgccatccgg	gaggaaaagg	aaagttagc	ctctagtcta	ccaccagtgt	14100
taacgcactc	taaagtgtga	accaaaataa	atgtcttaca	ttacaagagc	gtctgttttg	14160
tgtttccttt	tgtgttttg	ggctttttat	gtgtgcttta	taactgctgt	gggtgtgctg	14220
ttgttagttt	tgaggtagga	tctcaggetg	gccttgaact	tctgatcgcc	tgcccctgcc	14280
cctgcccctg	ccctgtccc	tgccctcaag	tgctaggact	aaaagcacat	gccaccacac	14340
cagtacagca	tttttctaac	atttaaaaat	aatcacctag	gggctggaga	gaggggtcca	14400
gctaagagtg	cacactgctc	ttgggtagga	cctgagttta	gttcccagaa	cctatactgg	14460
gtggctccag	gtccagagga	tccaggacct	ctggcctcca	tgggcatctg	ctcttagcac	14520
ataccacat	acagatacac	acataaaaat	aaaatgaagc	ctttaaaaac	ctcctaaaac	14580
ctagcccttg	gaggtacgac	tctggaagc	tggcactactg	tgtaaagtcca	tctcatggtg	14640
ttctggctaa	cgtaagactt	acagagacag	aaaagaactc	aggggtgtgct	gggggttggg	14700
atggaggaag	agggatgagt	agggggagca	cggggaactt	gggcagtgaa	aattctttgc	14760
aggacactag	aggaggataa	ataccagtca	ttgcaccac	tactggacaa	ctccagggaa	14820
ttatgctggg	tgaagagaga	aggccccagg	tattggctgc	attggctgca	tttgcgtaac	14880
atttttttaa	attgaaaaga	aaaagatgta	aatcaagggt	agatgagtgg	ttgctgtgag	14940
ctgagagctg	gggtgagtga	gacatgtgga	caactccatc	aaaaagcgac	agaaaagacg	15000
ggctgtgggtg	acagctacct	ctaactctcca	cctccgggag	gtgatcaagg	ttagccctca	15060
gctagcctgt	ggtgcatgag	accctgtttc	aaaaacttta	ataaagaaat	aatgaaaaaa	15120
gacatcaggg	cagatccttg	gggccaaaagg	cggacagggc	agtctcgtgg	taaggtcgtg	15180
tagaagcggg	tgcattgagca	cgtgccgcag	gcatcatgag	agagccctag	gtaagttaag	15240
atggatgtga	gtgtgtcggc	gtcggcgcac	tgcacgtcct	ggctgtgggtg	ctggactggc	15300

atctttggtg	agctgtggag	gggaaatggg	tagggagatc	ataaaatccc	tccgaattat	15360
ttcaagaact	gtctattaca	attatctcaa	aatattaaaa	aaaaagaaga	attaaaaaac	15420
aaaaaaccta	tccaggtgtg	gtggtgtgca	cctatagcca	cgggcacttg	gaaagctgga	15480
gcaagaggat	ggcgagtttg	aaggtatctg	gggctgtaca	gcaagaccgt	cgtecccaaa	15540
ccaaaccaa	cagcaaaccc	attatgtcac	acaagagtgt	ttatagttag	cggcctcgct	15600
gagagcatgg	ggtgggggtg	ggggtggggg	acagaaatat	ctaaactgca	gtcaataggg	15660
atccactgag	accctggggc	ttgactgcag	cttaaccttg	ggaaatgata	agggttttgt	15720
gttgagttaa	agcatcgatt	actgacttaa	cctcaaatga	agaaaaagaa	aaaaagaaaa	15780
caacaaaagc	caaaccaagg	ggctggtgag	atggctcagt	gggtaagagc	acccgactgc	15840
tcttccgaag	gtccagagtt	caaatcccag	caaccacatg	gtggctcaca	accatctgta	15900
acgagatatg	atgccctctt	ctggtgtgtc	tgaagacagc	tacagtgtac	ttacatataa	15960
taaatataatc	ttaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaagccaaa	ccgagcaaac	caggccccca	16020
aacagaaggc	aggcacgacg	gcaggcacca	cgagccatcc	tgtgaaaagg	cagggtctacc	16080
catgggcccga	ggaggggtcca	gagagatagg	ctggtaagct	cagtttctct	gtataccctt	16140
tttcttggtg	acactacttc	aattacagat	aaaataacaa	ataaacaaaa	tctagagcct	16200
ggccactctc	tgtctcgctg	atttttctct	ttacgtccag	caggtggcgg	aagtgttcca	16260
aggacagatc	gcatcattaa	ggtggccagc	ataatctccc	atcagcaggt	ggtgctgtga	16320
gaaccattat	ggtgctcaca	gaatcccggg	cccaggagct	gccctctccc	aagtctggag	16380
caataggaag	gctttctggc	ccagacaggg	ttaacagtcc	acattccaga	gcaggggaaa	16440
aggagactgg	aggtcacaga	caaaaaggcc	agcttctaac	aacttcacag	ctctggtagg	16500
agagatagat	cacccccaac	aatggccaca	gctggttttg	tctgccccga	aggaaactga	16560
cttaggaagc	aggtatcaga	gtccccttcc	tgaggggact	tctgtctgcc	ttgtaaagct	16620
gtcagagcag	ctgcattgat	gtgtgggtga	cagaagatga	aaaggaggac	ccaggcagat	16680
cgccacagat	ggaccggcca	cttacaagtc	gaggcaggtg	gcagagcctt	gcagagcctc	16740
tgcaggtgga	cgacactgat	tcattaccca	gttagcatac	cacagcgggc	taggcggacc	16800
acagcctcct	tcccagtcct	cctccagggc	tggggagctc	tccaaccttc	tgtctcagtg	16860
cagcttccgc	cagccccctc	tccttttgca	cctcaggtgt	gaacctccc	tcctctcctt	16920
ctccctgtgg	catggccctc	ctgctactgc	aggctgagca	ttggatttct	ttgtgcttag	16980
atagacctga	gatggctttc	tgatttatat	atatatatcc	atcccttggg	tcttacatct	17040
aggaccocaga	gctgtttgtg	ataccataag	aggetgggga	gatgatatgg	taagagtgct	17100
tgctgtabaa	gcatgaagac	atgagttcga	atcccagca	accatgtgga	aaaataacct	17160
tctaacctca	gagttgaggg	gaaaggcagg	tggattctgg	gggcttactg	gccagctagc	17220
cagcctaacc	taaatgtctc	agt.cagagat	cctgtctcag	ggaataactt	gggagaatga	17280
ctgagaaaag	caoctectca	ggtctcccat	gcacccacac	agacacacgg	ggggggggta	17340
atgtaataag	ctaagaaata	atgagggaaa	tgattttttg	ctaagaaatg	aaattctgtg	17400
ttggccgcaa	gaagcctggc	cagggaaagg	actgoccttg	gcacaccagc	ctataagtca	17460
ccatgagttc	cctggcctaag	aatcacatgt	aatggagccc	aggtccctct	tgcctgggtg	17520
ttgcctctcc	cactggtttt	gaagagaaat	tcaagagaga	tctccttggt	cagaattgta	17580
ggtgctgagc	aatgtggagc	tggggccaat	gggattcctt	taaaggcatc	cttcccaggg	17640
ctgggtcata	cttcaatagt	aggggtgctg	cacagcaagc	gtgagaccct	aggttagagt	17700
cccagaatec	tgcccccaac	cccccaaaaa	ggcactcctc	tgctctggg	tgggtggggg	17760
gagcaaacac	ctttaactaa	gaccattagc	tggcaggggt	aacaaatgac	cttggctaga	17820
ggaatttggt	caagctggat	tccgccttct	gtagaagccc	cacttgtttc	ctttgttaag	17880
ctggcccaca	gtttgttttg	agaatgcctg	aggggccccag	ggagccagac	aattaaaagc	17940
caagctcatt	ttgatatctg	aaaaccacag	cctgactgcc	ctgcccgtgg	gaggtactgg	18000
gagagctggc	tgtgtccctg	cctcaccaac	gccccccccc	ccaacacaca	ctcctcgggt	18060
cacctgggag	gtgccagcag	caatttgga	gtttactgag	cttgagaagt	cttgggaggg	18120
ctgacgctaa	gcacacccct	tctccacccc	ccccacccc	accccctga	ggaggagggg	18180
gaggaaacat	gggaccagcc	ctgctccagc	ccgtccttat	tggctggcat	gaggcagagg	18240
gggctttaa	aaggcaaccg	tatctaggct	ggacactgga	gctgtgcta	ccgagtgcc	18300
tcctccacct	ggcagcatgc	agccctcact	agcccctgtc	ctcatctgcc	tacttgtgca	18360
cgctgccttc	tgtgctgtgg	agggccaggg	gtggcaagcc	ttcaggaatg	atgccacaga	18420
ggtcatccca	gggcttggag	agtaccccca	gctcctcct	gagaacaacc	agaccatgaa	18480
ccgggcccgg	aatggaggca	gacctcccca	ccatccctat	gacgccaag	gtacgggatg	18540
aagaagcaca	ttagtggggg	ggggggtcct	gggaggtgac	tggggtggtt	ttagcatcct	18600
cttcagaggt	ttgtgtgggt	ggctagcctc	tgctacatca	gggcagggac	acatttgctt	18660
ggaagaatac	tagcacagca	ttagaacctg	gagggcagca	ttggggggct	ggtagagagc	18720

aCCAaaggca	gggtggaggc	tgaggtcagc	cgaagctggc	attaacacgg	gcatgggctt	18780
gtatgatggt	ccagagaatc	tcctcctaag	gatgaggaca	caggtcagat	ctagctgctg	18840
accagtgggg	aagtgatatg	gtgaggctgg	atgccagatg	ccatccatgg	ctgtactata	18900
tcocacatga	ccaccacatg	aggtaaagaa	ggcccagct	tgaagatgga	gaaaccgaga	18960
ggctcctgag	ataaagtcac	ctgggagtaa	gaagagctga	gactggaagc	tggtttgatc	19020
cagatgcaag	gcaaccctag	attgggtttg	ggtgggaacc	tgaagccagg	aggaatccct	19080
ttagtcccc	cttgcccagg	gtctgctcaa	tgagcccaga	gggttagcat	taaaagaaca	19140
gggtttgtag	gtggcatgtg	acatgagggg	cagctgagtg	aaatgtcccc	tgtatgagca	19200
caggtggcac	cacttgcctt	gagctgcac	cctgacccca	gctttgcctc	atcctgagg	19260
acagcagaaa	ctgtggaggc	agagccagca	cagagagatg	cctggggtgg	gggtgggggt	19320
atcacgcacg	gaactagcag	caatgaatgg	ggtgggggtg	cagctggagg	gacactccag	19380
agaaatgacc	ttgctgggtc	ccatttgtgt	gggaggagag	ctcattttcc	agcttgccac	19440
cacatgctgt	ccctcctgtc	tcctagccag	taagggatgt	ggaggaaagg	gccaccccaa	19500
aggagcatgc	aatgcagtca	cgtttttgca	gaggaagtgc	ttgacctaa	ggcactatc	19560
ttggaaagcc	ccaaaactag	tccttcctcg	ggcaaacagg	cctccccac	ataccacctc	19620
tgcaaggggtg	agtaaattaa	gccagccaca	gaaggggtgg	aaggcctaca	cctccccct	19680
gttgtgcccc	ccccccccc	gtgaaggtgc	atcctggcct	ctgcccctct	ggctttggta	19740
ctgggatfff	ttttttcctt	ttatgtcata	ttgatcctga	cacctggaa	cttttggagg	19800
tagacaggac	ccacacatgg	attagttaa	agcctcccat	ccatctaage	tcatggtagg	19860
agatagagca	tgtccaagag	aggagggcag	gcatcagacc	tagaagatat	ggctgggcat	19920
ccaacccaat	ctccttcccc	ggagaacaga	ctetaagtca	gatccagcca	cccttgagta	19980
accagctcaa	ggtacacaga	acaagagagt	ctggtataca	gcaggtgcta	aacaaatgct	20040
tgtggtagca	aaagctatag	gttttgggtc	agaactccga	cccaagtccg	gagtggaagag	20100
cgaaaggccc	tctactcgcc	accgccccgc	ccccacctgg	ggtcctataa	cagatcactt	20160
tcaccttgc	gggagccaga	gagcctggc	atcctaggtg	gcccccccg	ccccccccc	20220
gcaagcagcc	cagccctgcc	tttggggoaa	gttcttttct	cagcctggac	ctgtgataat	20280
gagggggttg	gacgcgccgc	ctttgggtgc	tttcaagtct	aatgaattct	tatccctacc	20340
acctgccctt	ctaccccgt	cctccacagc	agctgtcctg	atftattacc	ttcaat taac	20400
ctccactcct	ttctccatct	cctgggatac	cgccccgtc	ccagtggctg	gtaaaggagc	20460
ttaggaagga	ccagagccag	gtgtggctag	aggctaccag	gcagggctgg	ggatgaggag	20520
ctaaactgga	agatgttttg	gttagtaggc	acaaagcctt	gggtggggtc	cctagtaccg	20580
gagaagtgga	gatgggcgct	gagaagttca	agaccatcca	tccttaacta	cacagccagt	20640
ttgaggccag	cctgggctac	ataaaaacc	aatctcaaaa	gctgccaatt	ctgattctgt	20700
gccacgtagt	gcccgatgta	atagtggatg	aagtcgttga	atcctggggc	aacctatfff	20760
acagatgtgg	ggaaaagcaa	ctttaagtac	cctgcccaca	gatcaciaag	aaagtaagtg	20820
acagagctcc	agtgtttcat	ccctgggttc	caaggacagg	gagagagaag	ccaggggggg	20880
atctcactgc	tccccgggtc	ctccttcta	taatccatac	agattcgaaa	gcgcagggca	20940
ggtttggaaa	aagagagaag	ggtggaagga	gcagaccagt	ctggcctagg	ctgcagcccc	21000
tcacgcatac	ctctctccgc	agatgtgtcc	gagtacagct	gccgcgagct	gcactacacc	21060
cgcttctctga	cagacggccc	atgcccagc	gccaagccgg	tcaccogagt	ggtgtgctcc	21120
ggccagtgcg	gccccgcgcg	gctgctgccc	aacgccatcg	ggcgcgtgaa	gtggtggcgc	21180
ccgaacggac	cggatftccg	ctgcatcccg	gatcgctacc	gcgcgacagc	gggtgcagctg	21240
ctgtgccccg	ggggcgcgcc	gcccgcctcg	cgcaaggtgc	gtctggtggc	ctcgtgcaag	21300
tgcaagcgcc	tcaccgcctt	ccaCaaccag	tcggagctca	aggacttcgg	gccggagacc	21360
gcgcgggcgc	agaaggggtc	caagccgcgg	cccggcgccc	ggggagccaa	agccaaccag	21420
gcgagctgg	agaacgccta	ctagagcgag	cccgcgcta	tgcaagcccc	gcgcgatccg	21480
attcgttttc	agtgtaaagc	ctgcagccca	ggccaggggt	gccaaaacttt	ccagaccgtg	21540
tgaggttccc	agcccagtag	agaccgcagg	tccttctgcc	cgctgcgggg	gatggggagg	21600
gggtgggggtt	cccgcgggcc	aggagaggaa	gcttgagtcc	cagactctgc	ctagccccgg	21660
gtgggatggg	ggtctttcta	ccctcgccgg	acctatacag	gacaaggcag	tgtttccacc	21720
ttaaagggaa	gggagtgtgg	aacgaaagac	ctgggactgg	ttatggacgt	acagtaagat	21780
ctactccttc	cacccaatg	taaagcctgc	gtgggctaga	tagggtttct	gaccctgacc	21840
tggccactga	gtgtgatgtt	gggtacgtg	gttctctttt	ggtacggtct	tctttgtaaa	21900
atagggaccg	gaactctgct	gagattccaa	ggattgggggt	accccggtga	gactggtgag	21960
agagaggaga	acaggggagg	ggttagggga	gagattgtgg	tgggcaaccg	cctagaagaa	22020
gctggttgtt	ggtcccagc	ctcgccgct	cagaggtttg	gcttccccca	ctccttctct	22080
tcaaatctgc	cttcaaatcc	atatctggga	tagggaaggc	caggtccga	gagatgggtg	22140

aagggccaga	aatcacactc	ctggccccc	gaagagcagt	gtcccgcgcc	caactgcectt	22200
gtcatattgt	aaagggattt	tctacacaac	aglttaagggt	cgttggagga	aactgggctt	22260
gccagtcacc	tcccatcctt	gtcccttgcc	aggacaccac	ctcctgcctg	ccaccacagg	22320
acacatttct	gtctagaaac	agagcgtcgt	cgtgctgtcc	tctgagacag	catatccttac	22380
attaaaaaga	ataatacggg	gggggggggg	ggagggcgca	agtgttatac	atatgctgag	22440
aagetgtcag	gcgccacagc	accaccacaca	atctttttgt	aaatcatttc	cagacacctc	22500
ttactttctg	tgtagatttt	aattgttaaa	aggggaggag	agagagcgtt	tgtaacagaa	22560
gcacattggag	gggggggtag	gggggttggg	gctgggtgag	ttggcgaact	ttccatgtga	22620
gactcatcca	caaagactga	aagccgcggt	ttttttttta	agagttcagt	gacatattta	22680
ttttctcatt	taagtatttt	atgccaacat	ttttttcttg	tagagaaagg	cagtgttaat	22740
atcgctttgt	gaagcacaag	tgtgtgtggt	tttttgtttt	ttgttttttc	cccgaccaga	22800
ggcattgtta	ataaagacaa	tgaatctcga	gcaggaggct	gtggtcctgt	tttgtcaacc	22860
acacacaatg	tctcgccact	gtcatctcac	tccttccctt	tggtcacaag	acccaaacct	22920
tgacaacacc	tccgactgct	ctctggtagc	ccttgtggca	atacgtgttt	cctttgaaaa	22980
gtcacattca	tccttctcct	tgcaaacctg	gctctcattc	cccagctggg	tcctcgtcat	23040
accctcaccc	cagcctccct	ttagctgacc	actctccaca	ctgtcttcca	aaagtgcacg	23100
tttccaccag	ccagttccct	ggtccaggtc	atcccattgc	tcctccttgc	tccagacctt	23160
tctcccacaa	agatgttcat	ctcccactcc	atcaagcccc	agtggccctg	gggctatccc	23220
tgtctcttca	gttagctgaa	tctacttgct	gacaccacat	gaattccttc	ccctgtotta	23280
aggttcatgg	aactcttgcc	tgcccctgaa	ccttccagga	ctgtcccagc	gtctgatgtg	23340
tcctctctct	tgtaaagccc	caccccacta	tttgattccc	aattctagat	cttcccttgt	23400
tcattccttc	acgggatagt	gtctcatctg	gccaaagtcc	gcttgatatt	gggataaatg	23460
caaagccaag	tacaattgag	gtccatttca	tcattggggc	aaagcttttc	aaaatgtgaa	23520
ttttacacct	atagaagtgt	aaaagccttc	caaagcagag	gcaatgcttg	gctcttccct	23580
caacatcagg	gctcctgctt	tatgggtctg	gtggggtagt	acattcataa	acccaacact	23640
aggggtgtga	aagcaagatg	atggggagtt	cgaggccaat	cttggctatg	aggccctgtc	23700
tcaacctctc	ctccctccct	ccagggtttt	gttttgtttt	gtttttttga	tttgaacctg	23760
caacacttta	aatccagtca	agtgcactct	tgctgagggg	gaactctatc	cctaataata	23820
gcttccatct	tgatttgtgt	atgtgcacac	tgggggttga	acctgggctt	ttgtaacctgc	23880
cgggcaagct	ctctactgct	ctaaaccag	ccctcactgg	ctttctgttt	caactcccaa	23940
tgaattcccc	taaatgaatt	atcaatatca	tgtctttgaa	aaataccatt	gagtgctgct	24000
ggtgtccctg	tggttccaga	ttccaggaag	gacttttcag	ggaatccagg	catcctgaag	24060
aatgtcttag	agcaggaggc	catggagacc	ttggccagcc	ccacaaggca	gtgtggtgca	24120
gaggggtgagg	atggaggcag	gcttgcaatt	gaagctgaga	cagggtactc	aggattaaaa	24180
agcttcccc	aaaacaattc	caagatcagt	tcctgggtact	tgcacctgtt	cagctatgca	24240
gagcccagtg	ggcatagggtg	aagacaccgg	ttgtactgtc	atgtactaac	tgtgcttcag	24300
agccggcgaga	gacaaataat	ggtatgggtga	ccccagggga	cagtgattcc	agaaggaaca	24360
cagaagagag	tgtgctaga	ggctgcctga	aggagaaggg	gtcccagact	ctctaagcaa	24420
agactccact	cacataaaga	cacaggctga	gcagagctgg	ccgtggatgc	agggagccca	24480
tccaccatcc	tttagcatgc	ccttgtattc	ccatcacatg	ccagggatga	ggggcatcag	24540
agagtccaag	tgatgccccaa	acccaaacac	acctaggact	tgctttctgg	gacagacaga	24600
tgcaggagag	actaggttgg	gctgtgatcc	cattaccaca	aagagggaaa	aaacaaaaaa	24660
caacaaaaca	aaacaaaaaa	aacaaaacaa	aaacaaaaaa	aaccaaggtt	ccaaattgta	24720
ggtcaggtta	gagtttattt	atggaaagtt	atattctacc	tccatggggt	ctacaaggct	24780
ggcgcccatc	agaaagaaca	aacaacaggc	tgatctggga	gggggtggtac	tctatggcag	24840
ggagcacgtg	tgcttgggggt	acagccagac	acggggcttg	tattaatcac	agggcttgta	24900
ttaataggct	gagagtcaag	cagacagaga	gacagaagga	aacacacaca	cacacacaca	24960
cacacacaca	cacacacaca	catgcacaca	ccactcactt	ctcactcgaa	gagcccctac	25020
ttacattcta	agaacaaacc	attcctcctc	ataaaggaga	caaagttgca	gaaaccctaa	25080
agagccacag	ggtccccact	ctctttgaaa	tgacttggac	ttgttgcagg	gaagacagag	25140
gggtctgcag	aggcttccctg	ggtgaccagg	agccacagac	actgaaatct	ggtgctgaga	25200
cctgtataaa	ccctcttcca	caggttccct	gaaaggagcc	cacattcccc	aacctgtctt	25260
cctgaccact	gaggatgaga	gcacttgggc	cttcccattt	cttggagtgc	acctgggttt	25320
ccccatctga	gggcacatga	ggctcaggtt	cttgggaaag	ttccacaagt	attgaaagtg	25380
ttcttgtttt	gtttgtgatt	taatttaggt	gtatgagtg	ttttgcttga	atatatgctt	25440
gtgtagcatt	tacaagcctg	gtgcctgagg	agatcagaag	atggcatcag	ataccctgga	25500
actggacttg	cagacagtta	tgagccactg	tgtgggtgct	aggaacagaa	cctggatcct	25560

ccggaagagc	agacagccag	cgctcttagc	cactaagcca	tcactgaggt	tctttctgtg	25620
gctaaagaga	caggagacaa	aggagagttt	cttttagtca	ataggacccat	gaatgttcct	25680
cgtaacgtga	gactagggca	gggtgatccc	ccagtgaacac	cgatggccct	gtgtagtatt	25740
tagcagctct	agtcttattc	cttaataagt	cccagtttgg	ggcaggagat	atgtattccc	25800
tgctttgaag	tggetgaggt	ccagttatct	acttccaagt	acttgtttct	ctttctggag	25860
ttggggaagc	tcctgctctg	cctgtaaagt	tgteccattct	tcaaccttag	acaagatcac	25920
tttcctgag	cagtcaggcc	agtccaaagc	ccttcaattt	agctttcata	aggaacaccc	25980
cttttgttgg	gtggaggtag	cacttgccct	gaatcccagc	attaagaagg	cagagacagt	26040
cggatctctg	tgagttcaca	gccagcctgg	totacggagt	gagttccaag	acagccaggc	26100
ctacacagag	aaacctgtc	tcgaaaaaaa	caaaaacaaa	agaaataaag	aaaaagaaaa	26160
caaaaacgaa	caaacagaaa	aacaagccag	agtgtttgtc	cccgtatttt	attaatcata	26220
tttttgtccc	tttgccatth	tagactaaaa	gactcgggaa	agcaggtctc	tctctgtttc	26280
tcatccggac	acaccagaa	ccagatgtat	ggaagatggc	taatgtgctg	cagttgcaca	26340
tctggggctg	ggtaggtgg	ttagatggca	tgggctgggt	gtggttacga	tgactgcagg	26400
agcaaggagt	atgtggtgca	tagcaaacga	ggaagtttgc	acagaacaac	actgtgtgta	26460
ctgatgtgca	ggtatgggca	catgcaagca	gaagccaagg	gacagcctta	gggtagtgtt	26520
teccacagacc	cctccccct	tttaacatgg	gcatctctca	ttggcctgga	gcttgccaac	26580
tgggctgggc	tggtagctt	gtaggtccca	gggatctgca	tatctctgcc	tccttagtgc	26640
tgggattaca	gtcatatag	agcacacctg	gcttttttat	gtgggttctg	ggctttgaac	26700
ccagatctga	gtgcttgcaa	ggcaatcggg	tgaatgactg	cttcatctcc	ccagaccctg	26760
ggattctact	ttctattaaa	gtatttctat	taaatcaatg	agccccctgcc	cctgcactca	26820
gcagttctta	ggcctgctga	gagtcaagtg	gggagtgaga	gcaagcctcg	agaccccatc	26880
agcgaagcag	aggacaaaaga	aatgaaaact	tgggattcga	ggctcgggat	atggagatag	26940
agaaagggtc	aggggaaggaa	atgaaccaga	tgaatagagg	caggaagggt	agggccctgc	27000
atacatggaa	cctgggtgtac	atgttatctg	catggggttt	gcattgcaat	ggctcttcag	27060
caggttcacc	acactgggaa	acagaagcca	aaaagaagag	taggtggtgt	tggagtcaag	27120
tactgtcagt	catgcctgaa	gaaatggaag	caattaacga	tgcccgcaaa	ttaggatatt	27180
agctccctga	agaaaggcaa	gaagctgggc	tgtgggcact	gaaggagct	ttgaatgatg	27240
tcacattctc	tgtatgecta	gcagggcagt	attggagact	gagacttgac	ttgtgtgtcc	27300
atatgatccc	tccttttct	acagtcatct	ggggctcctg	agcttcgtcc	ttgtccaaga	27360
acctggagct	ggcagtgggc	agctgcagtg	atagatgctt	gcaagaaaga	cttgaaaaga	27420
gggaggaaga	tgaaggacc	agaggaccac	cgacctctgc	tgcccgacaa	agctgcagga	27480
ccagtctctc	ctacagatgg	gagacagagg	cgagagatga	atggtcaggg	gaggagttag	27540
agaaaggaga	gggtgaggca	gagaccaaaag	gagggaaaca	cttgtgctct	acagctactg	27600
actgagtacc	agctgctgg	cagacagcca	atgccaaggc	tcggctgatc	atggcacctc	27660
gtgggactcc	tagcccagtg	ctggcagagg	ggagtgtgta	atggtgcatg	gtttggatat	27720
gatctgaatg	tggccagcc	ctagtctct	tccagttgct	gggataaagc	acctgacca	27780
aagctacttt	ttgtttgtt	tgttttgggt	tggttttgtt	tggttttctg	aggcagggtt	27840
tctctgtatc	accctagctg	tcttggaaact	oactctgtag	accaggctgg	cctcgaactc	27900
agaaateccc	ctgcctctgc	ctcctaagtg	ctggaattaa	aggcctgcgc	caccactgcc	27960
ggcccaaagc	tactttaaga	gagagagagg	aatgtataag	tattaraatt	ccaggttata	28020
gttcattgct	gtagaattgg	agtcttcata	tccaggttaa	tctcccacag	acatgccaca	28080
aaacaacctg	ttctacgaaa	tctctcatgg	actcccttcc	ccagtaattc	taaaactgtg	28140
caaatctaca	agaaatagtg	acagtcaacg	tctctaactg	tttgggcatg	agtctgaagt	28200
ctcattgcta	agtactggga	agatgaaaac	tttacctagt	gtcagcattt	ggagcagagc	28260
ctttgggatt	tgagatggtc	ttttgcagag	ctcctaattg	ctacatggag	agagggggcc	28320
tgggagagac	ccatacacct	tttgctgccc	tatgtcacct	gacctgctcc	ttgggaagct	28380
ctagcaagaa	ggccttcct	ggatcaccca	ccaccttgca	cctccagaac	ctcagagcaa	28440
attaaccttt	cttgttactg	tcgtcaaagc	acagtcggtc	tgggttgtat	cactgtcaat	28500
gggaaacaga	cttgccctgga	tggataactt	gtacattgca	taatgtctag	aaatgaaaag	28560
tcctatagag	aaaaagaaaa	ttagctggca	cacagataga	ggccctggag	gaggctggct	28620
ttgtcctccc	cgaggaggtg	gcgagtaagg	tgtaaatgtt	catggatgta	aatgggcca	28680
tatatgaggg	tctggggtaa	caagaaggcc	tgtgaatata	aagcactgaa	ggtatgtcta	28740
gtctggagaa	ggtcactaca	gagagtctc	caactcagtg	cccatacaca	cacacacaca	28800
cacacacaca	cacacacaca	cacacacaca	ccacaaagaa	aaaaaggaag	aaaaatctga	28860
gagcaagtac	agtacttaaa	attgtgtgat	tgtgtgtgtg	actctgatgt	cacatgctca	28920
tcttgcccta	tgagttgaaa	accaaattggc	ccctgagagg	cataacaacc	acactgttgg	28980

ctgtgtgctc	acgtttttct	taaagcgtct	gtctggtttg	ctgctagcat	caggcagact	29040
tgcagcagac	tacatatgct	cagccctgaa	gtccctctag	gggtgcatgtc	tcttcagaat	29100
ttcagaaagt	catctgtggc	tccaggaccg	cctgcactct	ccctctgccc	cgaggetgca	29160
gactctaggc	tgggggtgaa	gcaacgccta	cctctgggac	aagtataaca	tgttggcttt	29220
tctttccctc	tgtggctcca	acctggacat	aaaatagatg	caagctgtgt	aatataatatt	29280
tcctcccgtc	cacttagttc	tcaacaataa	ctactctgag	agcacttatt	aataggtggc	29340
ttagacataa	gctttggctc	attccccac	tagctcttac	ttctttaact	ctttcaaacc	29400
attctgtgtc	ttccacatgg	ttagttacct	ctccttccat	cctggttcgc	ttcttccctc	29460
gagtcgccct	cagtgtctct	aggatgatgct	tgtaagatat	tctttctaca	aagetgagag	29520
tgggtggcact	ctggggagttc	aaagccagcc	tgatctacac	agcaagctcc	aggatatcca	29580
gggcaatggt	gggaaaacct	ttctcaaaca	aaaagagggg	ttcagttgtc	aggaggagac	29640
ccatgggtta	agaagtctag	acgagccatg	gtgatgcata	cctttcatcc	aagcacttag	29700
gaggcaaga	aaggtgaaac	tctttgactt	tgaggccagc	ctgttatcat	agtgatcccc	29760
tgetttagtgt	gtgtgtgtgt	gtgtgtgtgt	gtgtgtgtgt	gtgtgtaatt	taaaagtcta	29820
aaaatgcatt	cttttaaaaa	tatgtataag	tatttgctctg	cacatatgta	tgtatgtatg	29880
tataccatgt	gtgtgtctgg	tgctgaagga	ctaggcatag	actccctaga	actagagtca	29940
tagacatgt	tgacactccc	caacccccca	ccatgtgggt	gcttgaagct	aaactcctgt	30000
ectttgtaaa	ccagcaggtg	tctatgaacc	ctgaaccatc	tctccagtct	ccagatgtgc	30060
attctcaaag	aggagtccct	catatttccc	taaactgaac	atccttatca	gtgagcatcc	30120
tcgagtcacc	aaagctactg	caaaccctct	tagggaacat	tcactattca	cttctacttg	30180
gctcatgaaa	cttaagtaca	cacacacaaa	cacacacaca	cacacagagt	catgcactca	30240
caaaagcatg	catgtacacc	attcttatta	gactatgctt	tgctaaaaga	ctttcctaga	30300
tactttaaaa	catcaettct	gccttttggg	ggcaggttcc	caagattggg	actggcgtac	30360
tggaaactga	acaaggtaga	gatctagaaa	tcacagcagg	tcagaagggc	cagcctgtac	30420
aagagagagt	tccacacctt	ccaggaacac	tgagcagggg	gctgggacct	tgctctcag	30480
cccaagaaac	tagtgcgttt	cctgtatgca	tgctctcag	agattccata	agatctgcct	30540
tctgccataa	gatctcctgc	atccagacaa	gcttagggga	agttgagagg	ctgcctgagt	30600
ctctcccaca	ggccccctct	tgccctggcag	tattttttaa	tctggaggag	aggaatcagg	30660
gtgggaatga	tcaaatacaa	ttatcaagga	aaaagtataa	aacatatata	tatatatatt	30720
aactgatcta	gggagctggc	tcagcagtta	agagttctgg	ctgcccttgc	ttcagatcct	30780
gctttgattc	ccagcaccca	catgatggct	ttcaactgta	tctctgcttc	caggggatcc	30840
aacagcctct	tctgacctcc	atagacaaga	cctagtcctc	tgcaagagca	ccaaatgctc	30900
ttatctgttg	atccatctct	ctgcccctat	gccagatcat	ttaaaactac	tggaactgtt	30960
cccattttac	gaagatgtca	ctgcccctat	atttgccatg	agtggatatt	tcgattcttt	31020
ctatgttctc	acccttgcaa	tttataagaa	agatatctgc	atgtgtctcc	tgagagaaca	31080
aaggggtggag	ggctactgag	atggctctag	gggtaaaggt	gcttgccaca	aaatctgaca	31140
acttaagttt	ggtcttggaa	tccacatggt	ggagagagag	aagagattcc	cgtaaagttgt	31200
cctcaaaact	cccacacatg	tgctgtggct	tatgtgtaac	cccataaagt	aaagatagtt	31260
ttaaacacta	cataaggtag	ggtttcttca	tgaccccaag	gaatgatgcc	cctgatagag	31320
cttatgctga	aaacctatct	ccattgtgcc	atctggaaaag	agacaattgc	atccccgaaa	31380
cagaatcttc	atgaatggat	taatgagcta	ttaaagaaagt	ggcttgggta	ttgcacatgc	31440
tggcgggcgt	atgacctcca	ccatgatggt	atccagcatg	aaggtcctca	ccagaagtca	31500
tacaaatctt	cttaggcttc	cagagtctgt	agcaaaaaaa	gcacacctct	aaataaatta	31560
actagcctca	ggtagttaac	caccgaaaat	gaaccaaggc	agttctaata	caaaaccact	31620
tccttccct	gttcaaacca	cagtgcctca	ttatctaaaa	gataaacttc	aagccaagct	31680
tttaggttgc	cagtatttat	gtaacaacaa	ggcccgttga	cacacatctg	taactcctag	31740
tactgggct	caggggcaga	gacaggtgga	gccctggagt	ttgaattcca	ggttctgtga	31800
gaaactctgt	ctgaaaagac	aatatggtga	gtgacccggg	aggatatctg	atattgactt	31860
ctggccaaca	cacagccatc	tctgcacatc	tgtagttgca	agccttttgc	actaagtttg	31920
gcagagtgca	gagtttgcaa	gtgtttgtgg	actgaatgca	cgtgttgcgt	gtgatctaca	31980
aagtcaacct	ccttctcaag	ctagcagcac	tggcttcggc	cagctgctca	ttcaagcctc	32040
tttgcagagt	catcacgggg	atgggggagc	agggccccctc	cctagaacac	caagcctgtg	32100
gttgtttatt	caggacatta	ttgagggcca	agatgacaga	taactctatc	acttggccaa	32160
cagtgggtg	ttgcgggtgt	aggttatttc	tgtgtctgca	gaaaacagtg	caacctggac	32220
aaaaggaaata	aatgatatca	ttttcattc	aggcaactag	attccgtggg	acaaaaggct	32280
ccctggggaa	cgaggccggg	acagcgcggc	tctgagtcg	ctatttccgt	ctgtcaactt	32340
ctctaactctc	ttgatttccct	ccctctgtct	gtttccctcc	tcttgcctgg	gccagtgga	32400

gtctgtgtac	tcacagggag	gaggggtggca	aagccctggg	cctctacggg	ctggggggaag	32460
ggggggaagct	gtcggcccag	tgactttttc	ccctttctct	ttttcttaga	aaccagctctc	32520
aatttaagat	aatgagtcct	ctcattccag	tgctgtcact	attcataggg	acttatccac	32580
ccccgccctg	tcaatctggc	taagtaagac	aagtcaaat	taaaagggaa	cgtttttcta	32640
aaaatgtggc	tggaaccgtg	gcccggcacga	aaccagggat	ggcggctctaa	gttacatgct	32700
ctctgccagc	cccggtgcct	tttctttctg	gaaaggagac	ccggaggtaa	aacgaagtgt	32760
ccaacttttg	atgatggtgt	gcgcccgggtg	actctttaa	atgtcatcca	tacctgggat	32820
aggggaaggct	cttcagggag	tcctctagcc	ctccctcag	gaaaagattc	cacttccggg	32880
ttagtttagct	tccacctggg	cccttatccg	ctgtctctgc	ccactagtcc	tcattccatcc	32940
ggtttccgce	ctcatccacc	ttgccctttt	agttcctaga	aagcagcacc	gtagtcttgg	33000
caggtggggc	attggctcact	ccgctaccac	tgttaccatg	gccaccaagg	tgctatttaa	33060
atatgagctc	actgagtcct	gcgggatggc	ttggttggta	atatgcttgc	tgcaaaatcg	33120
tgagaactgg	agttcaattc	ccagcacatg	gatgtatttc	cagcacctgg	aaggcagggg	33180
gcagagatct	taaaagtcct	ggccagacag	cccagcctaa	ttagtaatca	gtgagagacc	33240
ctgtctcaag	aaacaagatg	gaacatcaaa	ggtaaacctc	ttgtctccac	acacacaaat	33300
acacacatgc	acatacatcc	acacacaggc	aaacacatgc	acacacctga	acacctcca	33360
caaatacata	cataaaaaaa	taaatacata	cacacataga	tacataacc	aacattccct	33420
ctccttagtc	tccctggctac	gctcttgtca	ccccactaa	ggcttcaact	tcttctattt	33480
ctteatcttg	actcctctgt	actttgcatg	ccttttccag	caaaggcttt	tctttaaact	33540
tccgtcattc	ataaaactccc	tctaaatttc	ttcccctgce	cttttcttct	tctctagggg	33600
gataaagaca	caactacaa	agtcaacctg	ggcaccgttt	attcacccac	ccacctctgc	33660
ttctgttcat	ccggccagct	aagtagtcca	acctctctgg	tgctgtacc	tggacctgg	33720
cttcaccaca	gctcctccat	gctaccagc	cctgcaaac	ttcagcctag	cctctggttc	33780
tccaaccagc	acaggcccag	tctggcttct	atgtcctaga	aatctcctc	attctctcca	33840
tttccctcct	gaatctacca	ccttctttct	cccttctcct	gacctctaat	gtcttgggtca	33900
aacgattaca	aggaagccaa	tgaaattagc	agtttggggg	acctcagagt	cagcagggga	33960
gctgggatga	attcacattt	ccaggccttt	gctttgctcc	ccggattctg	acaggcagtt	34020
ccgaagctga	gtccaggaag	ctgaatttaa	aatcacactc	cagctgggtt	ctgaggcagc	34080
cctaccacat	cagctggccc	tgactgagct	gtgtctgggt	ggcagtggtg	ctgggtggtg	34140
tggtgggtgct	ggtgggtggtg	tggtgggtg	tggtgggtg	gggtgggtg	tggtggtg	34200
ttttctgctt	ttacaaaact	tttctaattc	ttatacaaa	gacaaatctg	cctcatatag	34260
gcagaaagat	gacttatgcc	tataaagat	ataaagatga	ctttatgcca	cttattagca	34320
atagttactg	tcaaaagtaa	ttctatttat	acaccttat	acatggtatt	gcttttgttg	34380
gagactctaa	aatccagatt	atgtatttaa	aaaaaaattc	cccagtcctt	aaaagggtgaa	34440
gaatggacc	agatagaagg	tcacggcaca	agtalggagt	cggagtgtgg	agtcctgcca	34500
atggtctgga	cagaagcctc	cagagagggg	ccaagacaaa	tgctcgct	cctaaggaac	34560
actggcagcc	ctgatgaggt	accagagatt	gctaagtgga	ggaatacagg	atcagaccca	34620
tggaggggct	taaagcgtga	ctgtagcagc	cctccgctga	ggggctccag	gtgggccc	34680
aagggtgctg	agtgggagcc	acatgagagg	tgatgtcttg	gagtcacctc	gggtaccatt	34740
gttttagggg	gtggggattt	gtgggtgga	gacaggcagc	ctcaaggatg	cttttcaaca	34800
atggttgatg	agttggaact	aaaacagggg	ccatcacact	ggctccata	gctctgggct	34860
tgccagcttc	cacatctgcc	ccccaccccc	tgtctggcac	cagctcaagc	tctgtgattc	34920
tacacatcca	aaagaggaag	agtagcctac	tgggcatgcc	acctcttctg	gaccatcagg	34980
tgagagtgtg	gcaagcccta	ggctcctgtc	caggatgcag	ggctgccaga	taggatgtct	35040
agctatctcc	tgagctggaa	ctattttagg	aataaggatt	atgcccgcc	ggggttggcc	35100
agcacccccag	cagcctgtgc	ttgcgtaaaa	gcaagtgtctg	ttgatttatc	taaaaaacaga	35160
gcccgtggacc	cacccacagg	acaagtatgt	atgcatctgt	ttcatgtatc	tgaaaagcga	35220
cacaaccatt	tttcacatca	tggcatcttc	ctaaacccca	ttcttttttg	ttttgttttt	35280
ttgagacagg	gtttctctgt	gtagtcctgg	ctgtcctgga	actcactttg	tagaccaggc	35340
tggcctcgaa	ctcagaaatc	ctgggattaa	aggtgtgtgc	caccacgccc	ggccttaacc	35400
ccattcttta	atggtgatcc	agtggttgaa	atttcggggc	acacacatgt	ccattagggg	35460
ttagctgctg	tcttctgagc	tacctggtac	aatctttate	ccctggggcc	tgggctcctg	35520
atccctgact	cgggcccgat	caagtcagat	tctgggccc	gatcaagtcc	agttcctggg	35580
cccgaacaag	tccagtcctt	agctcgatta	gctcactctg	gctccctggc	ctgttcttac	35640
ttacactctt	cccttgtctc	tggacttgtt	gctttcttta	ctcaagttgt	ctgccacagt	35700
ccctaagcca	cctctgtaag	acaactaaga	taatacttcc	ctcaagcagc	gaaagtcctg	35760
agtcaccaca	ccctctggag	gtgtgtggac	acatggtcat	gcgtgtgggt	gcgcttacgt	35820

acgtgtgc 35828

- <210> 18
- <211> 9301
- <212> ADN
- <213> Homo sapiens

5

<400> 18

ttagaggagaa	gtctttgggg	agggtttgct	ctgagcacac	ccctttccct	ccctccgggg	60
ctgagggaaa	catgggacca	gccctgcccc	agcctgtcct	cattggctgg	catgaagcag	120
agaggggctt	taaaaaggcg	accgtgtctc	ggctggagac	cagagcctgt	gctactggaa	180
ggtagggctg	cctcctctgg	ctgggtaccat	gcagctccca	ctggccctgt	gtctcgtctg	240
cctgctgcta	cacacagcct	tccgtgtagt	ggagggccag	gggtggcagg	cgttcaagaa	300
tgatgccacg	gaaatcatcc	ccgagctcgg	agagtacccc	gagcctccac	cggagctgga	360
gaacaacaag	accatgaacc	gggcggagaa	cggagggcgg	cctccccacc	acccctttga	420
gaccaaaggt	atggggtgga	ggagagaatt	cttagtaaaa	gatcctgggg	aggttttaga	480
aacttctctt	tgggaggctt	ggaagactgg	ggtagaccca	gtgaagattg	ctggcctctg	540
ccagcactgg	tccaggaaca	gtcttgccctg	gaggtggggg	aagaatggct	cgctggtgca	600
gccttcaaat	tcaggtgcag	agggcatgagg	caacagacgc	tggtagagagc	ccagggcagg	660
gaggacgctg	gggtgggtgag	ggtagggcat	cagggcatca	gaacaggctc	aggggctcag	720
aaaagaaaag	gtttcaaaga	atctcctcct	gggaatatag	gagccacgtc	cagctgctgg	780
taccactggg	aagggaaaca	ggt aaggag	cctcccattc	acagaacagc	acctgtgggg	840
caccggacac	tctatgctgg	tggtagctgt	ccccaccaca	cagaccaca	tcatggaatc	900
cccaggagggt	gaaccocccag	ctcgaagggg	aagaaacagg	ttccaggcac	tcagtaactt	960
ggtagtgaga	agagctgagg	tgtgaacctg	gtttgatcca	actgcaagat	agccctgggtg	1020
tgtggggggg	tgtgggggac	agatctccac	aaagcagtg	ggaggaaggc	cagagaggca	1080
cccctgcagt	gtgcattgcc	catggcctgc	ccagggagct	ggcacttgaa	ggaatgggag	1140
ttttcggcac	agttttagcc	cctgacatgg	gtgcagctga	gtccaggccc	tggagggggag	1200
agcagcatcc	tctgtgcagg	agtagggaca	tctgtcctca	gcagecacc	cagtcccac	1260
cttgccat	tcagggggag	ggagaaggaa	gaggaacct	gggttctgg	tcaggcctgc	1320
acagagaagc	ccaggtgaca	gtgtgcatct	ggctcataaa	ttggcaggaa	tcctgaggcc	1380
atggggcggt	ctgaaatgac	acttcagact	aagagcttcc	ctgtcctctg	gccattatcc	1440
aggtagcaga	gaagtccact	gcccaggctc	ctggacccca	gccctcccog	cctcacaacc	1500
tgttgggact	atgggggtgct	aaaaagggca	actgcatggg	aggccagcca	ggaccctccg	1560
tcttcaaaat	ggaggacaag	gggcctccc	cccacagctc	cccttctagg	caaggtcagc	1620
tgggtcccag	cgactgcctg	aagggtgta	aggaacccaa	acacaaaatg	tcacacctgc	1680
tggactccca	cgagaggcca	cagcccctga	ggaagccaca	tgctcaaaa	aaagtcatga	1740
tctgcagagg	aagtgcctgg	cctagggcg	ctattctcga	aaagccgcaa	aatgccccct	1800
tccttgggca	aatgcccccc	tgaccacaca	cacattccag	ccctgcagag	gtgaggatgc	1860
aaaccagccc	acagaccaga	aagcagcccc	agacgatggc	agtggccaca	tctcccctgc	1920
gtgcccagca	gagagccagg	gggggtgggg	gtggccttct	ctgtcccctc	tctgggttgg	1980
tcttaagact	attttccatt	ctttcttgtc	acattggaac	tatccccatg	aaaccttgg	2040
gggtggactg	gtactcacac	gacgaccagc	tatttaaaaa	gctcccacc	atctaagtcc	2100
accataggag	acatgggtcaa	gggtgtgca	ggggatcagg	ccaggcctcg	gagcccfaat	2160
tctgcctgcc	cagggagtat	caccatgagg	cgcccattca	gataacacag	aacaagaaat	2220
gtgcccagca	gagagccagg	tcaatgttg	tggcagctga	acctgtagg	tttgggtcag	2280
agctcagggc	ccctatggta	ggaaagtaac	gacagtaaaa	agcagccctc	agctccatcc	2340
cccagcccag	cctcccatgg	atgctcgaac	gcagagcctc	cactcttgcc	ggagccaaaa	2400
gggtctggga	ccccagggaa	gtggagtcgg	gagatgcagc	ccagccttt	gggcaagtte	2460
ttttctctgg	ctgggcctca	gtattctcat	tgataatgag	ggggttggac	acactgcctt	2520
tgattccttt	caagtctaata	gaattcctgt	cctgatcacc	tcccctcag	tcctcgcct	2580
ccacagcagc	tgccctgatt	tattaccttc	aattaacctc	tactccttc	tcocatccct	2640
gtccaccctt	cccaagtggc	tggaaaagga	atgtgggaga	agccagagcc	aggcagaagg	2700
tgtgctgagt	acttaccctg	cccagggcag	ggaccctgog	gcacaagtgt	ggcttaaate	2760
ataagaagac	cccagaagag	aatgataat	aataatacat	aacagccgac	gctttcagct	2820
atatgtgcca	aatggatatt	tctgcattgc	gtgtgtaatg	gattaactcg	caatgcttgg	2880
ggcggcccat	tttgcgaca	ggaagaagag	agaggttaag	gaacttgccc	aagatgacac	2940

ctgcagtgag	cgatggagcc	ctgggtggtt	aaccccagca	gtcatttggc	tccgagggga	3000
caggytgcc	aggagagctt	tccaccagct	ctagagcatc	tgggacctc	ctgcaataga	3060
tgttcagggg	caaaagcctc	tggagacagg	cttggcaaaa	gcagggctgg	ggtggagaga	3120
gacgggccc	tccagggcag	gggtggccag	gcgggcgcc	accctcacgc	gcgctctct	3180
ccacagaogt	gtccgagtac	agctgccgcg	agctgcactt	cacccgctac	gtgaccgatg	3240
ggcogtgccg	cagcgcacaag	ccggtcaccg	agetggtgtg	ctccggccag	tgcggcccgg	3300
cgcgcctgct	gccccaacgc	atcggccgcg	gcaagtgggtg	gcgacctagt	gggcccgaact	3360
tccgctgcat	ccccgaccgc	taccgcgcgc	agegcgtgca	gctgctgtgt	cccggtggtg	3420
aggcgcccgcg	cgcgcgcaag	gtgcgcctgg	tggcctcgtg	caagtgoaag	cgcctcacce	3480
gcttccacaa	ccagtgggag	ctcaaggact	tggggaccga	ggccgctcgg	ccgcagaagg	3540
gccggaagcc	gcgccccccg	gcccggagcg	ccaaagccaa	ccaggccgag	ctggagaaccg	3600
cctactagag	cccgcocgcg	cccctcccca	ccggcgggctt	cccggccctt	gaacccgcgc	3660
cccacatttc	tgtcctctgc	gcggtggttg	attgtttata	tttcatttga	aatgcctgca	3720
accaggggca	gggggctgag	accttccagg	ccctgaggaa	tcccgggcgc	cggcaaggcc	3780
cccctcagcc	cgcagctga	ggggtcccac	ggggcagggg	agggaaatga	gagtcacaga	3840
cactgagcca	cgcagccccg	cctctggggc	cgcctacctt	tgctggtccc	acttcagagg	3900
aggcagaaat	ggaagcattt	tcaccgcctt	ggggttttaa	gggagcggtg	tgggagtggtg	3960
aaagtccagg	gactggttaa	gaaagttgga	taagattccc	ccttgcacct	cgctgcccct	4020
cagaaagcct	gagggcgtgc	cagagcacia	gactgggggc	aactgtagat	gtggtttcta	4080
gtcctggctc	tgccactaac	ttgctgtgta	accttgaact	acacaattct	ccttcgggac	4140
ctcaatttcc	actttgtaaa	atgaggggtg	aggtgggaat	aggatctcga	ggagactatt	4200
ggcatatgat	tccaaggact	ccagtgcctt	ttgaatgggc	agaggtgaga	gagagagaga	4260
gaaagagaga	gaatgaatgc	agtgcattg	attcagtgcc	aaggtcactt	ccagaattca	4320
gagtgtgat	gctctcttct	gacagccaaa	gatgaaaaac	aaacagaaaa	aaaaaagtaa	4380
agagtctatt	tatggctgac	atatttacgg	ctgacaaact	cctggaagaa	gctatgctgc	4440
tcccagcct	ggcttccccg	gatggttggc	tacctccacc	cctccatctc	aaagaaataa	4500
catcatccat	tggggtagaa	aaggagaggg	tccgaggggtg	gtgggagggg	tagaaatcac	4560
atccgcccc	acttcccaaa	gagcagcatc	cctccccga	cccatagcca	tgttttaag	4620
tcaccttccg	aagagaagtg	aaaggttcaa	ggacatggc	cttgcagggc	cgagggagca	4680
gccatcacaa	actcacagac	cagcacatcc	cttttgagac	accgccttct	gccaccact	4740
cacggacaca	tttctgcta	gaaaacagct	tcttactgct	cttacatgtg	atggcatatc	4800
ttacactaaa	agaatattat	tgggggaaaa	actacaagtg	ctgtacatat	gctgagaaac	4860
tgcagagcat	aatagctgcc	acccaaaaat	cttttgaaa	atcatttcca	gacaacctct	4920
tactttctgt	gtagttttta	attgttaaaa	aaaaaaagt	ttaaacagaa	gcacatgaca	4980
tatgaaagcc	tgcaggactg	gtcgtttttt	tggcaattct	tcacgtggg	acttgtccac	5040
aagaatgaaa	gtagtggttt	ttaaagagtt	aagtacata	tttatttct	cacttaagtt	5100
atztatgcaa	aagttttct	tgtagagaat	gacaatgta	atattgcttt	atgaattaac	5160
agtctgttct	tccagagtec	agagacattg	ttaataaaga	caatgaatca	tgaccgaaag	5220
gatgtggctc	cattttgtca	accacacatg	acgtcatttc	tgtcaaagtt	gacacccttc	5280
tcttggctcac	tagagctcca	accttggaca	caccttgac	tgctctctgg	tggcccttgt	5340
ggcaattatg	tcttcccttg	aaaagtcatg	tttatccctt	cctttccaaa	cccagaccgc	5400
atcttctcac	ccagggcatg	gtaataacct	cagccttcta	tcttttagc	agcctcccct	5460
ccatgctggc	ttccaaaatg	ctgtttctcat	tgtatcactc	ccctgctcaa	aagccttcca	5520
tagctccc	ttgccagga	tcaagtgcag	tttccctatc	tgacatggga	ggccttctct	5580
gcttgactcc	cacctcccac	tccaccaagc	ttcctactga	ctccaaatgg	tcatgcagat	5640
cctgcttcc	ttagtttgcc	atccacactt	agcaccacca	ataactaatc	ctctttcttt	5700
aggattcaca	ttacttgtea	tctcttccc	taaccttcca	gagatgttcc	aatctcccct	5760
gatccctctc	tcctctgagg	ttccagcccc	ttttgtctac	accactactt	tggttccctaa	5820
ttctgttttc	catttgacag	tcattcatgg	aggaccagcc	tggccaagtc	ctgcttagta	5880
ctggcataga	caacacaaaag	ccaagtaaaa	ttcaggacca	gctcacagga	aacttcatct	5940
tcttcgaagt	gtggatttga	tgcctcctgg	gtagaaatgt	aggatcttca	aaagtgggccc	6000
agcctcctgc	acttctctca	aagtctcgcc	tccccagggt	gtcttaatga	tgctggatgc	6060
tagctgagtt	agcatcttca	gatgaagagt	aaccctaaag	ttactcttca	gttgccctaa	6120
gggtgggatgg	tcaactggaa	agctttaaata	taagtccagc	ctacctggg	ggaaccacc	6180
cccacaaaga	aagctgaggt	ccctcctgat	gacttgtcag	tttaactacc	aataaaccac	6240
ttgaattaat	catcatcctc	aagtctttga	taggtgtgag	tgggtatcag	tggccggctcc	6300
cttctctggg	ctccagcccc	cgaggaggcc	tcagtgcacc	cctgcagaaa	atccatgcat	6360

catgagtgtc	tcagggccca	gaatatgaga	gcaggtagga	aacagagaca	tcttccatcc	6420
ctgagaggca	gtgoggtcca	gtgggtgggg	acacgggctc	tgggtcaggt	ttgtgtgtgt	6480
tgtttgttg	ttttgagaca	gagctcctct	ctattgccc	ggctggagtg	cagtgtcaca	6540
atctcggtt	actgcaactt	ctgccttccc	ggattcaagt	gattctcctg	cctcagcctc	6600
cagagtagct	gggattacag	gtgctgcca	ccacgcctgg	ctaatttttg	tatttttgat	6660
agagacgggg	tttcaccatg	ttggccaggc	tagtctcgaa	ctcttgacct	caagtgatct	6720
gcctgcctcg	gcctcccaaa	gtgctgggat	tacaggcgtg	agccaccaca	cccagcccca	6780
ggttggtggt	tgaatctgag	gagactgaag	caccaagggg	ttaaagtgtt	tgcccacagc	6840
catacttggg	ctcagttcct	tgccctaccc	ctcacttgag	ctgcttagaa	cctggtgggc	6900
acatgggcaa	taaccaggtc	acactgtttt	gtaccaagtg	ttatgggaat	ccaagatagg	6960
agtaatttgc	tctgtggagg	ggatgaggga	tagtggtag	ggaaagcttc	acaaagtggg	7020
tgttgcttag	agattttcca	ggtggagaag	ggggcttcta	ggcagaaggc	atagcccaag	7080
caaagactgc	aagtgcctgg	ctgctcatgg	gtagaagaga	atccaccatt	cctcaacatg	7140
taccgagtc	ttgccatgtg	caaggcaaca	tggggctacc	aggaattcca	agcaatgtcc	7200
aaacctaggg	tctgctttct	gggacctgaa	gatacaggat	ggatcagccc	aggctgcaat	7260
cccatacca	cgagggggaa	aaaaacctga	aggctaaatt	gtaggtcggg	ttagaggtta	7320
tttatggaaa	gttatattct	acctacatgg	ggtctataag	cctggcgcca	atcagaaaag	7380
gaacaaacaa	agacctagc	tgggaggggc	agcattttgt	tgtagggggc	ggggcacatg	7440
ttctgggggt	acagccagac	tcagggttg	tattaatagt	ctgagagtaa	gcacagacaga	7500
gggatagaag	gaaataggtc	cctttctctc	tctctctctc	tctctctctc	actctctctc	7560
tctctcacac	acacacacag	acacacacac	acgctctgta	ggggctact	tatgctccaa	7620
gtacaaatca	ggccacattt	acacaaggag	gtaaaggaaa	agaacgttgg	aggagccaca	7680
ggacccccaa	attcctgtt	ttccttgaat	caggcaggac	ttacgcagct	gggaggggtg	7740
agagcctgca	gaagccacct	tccagtaagc	caagttcaga	gtcacagaca	ccaaaagctg	7800
gtgccaatgc	ccacaccocg	ccacctccca	cctgctcctt	gacacagccc	tgtgctccac	7860
aaccocggctc	ccagatcatt	gattatagct	ctggggcctg	caccgtcctt	cctgcccacat	7920
ccccacccca	ttcttggaac	ctgcccctctg	tcttctccct	tgtccaaggg	caggcaaggg	7980
ctcagctatt	gggcagcttt	gaccaacagc	tgaggtcct	tttgtggctg	gagatgcagg	8040
aggcagggga	atattcctct	tagtcaatgc	gaccatgtgc	ctggtttgcc	caggggtgtc	8100
tcgtttacac	ctgtaggcca	agcgttaatta	ttaacagctc	ccacttctac	tctaaaaaat	8160
gacccaatct	gggcagtaaa	ttatatgggtg	cccattgctat	taagagctgc	aacttgctgg	8220
gcgtggtggc	tcacacctgt	aatcccagta	ctttgggacg	tcaaggcggg	tggatcacct	8280
gaggtcacga	gttagagact	ggcctggcca	gcattggcaa	accccatctt	tactaaaaat	8340
acaaaaatta	gcaaggcatg	gtggcatgca	cctgtaatcc	caggtaactcg	ggaggtgag	8400
acaggagaat	ggcttgaacc	caggaggcag	agggtgcagt	gagccaagat	tgtgccactg	8460
ccctccagcc	ctggcaacag	agcaagactt	catctcaaaa	gaaaaaggat	actgtcaatc	8520
actgcaggaa	gaaccacagg	aatgaatgag	gagaagagag	gggctgagtc	acctagtggt	8580
cagcaccgac	tctgacagg	aaggcgagac	actgggtcat	gggtaactgaa	gggtgcccctg	8640
aatgacgttc	tgcttagag	accgaacctg	agcctgaaa	gtgcatgcct	gttcatgggt	8700
gagagactaa	attcatcatt	ccttggcagg	tactgaatcc	tttcttacgg	ctgcccctca	8760
atgcccatt	tcctacaat	tgtctggggt	gcctaagctt	ctgcccacca	agagggccag	8820
agctggcagc	gagcagctgc	aggtaggaga	gataggtagc	cataaggag	gtgggaaaga	8880
gagatggaag	gagaggggtg	cagagcacac	acctcccctg	cctgacaact	tctgaggggc	8940
tggtcatgcc	agcagattta	aggcggaggc	aggggagatg	gggcccggaga	ggaagtgaaa	9000
aaggagaggg	tgggatgga	gaggaagaga	gggtgatcat	tcattcattc	cattgtctact	9060
gactggatgc	cagctgtgag	ccaggccacca	ccctagctct	gggcatgtgg	ttgtaatctt	9120
ggagcctcat	ggagctcaca	gggagtgctg	gcaaggagat	ggataatgga	cggataacaa	9180
ataaacattt	agtacaatgt	ccgggaatgg	aaagtctctg	aaagaaaaat	aaagctggtg	9240
agcatataga	cagccctgaa	ggcggccagg	ccaggcattt	ctgaggaggt	ggcatttgag	9300
c						9301

<210> 19
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Cebador para PCR

10

<400> 19
 ccggagctgg agaacaacaa g 21

15

<210> 20
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Cebador para PCR

 5 <400> 20 gcactggccg gagcacacc 19

 <210> 21
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10

 <220>
 <223> Cebador para PCR

 15 <400> 21
 aggccaaccg cgagaagatg acc 23

 <210> 22
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20

 <220>
 <223> Cebador para PCR
 25

 <400> 22
 gaagtccagg gcgacgtagc a 21
 30

 <210> 23
 <211> 25
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35

 <220>
 <223> Cebador para PCR

 <400> 23
 aagcttgta ccatgcagct cccac 25
 40

 <210> 24
 <211> 50
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45

 <220>
 <223> Cebador para PCR

 <400> 24
 aagcttctac ttgtcatcgt cgtccttgta gtcgtaggcg ttctccagct 50
 50

 <210> 25
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 55

 <220>
 <223> Cebador para PCR

 <400> 25
 gcactggccg gagcacacc 19
 60

 <210> 26
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 65

<220>
 <223> Cebador para PCR

 <400> 26
 5 gtcgtcggat ccatggggtg gcaggcggtc aagaatgat 39

 <210> 27
 <211> 57
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador para PCR

 <400> 27
 15 gtcgtcaagc ttctactgt catcgtcctt gtagtcgtag gcgttctcca gctcggc 57

 <210> 28
 <211> 29
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador para PCR

 <400> 28
 25 gacttggatc ccaggggtgg caggcggtc 29

 <210> 29
 <211> 29
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador para PCR

 <400> 29
 35 agcataagct tctagtaggc gttctccag 29

 <210> 30
 <211> 29
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador para PCR

 <400> 30
 45 gacttggatc cgaagggaaa aagaaaggg 29

 <210> 31
 <211> 29
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador para PCR

 <400> 31
 55 agcataagct ttaatcaa atcgatgga 29

 <210> 32
 <211> 33
 <212> ADN
 60 <213> Secuencia artificial

 <210> 32
 <211> 33
 <212> ADN
 65 <213> Secuencia artificial

ES 2 428 767 T3

<220>
 <223> Cebador para PCR

 <400> 32
 5 actacgagct cggccccacc acccatcaac aag 33

 <210> 33
 <211> 34
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador para PCR

 <400> 33
 15 acttagaagc ttcagtcct cagccccctc ttcc 34

 <210> 34
 <211> 66
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador para PCR

 <400> 34
 25 aatctggatc cataacttcg tatagcatac attatagcaa gttatctgca ggattcgagg 60
 gccoct 66

 <210> 35
 <211> 82
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador para PCR

 <400> 35

 aatctgaatt ccaccgggtg taattaaata acttcgtata atgtatgcta tacgaagtta 60
 tagatctaga gtcagcttct ga 82

 <210> 36
 <211> 62
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador para PCR

 <400> 36
 45 atttaggtga cactatagaa ctcgagcagc tgaagcttaa ccacatggtg gctcacaacc 60
 at 62

 <210> 37
 <211> 54
 <212> ADN
 55 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador para PCR
 <400> 37 aacgacggcc agtgaatccg taatcatggt catgctgcca ggtggaggag ggca 54
 60

ES 2 428 767 T3

<210> 38
<211> 31
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
5
<220>
<223> Cebador para PCR
10 <400> 38 attaccaccg gtagacaccg cttctgaca g 31
<210> 39
<211> 61
<212> ADN
15 <213> Secuencia artificial
<220>
<223> Cebador para PCR
20 <400> 39
attacttaat taaacatggc ggcacatag gccggccct aattggggcg catcgtaat 60
t 61
<210> 40
<211> 34
25 <212> ADN
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Cebador para PCR
30 <400> 40
attacggccg gccgcaaagg aattcaagat ctga 34
35 <210> 41
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
<220>
40 <223> Cebador para PCR
<400> 41
attacggcgc gccctcaca ggccgcaccc agct 34
45 <210> 42
<211> 184
<212> PRT
<213> Homo sapiens
50 <400> 42

ES 2 428 767 T3

```

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

```

<210> 43
 <211> 267
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 43

5

```

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

```

<210> 44
 <211> 180
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 44

```

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

```

10

ES 2 428 767 T3

Glu Cys Pro Gly His Glu Glu Val Pro Arg Val Asp Lys Leu Val Glu
 100 105 110
 Lys Ile Leu His Cys Ser Cys Gln Ala Cys Gly Lys Glu Pro Ser His
 115 120 125
 Glu Gly Leu Ser Val Tyr Val Gln Gly Glu Asp Gly Pro Gly Ser Gln
 130 135 140
 Pro Gly Thr His Pro His Pro His Pro His Pro His Pro Gly Gly Gln
 145 150 155 160
 Thr Pro Glu Pro Glu Asp Pro Pro Gly Ala Pro His Thr Glu Glu Glu
 165 170 175
 Gly Ala Glu Asp
 180

<210> 45
 <211> 642
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(639)

10

<400> 45

atg cag ctc cca ctg gcc ctg tgt ctc gtc tgc ctg ctg gta cac aca 48
 Met Gln Leu Pro Leu Ala Leu Cys Leu Val Cys Leu Leu Val His Thr
 1 5 10 15

gcc ttc cgt gta gtg gag ggc cag ggg tgg cag gcg ttc aag aat gat 96
 Ala Phe Arg Val Val Glu Gly Gln Gly Trp Gln Ala Phe Lys Asn Asp
 20 25 30

gcc acg gaa atc atc ccc gag ctc gga gag tac ccc gag cct cca ccg 144
 Ala Thr Glu Ile Ile Pro Glu Leu Gly Glu Tyr Pro Glu Pro Pro Pro
 35 40 45

gag ctg gag aac aac aag acc atg aac cgg gcg gag aac gga ggg cgg 192
 Glu Leu Glu Asn Asn Lys Thr Met Asn Arg Ala Glu Asn Gly Gly Arg
 50 55 60

cct ccc cac cac ccc ttt gag acc aaa gac gtg tcc gag tac agc tgc 240
 Pro Pro His His Pro Phe Glu Thr Lys Asp Val Ser Glu Tyr Ser Cys
 65 70 75 80

cgc gag ctg cac ttc acc cgc tac gtg acc gat ggg ccg tgc cgc agc 288
 Arg Glu Leu His Phe Thr Arg Tyr Val Thr Asp Gly Pro Cys Arg Ser
 85 90 95

gcc aag ccg gtc acc gag ctg gtg tgc tcc ggc cag tgc ggc ccg gcg 336
 Ala Lys Pro Val Thr Glu Leu Val Cys Ser Gly Gln Cys Gly Pro Ala
 100 105 110

cgc ctg ctg ccc aac gcc atc ggc cgc ggc aag tgg tgg cga cct agt 384
 Arg Leu Leu Pro Asn Ala Ile Gly Arg Gly Lys Trp Trp Arg Pro Ser
 115 120 125

ggg ccc gac ttc cgc tgc atc ccc gac cgc tac cgc gcg cag cgc gtg 432
 Gly Pro Asp Phe Arg Cys Ile Pro Asp Arg Tyr Arg Ala Gln Arg Val

ES 2 428 767 T3

130	135	140	
cag ctg ctg tgt ccc ggt ggt gag gcg ccg cgc gcg cgc aag gtg cgc			480
Gln Leu Leu Cys Pro Gly Gly Glu Ala Pro Arg Ala Arg Lys Val Arg			
145	150	155	160
ctg gtg gcc tgc tgc aag tgc aag cgc ctc acc cgc ttc cac aac cag			528
Leu Val Ala Ser Cys Lys Cys Lys Arg Leu Thr Arg Phe His Asn Gln			
	165	170	175
tcg gag ctc aag gac ttc ggg acc gag gcc gct cgg ccg cag aag ggc			576
Ser Glu Leu Lys Asp Phe Gly Thr Glu Ala Ala Arg Pro Gln Lys Gly			
	180	185	190
cgg aag ccg cgg ccc cgc gcc cgg agc gcc aaa gcc aac cag gcc gag			624
Arg Lys Pro Arg Pro Arg Ala Arg Ser Ala Lys Ala Asn Gln Ala Glu			
	195	200	205
ctg gag aac gcc tac tag			642
Leu Glu Asn Ala Tyr			
	210		

<210> 46
 <211> 190
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 46															
Gln Gly Trp Gln Ala Phe Lys Asn Asp Ala Thr Glu Ile Ile Pro Glu															
1				5				10						15	
Leu Gly Glu Tyr Pro Glu Pro Pro Pro Glu Leu Glu Asn Asn Lys Thr															
			20					25						30	
Met Asn Arg Ala Glu Asn Gly Gly Arg Pro Pro His His Pro Phe Glu															
			35					40						45	
Thr Lys Asp Val Ser Glu Tyr Ser Cys Arg Glu Leu His Phe Thr Arg															
			50					55						60	
Tyr Val Thr Asp Gly Pro Cys Arg Ser Ala Lys Pro Val Thr Glu Leu															
			65											70	75
Val Cys Ser Gly Gln Cys Gly Pro Ala Arg Leu Leu Pro Asn Ala Ile															
														85	90
Gly Arg Gly Lys Trp Trp Arg Pro Ser Gly Pro Asp Phe Arg Cys Ile															
														100	105
Pro Asp Arg Tyr Arg Ala Gln Arg Val Gln Leu Leu Cys Pro Gly Gly															
														115	120
Glu Ala Pro Arg Ala Arg Lys Val Arg Leu Val Ala Ser Cys Lys Cys															
														130	135
Lys Arg Leu Thr Arg Phe His Asn Gln Ser Glu Leu Lys Asp Phe Gly															
														145	150
Thr Glu Ala Ala Arg Pro Gln Lys Gly Arg Lys Pro Arg Pro Arg Ala															
														165	170
Arg Ser Ala Lys Ala Asn Gln Ala Glu Leu Glu Asn Ala Tyr															
														180	185
															190

<210> 47
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 47															
Gln Gly Trp Gln Ala Phe Lys Asn Asp Ala Thr Glu Ile Ile Pro Glu															
1				5				10						15	
Leu Gly Glu Tyr															
				20											

15

ES 2 428 767 T3

<210> 48
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 48

 Thr Glu Ile Ile Pro Glu Leu Gly Glu Tyr Pro Glu Pro Pro Pro Glu
 1 5 10 15
 Leu Glu Asn Asn
 20

 <210> 49
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15
 <400> 49

 Pro Glu Pro Pro Pro Glu Leu Glu Asn Asn Lys Thr Met Asn Arg Ala
 1 5 10 15
 Glu Asn Gly Gly
 20

 <210> 50
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 20
 <400> 50

 Lys Thr Met Asn Arg Ala Glu Asn Gly Gly Arg Pro Pro His His Pro
 1 5 10 15
 Phe Glu Thr Lys
 20

 <210> 51
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30
 <400> 51

 Arg Pro Pro His His Pro Phe Glu Thr Lys Asp Val Ser Glu Tyr Ser
 1 5 10 15
 35

 <210> 52
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40

 <220>
 <223> Fragmento de péptido de SOST humano con cisteína adicional añadida
 45
 <400> 52

 Gln Gly Trp Gln Ala Phe Lys Asn Asp Ala Thr Glu Ile Ile Pro Glu
 1 5 10 15
 Leu Gly Glu Tyr Cys
 20

ES 2 428 767 T3

<210> 53
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Fragmento de péptido de SOST humano con cisteína adicional añadida
 <400> 53
 Thr Glu Ile Ile Pro Glu Leu Gly Glu Tyr Pro Glu Pro Pro Pro Glu
 1 5 10 15
 Leu Glu Asn Asn Cys
 20
 10
 <210> 54
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Fragmento de péptido de SOST humano con cisteína adicional añadida
 20
 <400> 54
 Pro Glu Pro Pro Pro Glu Leu Glu Asn Asn Lys Thr Met Asn Arg Ala
 1 5 10 15
 Glu Asn Gly Gly Cys
 20
 25
 <210> 55
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido de SOST humano con cisteína adicional añadida
 30
 <400> 55
 Lys Thr Met Asn Arg Ala Glu Asn Gly Gly Arg Pro Pro His His Pro
 1 5 10 15
 Phe Glu Thr Lys Cys
 20
 35
 <210> 56
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Fragmento de péptido de SOST humano con cisteína adicional añadida
 <400> 56
 Arg Pro Pro His His Pro Phe Glu Thr Lys Asp Val Ser Glu Tyr Ser
 1 5 10 15
 Cys
 45
 <210> 57
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus
 50

ES 2 428 767 T3

<400> 57

Gln Gly Trp Gln Ala Phe Lys Asn Asp Ala Thr Glu Ile Ile Pro Gly
 1 5 10 15
 Leu Arg Glu Tyr Pro Glu Pro Pro
 20

5 <210> 58
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus

10 <400> 58

Pro Glu Pro Pro Gln Glu Leu Glu Asn Asn Gln Thr Met Asn Arg Ala
 1 5 10 15
 Glu Asn Gly Gly
 20

15 <210> 59
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus

20 <400> 59

Glu Asn Gly Gly Arg Pro Pro His His Pro Tyr Asp Thr Lys Asp Val
 1 5 10 15
 Ser Glu Tyr Ser
 20

25 <210> 60
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus

<400> 60

Thr Glu Ile Ile Pro Gly Leu Arg Glu Tyr Pro Glu Pro Pro Gln Glu
 1 5 10 15
 Leu Glu Asn Asn
 20

30 <210> 61
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Fragmento de péptido de SOST de rata con cisteína adicional añadida

40 <400> 61

Gln Gly Trp Gln Ala Phe Lys Asn Asp Ala Thr Glu Ile Ile Pro Gly
 1 5 10 15
 Leu Arg Glu Tyr Pro Glu Pro Pro Cys
 20 25

45 <210> 62
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

ES 2 428 767 T3

<220>

<223> Fragmento de péptido de SOST de rata con cisteína adicional añadida

<400> 62

```

Pro Glu Pro Pro Gln Glu Leu Glu Asn Asn Gln Thr Met Asn Arg Ala
 1          5          10          15
Glu Asn Gly Gly Cys
                    20

```

5

<210> 63

<211> 21

<212> PRT

10

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Fragmento de péptido de SOST de rata con cisteína adicional añadida

15

<400> 63

```

Glu Asn Gly Gly Arg Pro Pro His His Pro Tyr Asp Thr Lys Asp Val
 1          5          10          15
Ser Glu Tyr Ser Cys

```

20

20

<210> 64

<211> 21

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Fragmento de péptido de SOST de rata con cisteína adicional añadida

<400> 64

```

Thr Glu Ile Ile Pro Gly Leu Arg Glu Tyr Pro Glu Pro Pro Gln Glu
 1          5          10          15
Leu Glu Asn Asn Cys
                    20

```

30

<210> 65

<211> 190

<212> PRT

35

<213> Rattus norvegicus

<400> 65

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

5 <210> 66
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 66

Ile pro Asp Arg Tyr Arg Ala Gln Arg Val Gln Leu Leu Cys Pro Gly
 1 5 10 15
 Gly Glu Ala Pro
 20

10
 15 <210> 67
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 67

Gln Leu Leu Cys Pro Gly Gly Glu Ala Pro Arg Ala Arg Lys Val Arg
 1 5 10 15
 Leu Val Ala Ser
 20

20
 25 <210> 68
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Fragmento de péptido de SOST humano con cisteína adicional añadida

<400> 68

30 Ile Pro Asp Arg Tyr Arg Ala Gln Arg Val Gln Leu Leu Cys Pro Gly
 1 5 10 15
 Gly Glu Ala Pro Cys
 20

ES 2 428 767 T3

<210> 69
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Fragmento de péptido de SOST humano con cisteína adicional añadida
 <400> 69
 10
 Gln Leu Leu Cys Pro Gly Gly Glu Ala Pro Arg Ala Arg Lys Val Arg
 1 5 10 15
 Leu Val Ala Ser Cys
 20
 <210> 70
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Rattus Norvegicus
 <400> 70
 20
 Ile Pro Asp Arg Tyr Arg Ala Gln Arg Val Gln Leu Leu Cys Pro Gly
 1 5 10 15
 Gly
 <210> 71
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus
 <400> 71
 30
 Pro Gly Gly Ala Ala Pro Arg Ser Arg Lys Val Arg Leu Val Ala Ser
 1 5 10 15
 <210> 72
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido de SOST de rata con cisteína adicional añadida
 <400> 72
 40
 Ile Pro Asp Arg Tyr Arg Ala Gln Arg Val Gln Leu Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Gly Cys
 <210> 73
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Fragmento de péptido de SOST de rata con cisteína adicional añadida
 <400> 73
 Pro Gly Gly Ala Ala Pro Arg Ser Arg Lys Val Arg Leu Val Ala Ser
 1 5 10 15
 Cys

ES 2 428 767 T3

<210> 74
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 74

 Cys Gly Pro Ala Arg Leu Leu Pro Asn Ala Ile Gly Arg Gly Lys Trp
 1 5 10 15
 Trp Arg Pro Ser
 20

 <210> 75
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 10

 <400> 75

 Ile Gly Arg Gly Lys Trp Trp Arg Pro Ser Gly Pro Asp Phe Arg Cys
 1 5 10 15

 <210> 76
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus
 20

 <400> 76

 Pro Asn Ala Ile Gly Arg Val Lys Trp Trp Arg Pro Asn Gly Pro Asp
 1 5 10 15
 Phe Arg
 25

 <210> 77
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30

 <220>
 <223> Fragmento de péptido de SOST de rata con cisteína adicional añadida
 35

 <400> 77

 Pro Asn Ala Ile Gly Arg Val Lys Trp Trp Arg Pro Asn Gly Pro Asp
 1 5 10 15
 Phe Arg Cys
 40

 <210> 78
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45

 <400> 78

 Lys Arg Leu Thr Arg Phe His Asn Gln Ser Glu Leu Lys Asp Phe Gly
 1 5 10 15
 Thr Glu Ala Ala
 20

 <210> 79
 <211> 20
 <212> PRT
 50

ES 2 428 767 T3

<213> Homo sapiens

<400> 79

Glu Leu Lys Asp Phe Gly Thr Glu Ala Ala Arg Pro Gln Lys Gly Arg
 1 5 10 15
 Lys Pro Arg Pro
 20

5

<210> 80

<211> 20

<212> PRT

10

<213> Homo sapiens

<400> 80

Arg Pro Gln Lys Gly Arg Lys Pro Arg Pro Arg Ala Arg Ser Ala Lys
 1 5 10 15
 Ala Asn Gln Ala
 20

15

<210> 81

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20

<400> 81

Arg Ala Arg Ser Ala Lys Ala Asn Gln Ala Glu Leu Glu Asn Ala Tyr
 1 5 10 15

25

<210> 82

<211> 21

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Fragmento de péptido de SOST humano con cisteína adicional añadida

<400> 82

Lys Arg Leu Thr Arg Phe His Asn Gln Ser Glu Leu Lys Asp Phe Gly
 1 5 10 15
 Thr Glu Ala Ala Cys
 20

35

<210> 83

<211> 21

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Fragmento de péptido de SOST humano con cisteína adicional añadida

<400> 83

45

Glu Leu Lys Asp Phe Gly Thr Glu Ala Ala Arg Pro Gln Lys Gly Arg
 1 5 10 15

Lys Pro Arg Pro Cys
 20

ES 2 428 767 T3

<210> 88
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus
 5
 <400> 88

 Ser Glu Leu Lys Asp Phe Gly Pro Glu Thr Ala Arg Pro Gln Lys Gly
 1 5 10 15
 Arg Lys Pro Arg Pro Arg Ala Arg
 20

 10
 <210> 89
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 15
 <220>
 <223> Fragmento de péptido de SOST de rata con cisteína adicional añadida

 <400> 89

 Lys Arg Leu Thr Arg Phe His Asn Gln Ser Glu Leu Lys Asp Phe Gly
 1 5 10 15
 Pro Glu Thr Ala Arg Pro Gln Cys
 20

 20
 <210> 90
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 25
 <220>
 <223> Fragmento de péptido de SOST de rata con cisteína adicional añadida

 <400> 90

 30
 Lys Gly Arg Lys Pro Arg Pro Arg Ala Arg Gly Ala Lys Ala Asn Gln
 1 5 10 15
 Ala Glu Leu Glu Asn Ala Tyr Cys
 20

 <210> 91
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 35
 <220>
 <223> Fragmento de péptido de SOST de rata con cisteína adicional añadida

 40
 <400> 91

 Ser Glu Leu Lys Asp Phe Gly Pro Glu Thr Ala Arg Pro Gln Lys Gly
 1 5 10 15
 Arg Lys Pro Arg Pro Arg Ala Arg Cys
 20 25

 45
 <210> 92
 <211> 56
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 50
 <400> 92

ES 2 428 767 T3

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

5 <210> 93
 <211> 56
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus

<400> 93

Gln Gly Trp Gln Ala Phe Lys Asn Asp Ala Thr Glu Ile Ile Pro Gly
 1 5 10 15
 Leu Arg¹ Glu Tyr Pro Glu Pro Pro Gln Glu Leu Glu Asn Asn Gln Thr
 20 25 30
 Met Asn Arg Ala Glu Asn Gly Gly Arg Pro Pro His His Pro Tyr Asp
 35 40 45
 Thr Lys Asp Val Ser Glu Tyr Ser
 50 55

10
 15 <210> 94
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 94

Cys Ile Pro Asp Arg Tyr Arg Ala Gln Arg Val Gln Leu Leu Cys Pro
 1 5 10 15
 Gly Gly Glu Ala Pro Arg Ala Arg Lys Val Arg Leu Val Ala Ser Cys
 20 25 30

20
 25 <210> 95
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus

<400> 95

Cys Ile Pro Asp Arg Tyr Arg Ala Gln Arg Val Gln Leu Leu Cys Pro
 1 5 10 15
 Gly Gly Ala Ala Pro Arg Ser Arg Lys Val Arg Leu Val Ala Ser Cys
 20 25 30

30 <210> 96
 <211> 44
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

35 <400> 96

ES 2 428 767 T3

Leu Thr Arg Phe His Asn Gln Ser Glu Leu Lys Asp Phe Gly Thr Glu
 1 5 10
 Ala Ala Arg Pro Gln Lys Gly Arg Lys Pro Arg Pro Arg Ala Arg Ser
 20 25 30
 Ala Lys Ala Asn Gln Ala Glu Leu Glu Asn Ala Tyr
 35 40

<210> 97
 <211> 44
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus

<400> 97

Leu Thr Arg Phe His Asn Gln Ser Glu Leu Lys Asp Phe Gly Pro Glu
 1 5 10 15
 Thr Ala Arg Pro Gln Lys Gly Arg Lys Pro Arg Pro Arg Ala Arg Gly
 20 25 30
 Ala Lys Ala Asn Gln Ala Glu Leu Glu Asn Ala Tyr
 35 40

<210> 98
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 98

Cys Gly Pro Ala Arg Leu Leu Pro Asn Ala Ile Gly Arg Gly Lys Trp
 1 5 10 15
 Trp Arg Pro Ser Gly Pro Asp Phe Arg Cys
 20 25

<210> 99
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus

<400> 99

Cys Gly Pro Ala Arg Leu Leu Pro Asn Ala Ile Gly Arg Val Lys Trp
 1 5 10 15
 Trp Arg Pro Asn Gly Pro Asp Phe Arg Cys
 20 25

<210> 100
 <211> 570
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 100

caggggtggc aggcgttcaa gaatgatgcc acggaaatca tccccgagct cggagagtac 60
 cccgagcctc caccggagct ggagaacaac aagaccatga accgggcgga gaacggaggg 120
 cggcctcccc accaccctt tgagaccaa gacgtgtccg agtacagctg ccgagagctg 180
 cacttcaccc gctacgtgac cgatgggccc tgcgcgagcg ccaagccggc caccgagctg 240
 gtgtgctccg gccagtgccg cccggcgcgc ctgctgccca acgccatcgg ccgcggcaag 300
 tgggtggcgc ctagtgggccc cgacttcgcg tgcaccccc accgctaccg cgcgcagcgc 360
 gtgcagctgc tgtgtcccgg tgggtgaggcg ccgcgcgcgc gcaaggtgcg cctggtggcc 420
 tcgtgcaagt gcaagcgcct caccgcctc cacaaccagt cggagctcaa ggacttcggg 480
 accgaggccg ctcgccgca gaaggccggc aagccgcggc cccgcgcgcc gagcgccaaa 540
 gcccaaccagg ccgagctgga gaacgcctac 570

ES 2 428 767 T3

<210> 101
 <211> 570
 <212> ADN
 <213> Rattus norvegicus

5

<400> 101

```

caggggtggc aagccttcaa gaatgatgcc acagaaatca tcccgggact cagagagtac 60
ccagagcctc ctccaggaact agagaacaac cagaccatga accgggcccga gaacgggaggc 120
agaccccccc accatcctta tgacaccaa gacgtgtccg agtacagctg ccgagagctg 180
cactacaccc gcttcgtgac cgacggcccg tgccgcagtg ccaagccggg caccgagttg 240
gtgtgctcgg gccagtgcgg ccccgcgcgg ctgctgccc aacccatcgg gcgctggaag 300
tggtagcgcc cgaacggacc cgacttcgcg tgcattccgg atcgctaccg cgcgcagcgg 360
gtgcagctgc tgtgccccgg cggegcggcg ccgcgctcgc gcaaggtgcg tctggtggcc 420
tcgtgcaagt gcaagcgcc caccgcttc cacaaccagt cggagctcaa ggacttcgga 480
cctgagaccg cgcggccgca gaagggtcgc aagccggcgg cccgcgcccg gggagccaaa 540
gccaaccagg cggagctgga gaacgcctac
    
```

10

<210> 102
 <211> 532
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15

<400> 102

```

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

Leu Cys Asn Gln Tyr Leu Gln Pro Thr Leu Pro Pro Val Val Ile Gly
 130 135 140
 Pro Phe Phe Asp Gly Ser Ile Arg Trp Leu Val Leu Leu Ile Ser Met
 145 150 155 160
 Ala Val Cys Ile Ile Ala Met Ile Ile Phe Ser Ser Cys Phe Cys Tyr
 165 170 175
 Lys His Tyr Cys Lys Ser Ile Ser Ser Arg Arg Arg Tyr Asn Arg Asp
 180 185 190
 Leu Glu Gln Asp Glu Ala Phe Ile Pro Val Gly Glu Ser Leu Lys Asp
 195 200 205
 Leu Ile Asp Gln Ser Gln Ser Ser Gly Ser Gly Ser Gly Leu Pro Leu
 210 215 220
 Leu Val Gln Arg Thr Ile Ala Lys Gln Ile Gln Met Val Arg Gln Val
 225 230 235 240
 Gly Lys Gly Arg Tyr Gly Glu Val Trp Met Gly Lys Trp Arg Gly Glu
 245 250 255
 Lys Val Ala Val Lys Val Phe Phe Thr Thr Glu Glu Ala Ser Trp Phe
 260 265 270
 Arg Glu Thr Glu Ile Tyr Gln Thr Val Leu Met Arg His Glu Asn Ile
 275 280 285
 Leu Gly Phe Ile Ala Ala Asp Ile Lys Gly Thr Gly Ser Trp Thr Gln
 290 295 300
 Leu Tyr Leu Ile Thr Asp Tyr His Glu Asn Gly Ser Leu Tyr Asp Phe
 305 310 315 320
 Leu Lys Cys Ala Thr Leu Asp Thr Arg Ala Leu Leu Lys Leu Ala Tyr
 325 330 335
 Ser Ala Ala Cys Gly Leu Cys His Leu His Thr Glu Ile Tyr Gly Thr
 340 345 350
 Gln Gly Lys Pro Ala Ile Ala His Arg Asp Leu Lys Ser Lys Asn Ile
 355 360 365
 Leu Ile Lys Lys Asn Gly Ser Cys Cys Ile Ala Asp Leu Gly Leu Ala
 370 375 380
 Val Lys Phe Asn Ser Asp Thr Asn Glu Val Asp Val Pro Leu Asn Thr
 385 390 395 400
 Arg Val Gly Thr Lys Arg Tyr Met Ala Pro Glu Val Leu Asp Glu Ser
 405 410 415
 Leu Asn Lys Asn His Phe Gln Pro Tyr Ile Met Ala Asp Ile Tyr Ser
 420 425 430
 Phe Gly Leu Ile Ile Trp Glu Met Ala Arg Arg Cys Ile Thr Gly Gly
 435 440 445
 Ile Val Glu Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr Tyr Asn Met Val Pro Ser Asp
 450 455 460
 Pro Ser Tyr Glu Asp Met Arg Glu Val Val Cys Val Lys Arg Leu Arg
 465 470 475 480
 Pro Ile Val Ser Asn Arg Trp Asn Ser Asp Glu Cys Leu Arg Ala Val
 485 490 495
 Leu Lys Leu Met Ser Glu Cys Trp Ala His Asn Pro Ala Ser Arg Leu
 500 505 510
 Thr Ala Leu Arg Ile Lys Lys Thr Leu Ala Lys Met Val Glu Ser Gln
 515 520 525
 Asp Val Lys Ile
 530

<210> 103
 <211> 502
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 103

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

 Ser Asp Pro Ser Tyr Glu Asp Met Arg Glu Ile Val Cys Ile Lys Lys
 435 440 445
 Leu Arg Pro Ser Phe Pro Asn Arg Trp Ser Ser Asp Glu Cys Leu Arg
 450 455 460
 Gln Met Gly Lys Leu Met Thr Glu Cys Trp Ala His Asn Pro Ala Ser
 465 470 475 480
 Arg Leu Thr Ala Leu Arg Val Lys Lys Thr Leu Ala Lys Met Ser Glu
 485 490 495
 Ser Gln Asp Ile Lys Leu
 500

<210> 104
 <211> 502
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 104

```

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

305
 Ser Thr Gln Gly Lys Pro Ala Ile Ala His Arg Asp Leu Lys Ser Lys
 325 330 335
 Asn Ile Leu Val Lys Lys Asn Gly Thr Cys Cys Ile Ala Asp Leu Gly
 340 345 350
 Leu Ala Val Lys Phe Ile Ser Asp Thr Asn Glu Val Asp Ile Pro Pro
 355 360 365
 Asn Thr Arg Val Gly Thr Lys Arg Tyr Met Pro Pro Glu Val Leu Asp
 370 375 380
 Glu Ser Leu Asn Arg Asn His Phe Gln Ser Tyr Ile Met Ala Asp Met
 385 390 395 400
 Tyr Ser Phe Gly Leu Ile Leu Trp Glu Val Ala Arg Arg Cys Val Ser
 405 410 415
 Gly Gly Ile Val Glu Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr His Asp Leu Val Pro
 420 425 430
 Ser Asp Pro Ser Tyr Glu Asp Met Arg Glu Ile Val Cys Ile Lys Lys
 435 440 445
 Leu Arg Pro Ser Phe Pro Asn Arg Trp Ser Ser Asp Glu Cys Leu Arg
 450 455 460
 Gln Met Gly Lys Leu Met Thr Glu Cys Trp Ala His Asn Pro Ala Ser
 465 470 475 480
 Arg Leu Thr Ala Leu Arg Val Lys Lys Thr Leu Ala Lys Met Ser Glu
 485 490 495
 Ser Gln Asp Ile Lys Leu
 500

<210> 105
 <211> 532
 <212> PRT
 <213> Rattus sp.

5

<400> 105

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

10

Leu Glu Gln Asp Glu Ala Phe Ile Pro Val Gly Glu Ser Leu Lys Asp
 195 200 205
 Leu Ile Asp Gln Ser Gln Ser Ser Gly Ser Gly Ser Gly Leu Pro Leu
 210 215 220
 Leu Val Gln Arg Thr Ile Ala Lys Gln Ile Gln Met Val Arg Gln Val
 225 230 235 240
 Gly Lys Gly Arg Tyr Gly Glu Val Trp Met Gly Lys Trp Arg Gly Glu
 245 250 255
 Lys Val Ala Val Lys Val Phe Phe Thr Thr Glu Glu Ala Ser Trp Phe
 260 265 270
 Arg Glu Thr Glu Ile Tyr Gln Thr Val Leu Met Arg His Glu Asn Ile
 275 280 285
 Leu Gly Phe Ile Ala Ala Asp Ile Lys Gly Thr Gly Ser Trp Thr Gln
 290 295 300
 Leu Tyr Leu Ile Thr Asp Tyr His Glu Asn Gly Ser Leu Tyr Asp Phe
 305 310 315 320
 Leu Lys Cys Ala Thr Leu Asp Thr Arg Ala Leu Leu Lys Leu Ala Tyr
 325 330 335
 Ser Ala Ala Cys Gly Leu Cys His Leu His Thr Glu Ile Tyr Gly Thr
 340 345 350
 Gln Gly Lys Pro Ala Ile Ala His Arg Asp Leu Lys Ser Lys Asn Ile
 355 360 365
 Leu Ile Lys Lys Asn Gly Ser Cys Cys Ile Ala Asp Leu Gly Leu Ala
 370 375 380
 Val Lys Phe Asn Ser Asp Thr Asn Glu Val Asp Ile Pro Leu Asn Thr
 385 390 395 400
 Arg Val Gly Thr Arg Arg Tyr Met Ala Pro Glu Val Leu Asp Glu Ser
 405 410 415
 Leu Ser Lys Asn His Phe Gln Pro Tyr Ile Met Ala Asp Ile Tyr Ser
 420 425 430
 Phe Gly Leu Ile Ile Trp Glu Met Ala Arg Arg Cys Ile Thr Gly Gly
 435 440 445
 Ile Val Glu Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr Tyr Asn Met Val Pro Ser Asp
 450 455 460
 Pro Ser Tyr Glu Asp Met Arg Glu Val Val Cys Val Lys Arg Leu Arg
 465 470 475 480
 Pro Ile Val Ser Asn Arg Trp Asn Ser Asp Glu Cys Leu Arg Ala Val
 485 490 495
 Leu Lys Leu Met Ser Glu Cys Trp Ala His Asn Pro Ala Ser Arg Leu
 500 505 510
 Thr Ala Leu Arg Ile Lys Lys Thr Leu Ala Lys Met Val Glu Ser Gln
 515 520 525
 Asp Val Lys Ile
 530

<210> 106
 <211> 532
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus

<400> 106

Met Thr Gln Leu Tyr Thr Tyr Ile Arg Leu Leu Gly Ala Cys Leu Phe
 1 5 10 15
 Ile Ile Ser His Val Gln Gly Gln Asn Leu Asp Ser Met Leu His Gly
 20 25 30
 Thr Gly Met Lys Ser Asp Val Asp Gln Lys Lys Pro Glu Asn Gly Val

5

10

		35					40				45				
Thr	Leu	Ala	Pro	Glu	Asp	Thr	Leu	Pro	Phe	Leu	Lys	Cys	Tyr	Cys	Ser
	50					55					60				
Gly	His	Cys	Pro	Asp	Asp	Ala	Ile	Asn	Asn	Thr	Cys	Ile	Thr	Asn	Gly
65					70					75					80
His	Cys	Phe	Ala	Ile	Ile	Glu	Glu	Asp	Asp	Gln	Gly	Glu	Thr	Thr	Leu
				85					90					95	
Thr	Ser	Gly	Cys	Met	Lys	Tyr	Glu	Gly	Ser	Asp	Phe	Gln	Cys	Lys	Asp
			100					105					110		
Ser	Pro	Lys	Ala	Gln	Leu	Arg	Arg	Thr	Ile	Glu	Cys	Cys	Arg	Thr	Asn
		115					120					125			
Leu	Cys	Asn	Gln	Tyr	Leu	Gln	Pro	Thr	Leu	Pro	Pro	Val	Val	Ile	Gly
	130					135					140				
Pro	Phe	Phe	Asp	Gly	Ser	Val	Arg	Trp	Leu	Ala	Val	Leu	Ile	Ser	Met
145					150					155					160
Ala	Val	Cys	Ile	Val	Ala	Met	Ile	Val	Phe	Ser	Ser	Cys	Phe	Cys	Tyr
				165					170					175	
Lys	His	Tyr	Cys	Lys	Ser	Ile	Ser	Ser	Arg	Gly	Arg	Tyr	Asn	Arg	Asp
			180						185				190		
Leu	Glu	Gln	Asp	Glu	Ala	Phe	Ile	Pro	Val	Gly	Glu	Ser	Leu	Lys	Asp
			195				200					205			
Leu	Ile	Asp	Gln	Ser	Gln	Ser	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Leu	Pro	Leu
	210					215						220			
Leu	Val	Gln	Arg	Thr	Ile	Ala	Lys	Gln	Ile	Gln	Met	Val	Arg	Gln	Val
225						230					235				240
Gly	Lys	Gly	Arg	Tyr	Gly	Glu	Val	Trp	Met	Gly	Lys	Trp	Arg	Gly	Glu
				245					250					255	
Lys	Val	Ala	Val	Lys	Val	Phe	Phe	Thr	Thr	Glu	Glu	Ala	Ser	Trp	Phe
			260					265					270		
Arg	Glu	Thr	Glu	Ile	Tyr	Gln	Thr	Val	Leu	Met	Arg	His	Glu	Asn	Ile
		275					280					285			
Leu	Gly	Phe	Ile	Ala	Ala	Asp	Ile	Lys	Gly	Thr	Gly	Ser	Trp	Thr	Gln
	290					295					300				
Leu	Tyr	Leu	Ile	Thr	Asp	Tyr	His	Glu	Asn	Gly	Ser	Leu	Tyr	Asp	Phe
305					310					315					320
Leu	Lys	Cys	Ala	Thr	Leu	Asp	Thr	Arg	Ala	Leu	Leu	Lys	Leu	Ala	Tyr
			325						330					335	
Ser	Ala	Ala	Cys	Gly	Leu	Cys	His	Leu	His	Thr	Glu	Ile	Tyr	Gly	Thr
			340					345					350		
Gln	Gly	Lys	Pro	Ala	Ile	Ala	His	Arg	Asp	Leu	Lys	Ser	Lys	Asn	Ile
		355					360					365			
Leu	Ile	Lys	Lys	Asn	Gly	Ser	Cys	Cys	Ile	Ala	Asp	Leu	Gly	Leu	Ala
	370					375					380				
Val	Lys	Phe	Asn	Ser	Asp	Thr	Asn	Glu	Val	Asp	Ile	Pro	Leu	Asn	Thr
385					390					395					400
Arg	Val	Gly	Thr	Arg	Arg	Tyr	Met	Ala	Pro	Glu	Val	Leu	Asp	Glu	Ser
				405					410					415	
Leu	Ser	Lys	Asn	His	Phe	Gln	Pro	Tyr	Ile	Met	Ala	Asp	Ile	Tyr	Ser
			420					425					430		
Phe	Gly	Leu	Ile	Ile	Trp	Glu	Met	Ala	Arg	Arg	Cys	Ile	Thr	Gly	Gly
		435					440					445			
Ile	Val	Glu	Glu	Tyr	Gln	Leu	Pro	Tyr	Tyr	Asn	Met	Val	Pro	Ser	Asp
	450					455					460				
Pro	Ser	Tyr	Glu	Asp	Met	Arg	Glu	Val	Val	Cys	Val	Lys	Arg	Leu	Arg
465					470					475					480
Pro	Ile	Val	Ser	Asn	Arg	Trp	Asn	Ser	Asp	Glu	Cys	Leu	Arg	Ala	Val
				485					490					495	
Leu	Lys	Leu	Met	Ser	Glu	Cys	Trp	Ala	His	Asn	Pro	Ala	Ser	Arg	Leu
			500					505					510		
Thr	Ala	Leu	Arg	Ile	Lys	Lys	Thr	Leu	Ala	Lys	Met	Val	Glu	Ser	Gln
		515					520						525		
Asp	Val	Lys	Ile												
	530														

<210> 107
 <211> 532
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus

5

<400> 107

```

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

```

          340                      345                      350
Gln Gly Lys Pro Ala Ile Ala His Arg Asp Leu Lys Ser Lys Asn Ile
          355                      360                      365
Leu Ile Lys Lys Asn Gly Ser Cys Cys Ile Ala Asp Leu Gly Leu Ala
          370                      375                      380
Val Lys Phe Asn Ser Asp Thr Asn Glu Val Asp Ile Pro Leu Asn Thr
385                      390                      395                      400
Arg Val Gly Thr Arg Arg Tyr Met Ala Pro Glu Val Leu Asp Glu Ser
          405                      410                      415
Leu Ser Lys Asn His Phe Gln Pro Tyr Ile Met Ala Asp Ile Tyr Ser
          420                      425                      430
Phe Gly Leu Ile Ile Trp Glu Met Ala Arg Arg Cys Ile Thr Gly Gly
          435                      440                      445
Ile Val Glu Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr Tyr Asn Met Val Pro Ser Asp
          450                      455                      460
Pro Ser Tyr Glu Asp Met Arg Glu Val Val Cys Val Lys Arg Leu Arg
465                      470                      475                      480
Pro Ile Val Ser Asn Arg Trp Asn Ser Asp Glu Cys Leu Arg Ala Val
          485                      490                      495
Leu Lys Leu Met Ser Glu Cys Trp Ala His Asn Pro Ala Ser Arg Leu
          500                      505                      510
Thr Ala Leu Arg Ile Lys Lys Thr Leu Ala Lys Met Val Glu Ser Gln
          515                      520                      525
Asp Val Lys Ile
          530

```

<210> 108
 <211> 502
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

```

<400> 108
Met Leu Leu Arg Ser Ala Gly Lys Leu Asn Val Gly Thr Lys Lys Glu
 1          5          10
Asp Gly Glu Ser Thr Ala Pro Thr Pro Arg Pro Lys Val Leu Arg Cys
          20          25          30
Lys Cys His His His Cys Pro Glu Asp Ser Val Asn Asn Ile Cys Ser
          35          40          45
Thr Asp Gly Tyr Cys Phe Thr Met Ile Glu Glu Asp Asp Ser Gly Leu
          50          55          60
Pro Val Val Thr Ser Gly Cys Leu Gly Leu Glu Gly Ser Asp Phe Gln
          65          70          75          80
Cys Arg Asp Thr Pro Ile Pro His Gln Arg Arg Ser Ile Glu Cys Cys
          85          90          95
Thr Glu Arg Asn Glu Cys Asn Lys Asp Leu His Pro Thr Leu Pro Pro
          100          105          110
Leu Lys Asn Arg Asp Phe Val Asp Gly Pro Ile His His Arg Ala Leu
          115          120          125
Leu Ile Ser Val Thr Val Cys Ser Leu Leu Leu Val Leu Ile Ile Leu
          130          135          140
Phe Cys Tyr Phe Arg Tyr Lys Arg Gln Glu Thr Arg Pro Arg Tyr Ser
          145          150          155          160
Ile Gly Leu Glu Gln Asp Glu Thr Tyr Ile Pro Pro Gly Glu Ser Leu
          165          170          175
Arg Asp Leu Ile Glu Gln Ser Gln Ser Ser Gly Ser Gly Ser Gly Leu
          180          185          190

```

10

Pro Leu Leu Val Gln Arg Thr Ile Ala Lys Gln Ile Gln Met Val Lys
 195 200 205
 Gln Ile Gly Lys Gly Arg Tyr Gly Glu Val Trp Met Gly Lys Trp Arg
 210 215 220
 Gly Glu Lys Val Ala Val Lys Val Phe Phe Thr Thr Glu Glu Ala Ser
 225 230 235 240
 Trp Phe Arg Glu Thr Glu Ile Tyr Gln Thr Val Leu Met Arg His Glu
 245 250 255
 Asn Ile Leu Gly Phe Ile Ala Ala Asp Ile Lys Gly Thr Gly Ser Trp
 260 265 270
 Thr Gln Leu Tyr Leu Ile Thr Asp Tyr His Glu Asn Gly Ser Leu Tyr
 275 280 285
 Asp Tyr Leu Lys Ser Thr Thr Leu Asp Ala Lys Ser Met Leu Lys Leu
 290 295 300
 Ala Tyr Ser Ser Val Ser Gly Leu Cys His Leu His Thr Glu Ile Phe
 305 310 315 320
 Ser Thr Gln Gly Lys Pro Ala Ile Ala His Arg Asp Leu Lys Ser Lys
 325 330 335
 Asn Ile Leu Val Lys Lys Asn Gly Thr Cys Cys Ile Ala Asp Leu Gly
 340 345 350
 Leu Ala Val Lys Phe Ile Ser Asp Thr Asn Glu Val Asp Ile Pro Pro
 355 360 365
 Asn Thr Arg Val Gly Thr Lys Arg Tyr Met Pro Pro Glu Val Leu Asp
 370 375 380
 Glu Ser Leu Asn Arg Asn His Phe Gln Ser Tyr Ile Met Ala Asp Met
 385 390 395 400
 Tyr Ser Phe Gly Leu Ile Leu Trp Glu Val Ala Arg Arg Cys Val Ser
 405 410 415
 Gly Gly Ile Val Glu Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr His Asp Leu Val Pro
 420 425 430
 Ser Asp Pro Ser Tyr Glu Asp Met Arg Glu Ile Val Cys Ile Lys Lys
 435 440 445
 Leu Arg Pro Ser Phe Pro Asn Arg Trp Ser Ser Asp Glu Cys Leu Arg
 450 455 460
 Gln Met Gly Lys Leu Met Thr Glu Cys Trp Ala His Asn Pro Ala Ser
 465 470 475 480
 Arg Leu Thr Ala Leu Arg Val Lys Lys Thr Leu Ala Lys Met Ser Glu
 485 490 495
 Ser Gln Asp Ile Lys Leu
 500

<210> 109
 <211> 502
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 109

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

5

10

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

<210> 110
 <211> 532
 <212> PRT
 <213> Rattus sp.

5

<400> 110

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

```

                405                410                415
Leu Ser Lys Asn His Phe Gln Pro Tyr Ile Met Ala Asp Ile Tyr Ser
                420                425                430
Phe Gly Leu Ile Ile Trp Glu Met Ala Arg Arg Cys Ile Thr Gly Gly
                435                440                445
Ile Val Glu Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr Tyr Asn Met Val Pro Ser Asp
                450                455                460
Pro Ser Tyr Glu Asp Met Arg Glu Val Val Cys Val Lys Arg Leu Arg
465                470                475                480
Pro Ile Val Ser Asn Arg Trp Asn Ser Asp Glu Cys Leu Arg Ala Val
                485                490                495
Leu Lys Leu Met Ser Glu Cys Trp Ala His Asn Pro Ala Ser Arg Leu
                500                505                510
Thr Ala Leu Arg Ile Lys Lys Thr Leu Ala Lys Met Val Glu Ser Gln
                515                520                525
Asp Val Lys Ile
                530

```

<210> 111
 <211> 530
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 111

```

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

```

10

Ile Ala Arg Phe Ile Val Gly Asp Glu Arg Val Thr Ala Asp Gly Arg
 260 265 270
 Met Glu Tyr Leu Leu Val Met Glu Tyr Tyr Pro Asn Gly Ser Leu Cys
 275 280 285
 Lys Tyr Leu Ser Leu His Thr Ser Asp Trp Val Ser Ser Cys Arg Leu
 290 295 300
 Ala His Ser Val Thr Arg Gly Leu Ala Tyr Leu His Thr Glu Leu Pro
 305 310 315 320
 Arg Gly Asp His Tyr Lys Pro Ala Ile Ser His Arg Asp Leu Asn Ser
 325 330 335
 Arg Asn Val Leu Val Lys Asn Asp Gly Thr Cys Val Ile Ser Asp Phe
 340 345 350
 Gly Leu Ser Met Arg Leu Thr Gly Asn Arg Leu Val Arg Pro Gly Glu
 355 360 365
 Glu Asp Asn Ala Ala Ile Ser Glu Val Gly Thr Ile Arg Tyr Met Ala
 370 375 380
 Pro Glu Val Leu Glu Gly Ala Val Asn Leu Arg Asp Cys Glu Ser Ala
 385 390 395 400
 Leu Lys Gln Val Asp Met Tyr Ala Leu Gly Leu Ile Tyr Trp Glu Ile
 405 410 415
 Phe Met Arg Cys Thr Asp Leu Phe Pro Gly Glu Ser Val Pro Glu Tyr
 420 425 430
 Gln Met Ala Phe Gln Thr Glu Val Gly Asn His Pro Thr Phe Glu Asp
 435 440 445
 Met Gln Val Leu Val Ser Arg Glu Lys Gln Arg Pro Lys Phe Pro Glu
 450 455 460
 Ala Trp Lys Glu Asn Ser Leu Ala Val Arg Ser Leu Lys Glu Thr Ile
 465 470 475 480
 Glu Asp Cys Trp Asp Gln Asp Ala Glu Ala Arg Leu Thr Ala Gln Cys
 485 490 495
 Ala Glu Glu Arg Met Ala Glu Leu Met Met Ile Trp Glu Arg Asn Lys
 500 505 510
 Ser Val Ser Pro Thr Val Asn Pro Met Ser Thr Ala Met Gln Asn Glu
 515 520 525
 Arg Arg
 530

<210> 112
 <211> 530
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 112

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

10

			100					105				110			
Tyr	Arg	Phe	Cys	Cys	Cys	Ser	Thr	Asp	Leu	Cys	Asn	Val	Asn	Phe	Thr
		115					120					125			
Glu	Asn	Phe	Pro	Pro	Pro	Asp	Thr	Thr	Pro	Leu	Ser	Pro	Pro	His	Ser
		130					135					140			
Phe	Asn	Arg	Asp	Glu	Thr	Ile	Ile	Ile	Ala	Leu	Ala	Ser	Val	Ser	Val
145					150					155					160
Leu	Ala	Val	Leu	Ile	Val	Ala	Leu	Cys	Phe	Gly	Tyr	Arg	Met	Leu	Thr
				165					170					175	
Gly	Asp	Arg	Lys	Gln	Gly	Leu	His	Ser	Met	Asn	Met	Met	Glu	Ala	Ala
			180					185					190		
Ala	Ser	Glu	Pro	Ser	Leu	Asp	Leu	Asp	Asn	Leu	Lys	Leu	Glu	Glu	Leu
		195					200					205			
Ile	Gly	Arg	Gly	Arg	Tyr	Gly	Ala	Val	Tyr	Lys	Gly	Ser	Leu	Asp	Glu
		210				215					220				
Arg	Pro	Val	Ala	Val	Lys	Val	Phe	Ser	Phe	Ala	Asn	Arg	Gln	Asn	Phe
225					230					235					240
Ile	Asn	Glu	Lys	Asn	Ile	Tyr	Arg	Val	Pro	Leu	Met	Glu	His	Asp	Asn
				245					250					255	
Ile	Ala	Arg	Phe	Ile	Val	Gly	Asp	Glu	Arg	Val	Thr	Ala	Asp	Gly	Arg
			260				265						270		
Met	Glu	Tyr	Leu	Leu	Val	Met	Glu	Tyr	Tyr	Pro	Asn	Gly	Ser	Leu	Cys
		275					280					285			
Lys	Tyr	Leu	Ser	Leu	His	Thr	Ser	Asp	Trp	Val	Ser	Ser	Cys	Arg	Leu
		290				295					300				
Ala	His	Ser	Val	Thr	Arg	Gly	Leu	Ala	Tyr	Leu	His	Thr	Glu	Leu	Pro
305					310					315					320
Arg	Gly	Asp	His	Tyr	Lys	Pro	Ala	Ile	Ser	His	Arg	Asp	Leu	Asn	Ser
			325						330					335	
Arg	Asn	Val	Leu	Val	Lys	Asn	Asp	Gly	Thr	Cys	Val	Ile	Ser	Asp	Phe
			340					345					350		
Gly	Leu	Ser	Met	Arg	Leu	Thr	Gly	Asn	Arg	Leu	Val	Arg	Pro	Gly	Glu
		355					360					365			
Glu	Asp	Asn	Ala	Ala	Ile	Ser	Glu	Val	Gly	Thr	Ile	Arg	Tyr	Met	Ala
		370				375					380				
Pro	Glu	Val	Leu	Glu	Gly	Ala	Val	Asn	Leu	Arg	Asp	Cys	Glu	Ser	Ala
385					390					395					400
Leu	Lys	Gln	Val	Asp	Met	Tyr	Ala	Leu	Gly	Leu	Ile	Tyr	Trp	Glu	Ile
				405 /					410					415	
Phe	Met	Arg	Cys	Thr	Asp	Leu	Phe	Pro	Gly	Glu	Ser	Val	Pro	Glu	Tyr
			420					425					430		
Gln	Met	Ala	Phe	Gln	Thr	Glu	Val	Gly	Asn	His	Pro	Thr	Phe	Glu	Asp
		435					440					445			
Met	Gln	Val	Leu	Val	Ser	Arg	Glu	Lys	Gln	Arg	Pro	Lys	Phe	Pro	Glu
		450				455					460				
Ala	Trp	Lys	Glu	Asn	Ser	Leu	Ala	Val	Arg	Ser	Leu	Lys	Glu	Thr	Ile
465					470					475					480
Glu	Asp	Cys	Trp	Asp	Gln	Asp	Ala	Glu	Ala	Arg	Leu	Thr	Ala	Gln	Cys
				485					490					495	
Ala	Glu	Glu	Arg	Met	Ala	Glu	Leu	Met	Met	Ile	Trp	Glu	Arg	Asn	Lys
			500					505					510		
Ser	Val	Ser	Pro	Thr	Val	Asn	Pro	Met	Ser	Thr	Ala	Met	Gln	Asn	Glu
			515				520					525			
Arg	Arg														
		530													

<210> 113
 <211> 1038
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 113

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

				405					410				415		
Phe	Met	Arg	Cys	Thr	Asp	Leu	Phe	Pro	Gly	Glu	Ser	Val	Pro	Glu	Tyr
			420					425					430		
Gln	Met	Ala	Phe	Gln	Thr	Glu	Val	Gly	Asn	His	Pro	Thr	Phe	Glu	Asp
		435					440					445			
Met	Gln	Val	Leu	Val	Ser	Arg	Glu	Lys	Gln	Arg	Pro	Lys	Phe	Pro	Glu
		450				455					460				
Ala	Trp	Lys	Glu	Asn	Ser	Leu	Ala	Val	Arg	Ser	Leu	Lys	Glu	Thr	Ile
465					470					475					480
Glu	Asp	Cys	Trp	Asp	Gln	Asp	Ala	Glu	Ala	Arg	Leu	Thr	Ala	Gln	Cys
				485				490						495	
Ala	Glu	Glu	Arg	Met	Ala	Glu	Leu	Met	Met	Ile	Trp	Glu	Arg	Asn	Lys
			500					505					510		
Ser	Val	Ser	Pro	Thr	Val	Asn	Pro	Met	Ser	Thr	Ala	Met	Gln	Asn	Glu
		515					520					525			
Arg	Asn	Leu	Ser	His	Asn	Arg	Arg	Val	Pro	Lys	Ile	Gly	Pro	Tyr	Pro
	530					535					540				
Asp	Tyr	Ser	Ser	Ser	Ser	Tyr	Ile	Glu	Asp	Ser	Ile	His	His	Thr	Asp
545					550					555					560
Ser	Ile	Val	Lys	Asn	Ile	Ser	Ser	Glu	His	Ser	Met	Ser	Ser	Thr	Pro
				565					570					575	
Leu	Thr	Ile	Gly	Glu	Lys	Asn	Arg	Asn	Ser	Ile	Asn	Tyr	Glu	Arg	Gln
			580					585					590		
Gln	Ala	Gln	Ala	Arg	Ile	Pro	Ser	Pro	Glu	Thr	Ser	Val	Thr	Ser	Leu
		595				600						605			
Ser	Thr	Asn	Thr	Thr	Thr	Thr	Asn	Thr	Thr	Gly	Leu	Thr	Pro	Ser	Thr
	610					615					620				
Gly	Met	Thr	Thr	Ile	Ser	Glu	Met	Pro	Tyr	Pro	Asp	Glu	Thr	Asn	Leu
625					630					635					640
His	Thr	Thr	Asn	Val	Ala	Gln	Ser	Ile	Gly	Pro	Thr	Pro	Val	Cys	Leu
			645						650					655	
Gln	Leu	Thr	Glu	Glu	Asp	Leu	Glu	Thr	Asn	Lys	Leu	Asp	Pro	Lys	Glu
			660					665					670		
Val	Asp	Lys	Asn	Leu	Lys	Glu	Ser	Ser	Asp	Glu	Asn	Leu	Met	Glu	His
		675				680						685			
Ser	Leu	Lys	Gln	Phe	Ser	Gly	Pro	Asp	Pro	Leu	Ser	Ser	Thr	Ser	Ser
	690					695					700				
Ser	Leu	Leu	Tyr	Pro	Leu	Ile	Lys	Leu	Ala	Val	Glu	Ala	Thr	Gly	Gln
705					710					715					720
Gln	Asp	Phe	Thr	Gln	Thr	Ala	Asn	Gly	Gln	Ala	Cys	Leu	Ile	Pro	Asp
				725				730						735	
Val	Leu	Pro	Thr	Gln	Ile	Tyr	Pro	Leu	Pro	Lys	Gln	Gln	Asn	Leu	Pro
			740					745						750	
Lys	Arg	Pro	Thr	Ser	Leu	Pro	Leu	Asn	Thr	Lys	Asn	Ser	Thr	Lys	Glu
		755					760					765			
Pro	Arg	Leu	Lys	Phe	Gly	Ser	Lys	His	Lys	Ser	Asn	Leu	Lys	Gln	Val
	770					775						780			
Glu	Thr	Gly	Val	Ala	Lys	Met	Asn	Thr	Ile	Asn	Ala	Ala	Glu	Pro	His
785					790					795					800
Val	Val	Thr	Val	Thr	Met	Asn	Gly	Val	Ala	Gly	Arg	Asn	His	Ser	Val
				805					810					815	
Asn	Ser	His	Ala	Ala	Thr	Thr	Gln	Tyr	Ala	Asn	Gly	Thr	Val	Leu	Ser
			820					825					830		
Gly	Gln	Thr	Thr	Asn	Ile	Val	Thr	His	Arg	Ala	Gln	Glu	Met	Leu	Gln
		835					840					845			
Asn	Gln	Phe	Ile	Gly	Glu	Asp	Thr	Arg	Leu	Asn	Ile	Asn	Ser	Ser	Pro
	850					855						860			

Asp Glu His Glu Pro Leu Leu Arg Arg Glu Gln Gln Ala Gly His Asp
 865 870 875 880
 Glu Gly Val Leu Asp Arg Leu Val Asp Arg Arg Glu Arg Pro Leu Glu
 885 890 895
 Gly Gly Arg Thr Asn Ser Asn Asn Asn Asn Ser Asn Pro Cys Ser Glu
 900 905 910
 Gln Asp Val Leu Ala Gln Gly Val Pro Ser Thr Ala Ala Asp Pro Gly
 915 920 925
 Pro Ser Lys Pro Arg Arg Ala Gln Arg Pro Asn Ser Leu Asp Leu Ser
 930 935 940
 Ala Thr Asn Val Leu Asp Gly Ser Ser Ile Gln Ile Gly Glu Ser Thr
 945 950 955 960
 Gln Asp Gly Lys Ser Gly Ser Gly Glu Lys Ile Lys Lys Arg Val Lys
 965 970 975
 Thr Pro Tyr Ser Leu Lys Arg Trp Arg Pro Ser Thr Trp Val Ile Ser
 980 985 990
 Thr Glu Ser Leu Asp Cys Glu Val Asn Asn Asn Gly Ser Asn Arg Ala
 995 1000 1005
 Val His Ser Lys Ser Ser Thr Ala Val Tyr Leu Ala Glu Gly Gly Thr
 1010 1015 1020
 Ala Thr Thr Met Val Ser Lys Asp Ile Gly Met Asn Cys Leu
 1025 1030 1035

<210> 114
 <211> 1038
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 114

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

10

Val Asp Lys Asn Leu Lys Glu Ser Ser Asp Glu Asn Leu Met Glu His
675 680 685
Ser Leu Lys Gln Phe Ser Gly Pro Asp Pro Leu Ser Ser Thr Ser Ser
690 695 700
Ser Leu Leu Tyr Pro Leu Ile Lys Leu Ala Val Glu Ala Thr Gly Gln
705 710 715 720
Gln Asp Phe Thr Gln Thr Ala Asn Gly Gln Ala Cys Leu Ile Pro Asp
725 730 735
Val Leu Pro Thr Gln Ile Tyr Pro Leu Pro Lys Gln Gln Asn Leu Pro
740 745 750
Lys Arg Pro Thr Ser Leu Pro Leu Asn Thr Lys Asn Ser Thr Lys Glu
755 760 765
Pro Arg Leu Lys Phe Gly Ser Lys His Lys Ser Asn Leu Lys Gln Val
770 775 780
Glu Thr Gly Val Ala Lys Met Asn Thr Ile Asn Ala Ala Glu Pro His
785 790 795 800
Val Val Thr Val Thr Met Asn Gly Val Ala Gly Arg Asn His Ser Val
805 810 815
Asn Ser His Ala Ala Thr Thr Gln Tyr Ala Asn Arg Thr Val Leu Ser
820 825 830
Gly Gln Thr Thr Asn Ile Val Thr His Arg Ala Gln Glu Met Leu Gln
835 840 845
Asn Gln Phe Ile Gly Glu Asp Thr Arg Leu Asn Ile Asn Ser Ser Pro
850 855 860
Asp Glu His Glu Pro Leu Leu Arg Arg Glu Gln Gln Ala Gly His Asp
865 870 875 880
Glu Gly Val Leu Asp Arg Leu Val Asp Arg Arg Glu Arg Pro Leu Glu
885 890 895
Gly Gly Arg Thr Asn Ser Asn Asn Asn Asn Ser Asn Pro Cys Ser Glu
900 905
Gln Asp Val Leu Ala Gln Gly Val Pro Ser Thr Ala Ala Asp Pro Gly
915 920 925
Pro Ser Lys Pro Arg Arg Ala Gln Arg Pro Asn Ser Leu Asp Leu Ser
930 935 940
Ala Thr Asn Val Leu Asp Gly Ser Ser Ile Gln Ile Gly Glu Ser Thr
945 950 955 960
Gln Asp Gly Lys Ser Gly Ser Gly Glu Lys Ile Lys Lys Arg Val Lys
965 970 975
Thr Pro Tyr Ser Leu Lys Arg Trp Arg Pro Ser Thr Trp Val Ile Ser
980 985 990
Thr Glu Ser Leu Asp Cys Glu Val Asn Asn Asn Gly Ser Asn Arg Ala
995 1000 1005
Val His Ser Lys Ser Ser Thr Ala Val Tyr Leu Ala Glu Gly Gly Thr
1010 1015 1020
Ala Thr Thr Met Val Ser Lys Asp Ile Gly Met Asn Cys Leu
1025 1030 1035

<210> 115
<211> 1038
5 <212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 115

Met Thr Ser Ser Leu Gln Arg Pro Trp Arg Val Pro Trp Leu Pro Trp
1 5 10 15
Thr Ile Leu Leu Val Ser Thr Ala Ala Ala Ser Gln Asn Gln Glu Arg

10

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

Glu Asp Cys Trp Asp Gln Asp Ala Glu Ala Arg Leu Thr Ala Gln Cys
 485 490 495
 Ala Glu Glu Arg Met Ala Glu Leu Met Met Ile Trp Glu Arg Asn Lys
 500 505 510
 Ser Val Ser Pro Thr Val Asn Pro Met Ser Thr Ala Met Gln Asn Glu
 515 520 525
 Arg Asn Leu Ser His Asn Arg Arg Val Pro Lys Ile Gly Pro Tyr Pro
 530 535 540
 Asp Tyr Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Glu Asp Ser Ile His His Thr Asp
 545 550 555 560
 Ser Ile Val Lys Asn Ile Ser Ser Glu His Ser Met Ser Ser Thr Pro
 565 570 575
 Leu Thr Ile Gly Glu Lys Asn Arg Asn Ser Ile Asn Tyr Glu Arg Gln
 580 585 590
 Gln Ala Gln Ala Arg Ile Pro Ser Pro Glu Thr Ser Val Thr Ser Leu
 595 600 605
 Ser Thr Asn Thr Thr Thr Thr Asn Thr Thr Gly Leu Thr Pro Ser Thr
 610 615 620
 Gly Met Thr Thr Ile Ser Glu Met Pro Tyr Pro Asp Glu Thr Asn Leu
 625 630 635 640
 His Thr Thr Asn Val Ala Gln Ser Ile Gly Pro Thr Pro Val Cys Leu
 645 650 655
 Gln Leu Thr Glu Glu Asp Leu Glu Thr Asn Lys Leu Asp Pro Lys Glu
 660 665 670
 Val Asp Lys Asn Leu Lys Glu Ser Ser Asp Glu Asn Leu Met Glu His
 675 680 685
 Ser Leu Lys Gln Phe Ser Gly Pro Asp Pro Leu Ser Ser Thr Ser Ser
 690 695 700
 Ser Leu Leu Tyr Pro Leu Ile Lys Leu Ala Val Glu Ala Thr Gly Gln
 705 710 715 720
 Gln Asp Phe Thr Gln Thr Ala Asn Gly Gln Ala Cys Leu Ile Pro Asp
 725 730 735
 Val Leu Pro Thr Gln Ile Tyr Pro Leu Pro Lys Gln Gln Asn Leu Pro
 740 745 750
 Lys Arg Pro Thr Ser Leu Pro Leu Asn Thr Lys Asn Ser Thr Lys Glu
 755 760 765
 Pro Arg Leu Lys Phe Gly Ser Lys His Lys Ser Asn Leu Lys Gln Val
 770 775 780
 Glu Thr Gly Val Ala Lys Met Asn Thr Ile Asn Ala Ala Glu Pro His
 785 790 795 800
 Val Val Thr Val Thr Met Asn Gly Val Ala Gly Arg Asn His Ser Val
 805 810 815
 Asn Ser His Ala Ala Thr Thr Gln Tyr Ala Asn Arg Thr Val Leu Ser
 820 825 830
 Gly Gln Thr Thr Asn Ile Val Thr His Arg Ala Gln Glu Met Leu Gln
 835 840 845
 Asn Gln Phe Ile Gly Glu Asp Thr Arg Leu Asn Ile Asn Ser Ser Pro
 850 855 860
 Asp Glu His Glu Pro Leu Leu Arg Arg Glu Gln Gln Ala Gly His Asp
 865 870 875 880
 Glu Gly Val Leu Asp Arg Leu Val Asp Arg Arg Glu Arg Pro Leu Glu
 885 890 895
 Gly Gly Arg Thr Asn Ser Asn Asn Asn Asn Ser Asn Pro Cys Ser Glu
 900 905 910
 Gln Asp Val Leu Ala Gln Gly Val Pro Ser Thr Ala Ala Asp Pro Gly
 915 920 925
 Pro Ser Lys Pro Arg Arg Ala Gln Arg Pro Asn Ser Leu Asp Leu Ser

930						935						940					
Ala	Thr	Asn	Val	Leu	Asp	Gly	Ser	Ser	Ile	Gln	Ile	Gly	Glu	Ser	Thr		
945						950						955					960
Gln	Asp	Gly	Lys	Ser	Gly	Ser	Gly	Glu	Lys	Ile	Lys	Lys	Arg	Val	Lys		
				965						970							975
Thr	Pro	Tyr	Ser	Leu	Lys	Arg	Trp	Arg	Pro	Ser	Thr	Trp	Val	Ile	Ser		
			980						985								990
Thr	Glu	Ser	Leu	Asp	Cys	Glu	Val	Asn	Asn	Asn	Gly	Ser	Asn	Arg	Ala		
		995					1000						1005				
Val	His	Ser	Lys	Ser	Ser	Thr	Ala	Val	Tyr	Leu	Ala	Glu	Gly	Gly	Thr		
	1010						1015						1020				
Ala	Thr	Thr	Met	Val	Ser	Lys	Asp	Ile	Gly	Met	Asn	Cys	Leu				
1025						1030							1035				

<210> 116
 <211> 2932
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 116

```

gctccgcgcc gagggctgga ggatgcgttc cctgggggtcc ggacttatga aaatatgcat 60
cagtttaata ctgtccttga atlcatgaga tgggaagcata ggtcaaagct gtttggagaa 120
aatcagaagt acagttttat ctagccacat cttggaggag tcgtaagaaa gcagtgaggag 180
ttgaagtcac tgtcaagtgc ttgcgatcct ttacaagaaa atctcactga atgatagtc 240
tttaaatgg tgaagtagca agaccaatta ttaaagggtga cagtacacag gaaacattac 300
aattgaacaa tgactcagct atacatttac atcagattat tgggagccta tttgttcac 360
atctctcgtg ttcaaggaca gaatctggat agtatgcttc atggcactgg gatgaaatca 420
gactccgacc agaaaaagtc agaaaatgga gtaaccttag caccagagga taccttgcc 480
tttttaaagt gctattgctc agggcactgt ccagatgatg ctattaataa cacatgcata 540
actaatggac attgctttgc catcatagaa gaagatgacc agggagaaac cacattagct 600
tcaggggtga tgaatatatga aggatctgat tttcagtgoa aagattctcc aaaagcccag 660
ctacgccgga caatagaatg ttgtcggacc aatttatgta accagtatct gcaaccaca 720
ctgccccctg ttgtcatagg tccgtttttt gatggcagca ttcgatggct ggttttgctc 780
atctctatgg ctgtctgcat aattgctatg atcatctctc ccagctgctt ttgttcaaaa 840
cattattgca agagcatctc aagcagacgt cgttacaatc gtgatttggg acaggatgaa 900
gcatttattc cagttggaga atcactaaaa gacctattg accagtcaca aagttctgg 960
agtgggtctg gactaccttt attggttcag cgaactattg ccaaacagat tcagatgg 1020
cggcaagttg gtaaaaggccg atatggagaa gtatggatgg gcaaatggcg tggcgaaaaa 1080
gtggcgggtg aagtattctt taccactgaa gaagccagct ggtttcgaga aacagaaatc 1140
taccaaaactg tgctaatgog ccatgaaaac atacttgggt tcatagcggc agacattaaa 1200
ggtacaggtt cctggactca gctctatttg attactgatt accatgaaa tggatctctc 1260
tatgacttcc tgaaatgtgc tacactggac accagagccc tgcttaaat ggcttattca 1320
gctgctgtg gtctgtgcca cctgcacaca gaaatttatg gcaccaagg aaagcccgca 1380
attgctcatc gagacctaaa gagcaaaaac atcctcatca agaaaaatgg gagttgctgc 1440
attgctgacc tgggccttgc tgttaaattc aacagtgaca caaatgaagt tgatgtgcc 1500
ttgaatacca ggggtgggac caaacgctac atggctcccg aagtgtgga cgaaagcctg 1560
aacaataaac acttccagcc ctacatcatg gctgacatct acagcttccg ctaatcatt 1620
tgggagatgg ctcgtcgttg tatcacagga gggatcgtgg aagaatacca attgccat 1680
tacaacatgg taccgagtga tccgtcatac gaagatagc gtgaggtgt gtgtgtcaa 1740
cgtttgcggc caattgtgtc taatcgggtg aacagtgatg aatgtctacg agcagttttg 1800
aagctaatgt cagaatgctg ggcccacaat ccagcctcca gactcacagc attgagaatt 1860
aagaagacgc ttgccaagat ggttgaatcc caagatgtaa aaatctgatg gttaaacct 1920
cggaggagaa actctagact gcaagaactg tttttacca tggcatgggt ggaattagag 1980
tggaaataagg atgttaactt ggttctcaga ctcttcttc actacgtgtt cacaggctgc 2040
taatattaaa cctttcagta ctcttattag gatacaagct gggaaactct aaacacttca 2100
ttctttatat atggacagct ttattttaaa tgtgtgtttt gatgcctttt ttttaagtgg 2160
tttttatgaa ctgcatcaag acttcaatcc tgattagtgt ctccagtcaa gctctgggta 2220
    
```

10

```

ctgaattgcc tgttcataaa acggtgcttt ctgtgaaagc cttagaaga taaatgagcg 2280
cagcagagat ggagaaatag actttgcctt ttacctgaga cattcagttc gtttgtattc 2340
tacctttgta aaacagccta tagatgatga tgtgtttggg atactgctta ttttatgata 2400
gtttgtcctg tgtccttagt gatgtgtgtg tgtctccatg cacatgcacg ccgggattcc 2460
tctgctgcc a ttgaattag aagaaaataa tttatatgca tgcacaggaa gatattgggtg 2520
gccgggtggt ttgtgcttta aaaatgcaat atctgaccaa gattcgccaa tctcatataa 2580
gccatttact ttgcaagtga gatagcttcc ccaccagctt tattttttaa catgaaagct 2640
gatgccaaag ccaaaaagaag tttaaagcat ctgtaaattt ggactgtttt ccttcaacca 2700
ccattttttt tgtggttatt atttttgtca cggaaagcat cctctccaaa gttggagctt 2760
ctattgccat gaaccatgct tacaagaaa gcacttetta ttgaagtga tctctgcatt 2820
tgatagcaat gtaagtgcct ataaccatgt tctatattct ttattctcag taacttttaa 2880
aaggggaagtt atttatattt tgtgtataat gtgcttttatt tgcaaatcac cc 2932

```

<210> 117
 <211> 1575
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 117

```

gcaaacttcc ttgataacat gcttttgcca agtgcaggaa aattaaatgt gggcaccag 60
aaagaggatg gtgagagtac agccccacc ccccgccaa aggtcttgcg ttgtaaatgc 120
caccaccatt gtccagaaga ctcagtcaac aatatttgca gcacagacgg atattgtttc 180
acgatgatag aagaggatga ctctgggttg cctgtggtca cttctggttg cctaggacta 240
gaaggctcag attttcagtg tggggacact cccattcctc atcaaagaag atcaattgaa 300
tgctgcacag aaaggaacga atgtaataaa gacctacacc ctacactgcc tccattgaaa 360
aacagagatt ttgttgatgg acctatacac cacagggtt tacttatatc tgtgactgtc 420
tgtagtttgc tcttggctct tatcatatta ttttgttact tccggtataa aagacaagaa 480
accgacctc gatcacgat tgggttagaa caggatgaaa cttacattcc tctgggagaa 540
tccctgagag acttaattga gcagtctcag agctcaggaa gtggatcagg cctccctctg 600
ctgggtccaaa ggactatagc taagcagatt cagatggtga aacagattgg aaaaggtcgc 660
tatggggaag ttgggatggg aaagtggcgt ggcgaaaagg tagctgtgaa agtgttcttc 720
accacagagg aagccagctg gttcagagag acagaaatat atcagacagt gttgatgagg 780
catgaaaaca ttttgggttt cattgctgca gatatcaaag ggacagggtc ctggaccag 840
ttgtacctaa tcacagacta tcatgaaaat ggttcccttt atgattatct gaagtccacc 900
acctagacg ctaaatcaat gctgaagtta gctactctt ctgtcagtgg cttatgtcat 960
ttacacacag aaatctttag tactcaaggc aaaccagcaa ttgcccctcg agatctgaaa 1020
agtaaaaaca ttctgggtgaa gaaaaatgga acttgctgta ttgctgacct gggcctggct 1080
gttaaattta ttagtgatag aatgaagtt gacataccac ctaacactcg agttggcacc 1140
aaacgctata tgctccaga agtgttggac gagagcttga acagaaatca cttccagctc 1200
tacaatcatg ctgacatgta tagttttggc ctcatccttt gggaggttgc taggagatgt 1260
gtatcaggag gtatagtgga agaataccag ctctccttct atgacctagt gcccagtgac 1320
ccctcttatg aggacatgag ggagattgtg tgcatcaaga agttacgcc ctcattccca 1380
aacgggtgga gcagtgatga gtgtctaaag cagatgggaa aactcatgac agaattgctgg 1440
gctcacaatc ctgcatcaag gctgacagcc ctgcggttga agaaaacact tgccaaaatg 1500
tcagagtccc aggacattaa actctgatag gagaggaaaa gtaagcatct ctgcagaaag 1560
ccaacaggt a ccctt 1575

```

10

<210> 118
 <211> 2032
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 118

```

cgcggggcgc ggagtgcgc gggcctcgc ggacgcgggc agtgcggaga ccgcggcct 60
gaggacgcgc gagccgggag cgcacgcgc ggggtggagt cagcctactc tttcttagat 120
gtgaaaggaa aggaagatca tttcatgcct tgttgataaa ggttcagact tctgctgatt 180
cataaccatt tggctctgag ctatgacaag agaggaaaca aaaagttaa cttacaagcc 240

```

20

tgccataagt	gagaagcaaa	cttccttgat	aacatgcttt	tgcgaagtgc	aggaaaatta	300
aatgtgggca	ccaagaaaga	ggatgggtgag	agtacagecc	ccaccccccg	tccaaagggtc	360
ttgcggttga	aatgccacca	ccattgtcca	gaagactcag	tcaacaatat	ttgcagcaca	420
gacggatatt	gtttcacgat	gatagaagag	gatgactctg	ggttgcctgt	ggtcacttct	480
ggttgcctag	gactagaagg	ctcagatfff	cagtgtcggg	acactcccat	tcctcatcaa	540
agaagatcaa	ttgaatgctg	cacagaaagg	aacgaatgta	ataaagacct	acaccctaca	600
ctgcctccat	tgaaaaacag	agatfffgtt	gatggacctt	tacaccacag	ggctttactt	660
atatctgtga	ctgtctgtag	tttgetcttg	gtccttatca	tattatfff	ttacttcogg	720
tataaaagac	aagaaaccag	acctcgatac	agcattgggt	tagaacagga	tgaaacttac	780
attcctcctg	gagaatccct	gagagactta	attgagcagt	ctcagagctc	aggaagtgga	840
tcaggcctcc	ctctgctggg	ccaaaggact	atagctaagc	agattcagat	gggtgaaacag	900
attggaaaag	gtcgctatgg	ggaagtftgg	atgggaaagt	ggcgtggcga	aaaggtagct	960
gtgaaagtgt	tcttcaccac	agaggaagcc	agctggttca	gagagacaga	aatatatcag	1020
acagtgttga	tgaggcatga	aaacatfff	ggtttcattg	ctgcagatat	caaagggaca	1080
gggtcctgga	cccagttgta	cctaatacaca	gactatcatg	aaaatggttc	cctttatgat	1140
tatctgaag	ccaccacct	agacgctaaa	tcaatgtcga	agttagccta	ctcttctgtc	1200
agtggcttat	gtcatttaca	cacagaaatc	tttagtactc	aaggcaaac	agcaattgcc	1260
catcgagatc	tgaaaagtaa	aaacattctg	gtgaagaaaa	atggaaactg	ctgtattgct	1320
gacctgggoc	tggctgttaa	atftattagt	gatacaaatg	aagttgacat	accacctaac	1380
actcgagttg	gcaccaaacg	ctatatgcct	ccagaagtgt	tggacgagag	cttgaacaga	1440
aatcacttcc	agtcttacat	catggctgac	atgtatagtt	ttggcctcat	cctttggggag	1500
gttgctagga	gatgtgtatc	aggaggtata	gtggaagaat	accagcttcc	ttatcatgac	1560
ctagtgcoca	gtgacccctc	ttatgaggac	atgagggaga	ttgtgtgcat	caagaagtta	1620
cgccctcat	tcccaaaccg	gtggagcagt	gatgaggtc	taaggcagat	gggaaaactc	1680
atgacagaat	gctgggctca	caatcctgca	tcaaggctga	cagccctgcg	ggttaagaaa	1740
acacttgcca	aaatgtcaga	gtcccaggac	attaaactct	gataggagag	gaaaagtaag	1800
catctctgca	gaaageccac	aggtactctt	ctgfttgtgg	gcagagcaaa	agacatcaaa	1860
taagcatcca	cagtacaagc	cftgaaacatc	gtcctgcttc	ccagtgggtt	cagacctcac	1920
ctttcagggg	gcgacctggg	caaagacaga	gaagctccca	gaaggagaga	ttgatccgtg	1980
tctgtttgta	ggcggagaaa	ccgttgggta	acttgttcaa	gatatgatgc	at	2032

<210> 119
 <211> 3167
 <212> ADN
 <213> Rattus sp.

5

<400> 119

gaattcatga	gatggaaaca	taggtcaaag	ctgfttggag	aaattggaac	tacagtttta	60
tctagccaca	tctctgagaa	gtctgaagaa	agcagcaggt	gaaagtcat	gtcaagtgat	120
tttgttcttc	tgtaaaggaaa	cctcgttcag	taaggccgtt	tacttcagtg	aaacagcagg	180
accagtaatc	aaggtggccc	ggacaggaca	cgtgcgaatt	ggacaatgac	tcagctatac	240
acttacatca	gattactggg	agcctgtctg	ttcatcattt	ctcatgttca	agggcagaat	300
ctagatagta	tgtccatggg	tactggtatg	aaatcagacg	tggaccagaa	gaagccggaa	360
aatggagtga	cgttagcacc	agaggacacc	ttacctttct	taaaatgcta	ttgctcagga	420
cactgcccag	atgacgctat	taataacaca	tgcataacta	atggccattg	ctttgccatt	480
atagaagaag	atgatcaggg	agaaaccacg	ttacttctg	ggtgtatgaa	gtatgaaggc	540
tctgattttc	aatgcaagga	ttcaccaaaa	gccagctac	gcaggacaat	agaatgttgt	600
cggaaccaatt	tgtgcaacca	atatttgcag	ctacactgc	cccctgtcgt	tataggcca	660
ttctttgatg	gcagcgtccg	atggctggct	gtgctcatct	ctatggctgt	ctgtattgtc	720
goccatgatcg	tcttctccag	ctgcttctgt	tacaaacatt	actgtaagag	tatctcaagc	780
agaggtcgtt	acaaccgtga	cttggaaacag	gatgaagcat	ttattccagt	aggagaatca	840
ctgaaagacc	tgattgacca	gtcacaaagc	tctggtagtg	gatctggatt	acctttattg	900
gttcagcgaa	ctattgccc	acagattcag	atggttcggc	aggttggtaa	aggccgggat	960
ggagaagtat	ggatgggtaa	atggcgtggg	gaaaaagtgg	ctgtcaaat	atfttttacc	1020
actgaagaag	ctagctgggt	tagagaaaca	gaaacttacc	agacggtgtt	gactcgtcat	1080
gaaaatatac	ttggttttat	agctgcagac	attaaaggca	cgggttctctg	gactcagctg	1140
tatttgatta	ctgattacca	tgagaatggg	tctctctatg	acttctctgaa	atgtgccacc	1200

10

ctggacacca	gagccctact	caagttagct	tattctgctg	cctgtggctc	gtgccacctc	1260
cacacagaaa	tttatggcac	gcaaggcaag	cctgcaattg	ctcatcgaga	cctgaagagc	1320
aaaaacatcc	ttattaagaa	aaatggtagt	tgctgtattg	ctgacctggg	cctagctggt	1380
aaattcaaca	gtgacacaaa	tgaagttgac	atacccttga	acaccagggg	gggcaccagg	1440
cggtacatgg	ctccagaagt	gctggacgag	agcctgagta	aaaaccattt	ccagccctac	1500
atcatggctg	acatctacag	ctttggtttg	atcatttggg	agatggcccc	tcgctgtatt	1560
acaggaggaa	tcgtggagga	atatcaatta	ccatattaca	acatgggtgc	tagtgacca	1620
tcttatgaag	acatgcgtga	ggtcgtgtgt	gtgaaacgct	tgccggccaat	cgtctctaac	1680
cgctggaaca	gtgatgaatg	tcttcgagcc	gttttgaagc	tgatgtcaga	atgctgggcc	1740
cataatccag	catccagact	cacagctttg	agaatcaaga	agacgctcgc	aaagatggtt	1800
gaatcccagg	atgtaaagat	ttgacaaaaca	gttttgagaa	agaatttaga	ctgcaagaaa	1860
ttcaccogag	gaagggtgga	gttagcatgg	actaggatgt	eggcttgggt	tccagactct	1920
ctcctctaca	tcttcacagg	ctgctaacag	taaactttca	ggactctgca	gaatgcaggg	1980
ttggagcttc	agacatagga	cttcagacat	gctgttcttt	gcgtatggac	agctttggtt	2040
taaatgtggg	cttttgatgc	ctttttgggt	tttatgaatt	gcatcaagac	tccaatcctg	2100
ataagaagtc	tctggtcaaa	ctctggttac	tcactatcct	gtccataaag	tggtgctttc	2160
tgtgaaagcc	ttaaggaaat	tagtgagctc	agcagagatg	gagaaaggca	tatttgccct	2220
ctacagagaa	aatatctgtc	tgtgttctgt	ctctgtaaac	agcctggact	atgatctctt	2280
tgggatgctg	cctggttgat	gatgggtgat	catgcctctg	atatgcatac	cagacttctt	2340
ctgctgccat	gggcttacia	gacaagaatg	tgaagggtgc	acaggacggg	atltgtggcc	2400
agtggtttaa	atatgcaata	tctaactcgac	attcgccaat	ctcataaaaag	ccatctacct	2460
tgtaactgaa	gtaacttctc	taccaacttt	atltttagca	taatagttgt	aaaggccaaa	2520
ctatgtataa	agtgtccata	gactcgaact	gttttctctc	agtcaccatt	ttgttttctt	2580
tttgtaatt	atltttgta	tataattcct	cctatccaga	attggcgctc	actgtcttga	2640
accatacttt	gaaagaaatg	cctcttctctg	gagtctgcct	tactgcactc	gatcaccatg	2700
tgcatacctc	tgatcaaatt	ctggagtctt	tgttctcggt	acctcttaaa	aagggaaatt	2760
gtgtatcatg	tgtagtgtgc	ttttatlttc	aaaacttca	tagcctttat	tctagccatt	2820
tttacctaca	tactcattct	gtacaaaaca	gctcactcgg	tctcacggct	gatcctcagt	2880
ggaaatgatt	taaagtagag	ctgtgtacga	atlttcagaat	tcatgtatlt	aaaaacttca	2940
cactaacact	ttactaagat	attgtctcat	atcctttatg	aggatgtcag	ctgattttca	3000
atgactataa	atgtatctta	gctatctaaa	tcttttgaaa	tttggtttta	taatttctgg	3060
tcocctaactt	gtgaagacaa	agagycagaa	gtaccagctc	taccacattt	acactgtaca	3120
ttatttaata	aaaaaatgta	tatttttaaaa	aaaaaaaaaaa	aaaaaaa		3167

<210> 120
 <211> 3167
 <212> ADN
 <213> Rattus norvegicus

5

<400> 120

gaattcatga	gatggaaaca	taggtcaaag	ctglttgagg	aaattggaac	tacaglttta	60
tctagccaca	tctctgagaa	gtctgaagaa	agcagcaggt	gaaagtcatt	gtcaagtgat	120
tttgttcttc	tgttaaggaaa	cctcgttcag	taaggccggt	tacttcagtg	aaacagcagg	180
accagtaatc	aaggtagccc	ggacaggaca	cgtgcgaatt	ggacaatgac	tcagctatac	240
acttacatca	gattactggg	agcctgtctg	ttcatcattt	ctcatgttca	agggcagaat	300
ctagatagta	tgtctcatgg	tactggtagt	aaatcagacg	tggaccagaa	gaagccggaa	360
aatggagtga	cgttagcacc	agaggacacc	ttacctttct	taaaatgcta	ttgctcagga	420
cactgccccag	atgacgctat	taataacaca	tgcataacta	atggccattg	ctttgcccatt	480
atagaagaag	atgatcaggg	agaaaccacg	ttaacttctg	ggtgtatgaa	gtatgaaggc	540
tctgattttc	aatgcaagga	ttcaccaaaa	gccagctac	gcaggacaat	agaatgltgt	600
cggaccaatt	tgtgcaacca	atatttgacg	cctacactgc	cccctgtcgt	tataggccca	660
ttctttgatg	gcagcgtccg	atggctggct	gtgctcatct	ctatggctgt	ctgtattgtc	720
gccatgatcg	tcttctccag	ctgcttctgt	tacaaacatt	actgtaagag	tatctcaagc	780
agaggctcgtt	acaaccgtga	cttggaaacag	gatgaagcat	ttattccagt	aggagaatca	840
ctgaaagacc	tgattgacca	gtcacaaaagc	tctggtagtg	gatctggatt	acctttattg	900
gttcagcgaa	ctattgccaa	acagattcag	atggttcggc	aggttggtaa	aggccgggat	960
ggagaagtat	ggatgggtaa	atggcgtggg	gaaaaagtgg	ctgtcaaagt	atltttttacc	1020

10

actgaagaag ctagctgggt tagagaaaca gaaatctacc agacgggtgt aatgcgtcat 1080
gaaaatatac ttggttttat agctgcagac attaaaggca ccggttcctg gactcagctg 1140
tatttgatta ctgattacca tgagaatggg tctctctatg acttcctgaa atgtgccacc 1200
ctggacacca gagccctact caagttagct tattctgctg cctgtggctc gtgccacctc 1260
cacacagaaa tttatggcac gcaaggcaag cctgcaattg ctcatcgaga cctgaagagc 1320
aaaaacatcc ttattaagaa aaatggtagt tgctgtattg ctgacctggg cctagctgtt 1380
aaattcaaca gtgacacaaa tgaagttgac atacccttga acaccagggt gggcaccagg 1440
cggtagatgg ctccagaagt gctggacgag agcctgagta aaaaccattt ccagccctac 1500
atcatggctg acatctacag ctttggtttg atcatttggg agatggcccg tcgctgtatt 1560
acaggaggaa tctgtggagg atatcaatta ccatattaca acatggtgcc tagtgacca 1620
tcttatgaag acatgcgtga ggtcgtgtgt gtgaaacgct tgccggccaat cgtctctaac 1680
cgctggaaca gtgatgaatg tcttcgagcc gttttgaagc tgatgtcaga atgctgggcc 1740
cataatccag catccagact cacagctttg agaatcaaga agacgctcgc aaagatgggt 1800
gaatcccagg atgtaaagat ttgacaaaca gttttgagaa agaattttaga ctgcaagaaa 1860
ttcacccgag gaaggggtgga gtttagcatgg actaggatgt cggcttgggt tccagactct 1920
ctcctctaca tcttcacagg ctgctaacag taaactttca ggactctgca gaatgcaggg 1980
ttaggaggttc agacatagga cttcagacat cctgttcttt gcgtatggac agctttgttt 2040
taaagtgtgg cttttgatgc ctttttgggt tttatgaatt gcatcaagac tccaatcctg 2100
ataagaagtc tctgggtcaaa ctctggttac tcaactatct gtccataaag tgggtgctttc 2160
tgtgaaagcc ttaaggaaat tagtgagctc agcagagatg gagaaaggca tatttgcctt 2220
ctacagagaa aatatctgtc tgtgttctgt ctctgtaaac agcctggact atgatctctt 2280
tgggatgctg cctggttgat gatgggtgat catgcctctg atatgcatac cagacttctt 2340
ctgctgccat gggccttaca gacaagaatg tgaaggttgc acaggacggg atttgtggcc 2400
agtggtttaa atatgcaata tctaactgac attcggcaat ctcataaaaag ccatctacct 2460
tgtaactgaa gtaacttctc taccaacttt attttttagca taatagttgt aaaggccaaa 2520
ctatgtataa agtgtccata gactcgaact gttttctctc agtcaccatt ttgttttctt 2580
tttggttaatt atttttgtta tataattcct cctatccaga attggcgctc actgtcttga 2640
accatacttt gaaagaaatg cctcttctct gagtctgocct tactgcatct gatcaccatg 2700
tgcatacctc tgatcaaatt ctggagtctt ttttattttc aaaacttca tagcctttat tctagccatt 2820
ttaccttaca tactcattct gtacaaaaca gctcactcgg tctcacgggt tctcctcagt 2880
ggaaatgatt taaagtagag ctgtgtacga atttcagaat tcatgtattt aaaaacttca 2940
cactaacact ttactaagat attgtctcat atcttttatg aggatgtcag ctgattttca 3000
atgactataa atgtatctta gctatctaaa tcttttgaaa tttggtttta taatttctgg 3060
tccttaactt gtgaagacaa agaggcagaa gtaccagtc taccacattt acactgtaca 3120
ttattaaata aaaaaatgta tattttaaaa aaaaaaaaa aaaaaaa 3167

<210> 121
<211> 3003
<212> ADN
<213> Rattus norvegicus

5

<400> 121

cgttcagtaa ggccgtttac ttcagtgaaa cagcaggacc agtaatcaag gtggcccogga 60
caggacacgt gcgaattgga caatgactca gctatacact tacatcagat tactgggagc 120
ctgtctgttc atcatttctc atgttcaagg gcagaatcta gatagtatgc tccatggtag 180
tggatgaaa tcagacgtgg accagaagaa gccggaaaat ggagtgacgt tagcaccaga 240
ggacacctta cctttcttaa aatgctattg ctcaggacac tgcccagatg acgctattaa 300
taacacatgc ataactaatg gccattgctt tgccattata gaagaagatg atcagggaga 360
aaccacgtta acttctgggt gtatgaagta tgaaggctct gattttcaat gcaaggatcc 420
accaaaagcc cagctacgca ggacaataga atgttgtcgg accaatttgt gcaaccaata 480
tttgcagcct acactgccc ctgtcgttat aggccattc tttgatggca gcgtccgatg 540
gctggctgtg ctcatctcta tggtgtctg tattgtcgcc atgatcgtct tctccagctg 600
cttctgttac aaacattact gtaagagtat ctcaagcaga ggtcgttaca accgtgactt 660
ggaacaggat gaagcattta ttccagtagt agaattcact aaagacctga ttgaccagtc 720
acaaagctct ggtagtggat ctggattacc tttattgggt cagcgaacta ttgccaaca 780
gattcagatg gttcggcagg ttggtaaagg ccggtatgga gaagtatgga tgggtaaatg 840

```

gcgtggtgaa aaagtggctg tcaaagtatt ttttaccact gaagaagcta gctgggttag 900
agaaacagaa atctaccaga cgggtgtaat gcgtcatgaa aatatacttg gttttatagc 960
tgcagacatt aaaggcaccg gttcctggac tcagctgtat ttgattactg attaccatga 1020
gaatgggtct ctctatgact tcctgaaatg tgccaccctg gacaccagag ccctactcaa 1080
gttagcttat tctgctgcct gtggctctgt ccacctccac acagaaatft atggcacgca 1140
aggcaagcct gcaattgctc atcgagacct gaagagcaaa aacatcctta ttaagaaaaa 1200
tggtagttgc tgtattgctg acctgggcct agctgttaaa ttcaacagtg acacaaatga 1260
agttgacata cccttgaaca ccagggtggg caccaggcgg tacatggctc cagaagtgtc 1320
ggacgagagc ctgagtaaaa accatttcca gccctacatc atggctgaca tctacagctt 1380
tggtttgatc atttgggaga tggcccgtcg ctgtattaca ggaggaaatcg tggaggaaata 1440
tcaattacca tattacaaca tgggtgcctag tgacctatct tatgaagaca tgcgtgaggt 1500
cgtgtgtgtg aaaocgttgc ggccaatcgt ctctaaccgc tggaacagtg atgaatgtct 1560
tcgagccggt ttgaagctga tgtcagaatg ctgggcccat aatccagcat ccagactcac 1620
agctttgaga atcaagaaga cgctcgcaaa gatggttgaa tcccaggatg taaagatttg 1680
acaaacagtt ttgagaaaga atttagactg caagaaatfc acccgaggaa ggggtggagt 1740
aggatggact aggatgtcgg ctgggttcc agactctctc ctctacatct tccaggctt 1800
ctaacagtaa actttcagga ctctgcagaa tgcagggttg gagcttcaga cataggactt 1860
cagacatgct gttctttgog tatggacagc tttgttttaa atgtgggctt ttgatgcctt 1920
tttggttttt atgaattgca tcaagactcc aatcctgata agaagtctct ggtcaaactc 1980
tggttactca ctatcctgtc cataaagtgg tgctttctgt gaaagcctta aggaaattag 2040
tgagctcagc agagatggag aaaggcatat ttgcctcta cagagaaaat atctgtctgt 2100
gttctgtctc tgtaaacagc ctggactatg atctctttgg gatgctgcct ggttgatgat 2160
ggtgcatcat gcctctgata tgcataccag acttctctcg ctgccatggg cttaacaagac 2220
aagaatgtga aggttgcaaca ggacggtatt tgtggccagt ggtttaaata tgcaatatct 2280
aatcgacatt cgccaatctc ataaaagcca tctaccttgt aactgaagta acttctctac 2340
caactttatt tttagcataa tagttgtaaa ggccaaacta tgtataaagt gtccatagac 2400
tcgaactggt ttctctcagt caccattttg ttttctcttt ggttaattatt tttgttatat 2460
aattctctct atccagaatt ggcgctcact gtcttgaacc atactttgaa agaaatgcct 2520
cttctctggag tctgccttac tgcactgat caccatgtgc atacctctga tcaaattctg 2580
gagctcttgg tctcggtacc tcttaaaaag ggaaattgtg tatcatgtgt agtgtgcttt 2640
tattttcaaa atcttcatag cctttattct agccattttt acctacatac tcttctgta 2700
caaaacagct cactcggctc cacggctgat cctcagtgga aatgatttaa agtagagctg 2760
tgtacgaatt tcagaattca tgtattttaa aacttcacac taacacttta ctaagatatt 2820
gtctcatatc ttttatgagg atgtcagctg attttcaatg actataaatg tatcttagct 2880
atctaaatct tttgaaattt ggttttataa tttctggtcc ctaacttgtg aagacaaaga 2940
ggcagaagta occagtctac cacatttaca ctgtacatta ttaaataaaa aaatgtatat 3000
ttt 3003

```

<210> 122
 <211> 2063
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 122

```

gaattccggg gatgatgat gtgatgggta tgatgggtgat gaggatgatg gtgatgatga 60
tgatgggtgt ggtgatgggt tttgcatctt ccattcatga actaagtaet cttattagtg 120
aatttctttt ctttgccttc ctgattcttg gctggcccag ggatgacttc ctogctgcag 180
cggeccctggc ggggtgcctg gctaccatgg accatcctgc tggtcagcac tgcggctgct 240
tcgcagaatc aagaacggct atgtgcgttt aaagatccgt atcagcaaga ccttgggata 300
ggtgagagta gaatctctca tgaaaatggg acaatattat gctcgaaagg tagcacctgc 360
tatggccttt gggagaaatc aaaaggggac ataaatcttg taaaacaagg atgttggctc 420
cacattggag atccccaaga gtgtcactat gaagaatgtg tagtaactac cactcctccc 480
tcaattcaga atggaacata ccgtttctgc tgttgtagca cagatttatg taatgtcaac 540
tttactgaga attttcacc tctgtacaca acaccactca gtcacactca ttcatttaac 600
cgagatgaga caataatcat tgctttggca tcagtctctg tattagctgt tttgatagtt 660
gccttatgct ttggatacag aatgttgaca ggagaccgta aacaaggctc tcacagtatg 720
aacatgatgg aggcagcagc atccgaacct tctcttgatc tagataatct gaaactgttg 780

```

10

gagctgattg	gccgaggtcg	atatggagca	gtatataaag	gctccttggg	tgagcgtcca	840
gttgcgtgtaa	aagtgttttc	ctttgcaaac	cgtcagaatt	ttatcaacga	aaagaacatt	900
tacagagtgc	ctttgatgga	acatgacaac	attgcccgct	ttatagttgg	agatgagaga	960
gtcactgcag	atggacgcat	ggaatatttg	cttgtgatgg	agtactatcc	caatggatct	1020
ttatgcaagt	athtaagtct	ccacacaagt	gactgggtaa	gctcttgccg	tcttgctcat	1080
tctgttacta	gaggactggc	ttatcttcac	acagaattac	cacgaggaga	tcattataaa	1140
cctgcaattt	cccatcgaga	tttaaacagc	agaaatgtcc	tagtgaaaaa	tgatggaacc	1200
tgtgttatta	gtgactttgg	actgtccatg	aggctgactg	gaaatagact	ggtgcgcccc	1260
ggggaggaag	ataatgcagc	cataagcgag	gttggcacta	tcagatatat	ggcaccagaa	1320
gtgctagaag	gagctgtgaa	cttgagggac	tgtgaatcag	ctttgaaaca	agtagacatg	1380
tatgctcttg	gactaatcta	ttgggagata	tttatgagat	gtacagacct	cttcccaggg	1440
gaatccgtac	cagagtacca	gatggctttt	cagacagagg	ttggaaacct	tcccactttt	1500
gaggatatgc	aggttctcgt	gtctagggaa	aaacagagac	ccaagtcccc	agaagcctgg	1560
aaagaaaata	gcctggcagt	gaggtcactc	aaggagacaa	tcgaagactg	ttgggaccag	1620
gatgcagagg	ctcggcttac	tgcacagtgt	gctgaggaaa	ggatggctga	acttatgatg	1680
atftgggaaa	gaaacaaatc	tgtgagccca	acagtcaatc	caatgtctac	tgctatgcag	1740
aatgaacgta	ggtgagtcaa	cacaagatgg	caaatcagga	tcaggtgaaa	agatcaagaa	1800
acgtgtgaaa	actccctatt	ctcttaagcg	gtggcgcccc	tccacctggg	tccctccac	1860
tgaatcgctg	cactgtgaag	tcaacaataa	tggcagtaac	agggcagttc	attccaaatc	1920
cagcactgct	gtttaccttg	cagaaggagg	cactgctaca	accatggtgt	ctaaagatat	1980
aggaatgaac	tgtctgtgaa	atgttttcaa	gcctatggag	tgaaattatt	ttttgcatca	2040
tttaaacatg	cagaagatgt	tta				2063

- <210> 123
- <211> 1964
- <212> ADN
- <213> Homo sapiens
- <400> 123

5

atftcttttc	tttgcctcc	tgattcttgg	ctggcccagg	gatgacttcc	tcgctgcagc	60
ggcctggtcg	ggtgcccctgg	ctaccatgga	ccatcctgct	ggtcagcact	gcggctgctt	120
cgcagaatca	agaacggcta	tgtgcgttta	aagatccgta	tcagcaagac	cttgggatag	180
gtgagagtga	aatctctcat	gaaaatggga	caatattatg	ctcgaaaggt	agcacctgct	240
atggcctttg	ggagaaatca	aaaggggaca	taaactctgt	aaaacaagga	tgttggcttc	300
acattggaga	tccccagag	tgtcactatg	aagaatgtgt	agtaactacc	actcctccct	360
caattcagaa	tggaacatac	cgtttctgct	gttgtagcac	agatttatgt	aatgtcaact	420
ttactgagaa	ttttccacct	cctgacacaa	caccactcag	tccacctcat	tcatttaacc	480
gagatgagac	aataatcatt	gctttggcat	cagtctctgt	attagctggt	ttgatagttg	540
ccttatgctt	tggatacaga	atggtgacag	gagaccgtaa	acaaggtctt	cacagtatga	600
acatgatgga	ggcagcagca	tccgaacctt	ctcttgatct	agataatctg	aaactgttgg	660
agctgatggg	ccgaggtcga	tatggagcag	tatataaagg	ctccttggat	gagcgtccag	720
ttgctgtaaa	agtgttttcc	tttgcaaacc	gtcagaattt	tatcaacgaa	aagaacattt	780
acagagtgcc	tttgatggaa	catgacaaca	ttgcccgtct	tatagttgga	gatgagagag	840
tcactgcaga	tggacgcatg	gaatatttgc	ttgtgatgga	gtactatccc	aatggatctt	900
tatgcaagta	tttaagtctc	cacacaagtg	actgggtaag	ctcttgccgt	cttgctcatt	960
ctgttactag	aggactggct	tatcttcaca	cagaattacc	acgaggagat	cattataaac	1020
ctgcaatttc	ccatcgagat	ttaaacagca	gaaatgtcct	agtgaaaaat	gatggaacct	1080
gtgttattag	tgactttgga	ctgtccatga	ggctgactgg	aaatagactg	gtgcgccccg	1140
gggaggaaga	taatgcagcc	ataagcgagg	ttggcactat	cagatatatg	gcaccagaag	1200
tgctagaagg	agctgtgaac	ttgagggact	gtgaatcagc	tttgaacaaa	gtagacatgt	1260
atgctcttgg	actaatctat	tgggagatat	ttatgagatg	tacagacctc	ttcccagggg	1320
aatccgtacc	agagtaccag	atggcttttc	agacagaggt	tggaaaccat	cccacttttg	1380
aggatatgca	ggttctcgtg	tctagggaaa	aacagagacc	caagttccca	gaagcctgga	1440
aagaaaatag	cctggcagtg	aggtcactca	aggagacaat	cgaagactgt	tgggaccagg	1500
atgcagaggg	tcggcttact	gcacagtgtg	ctgaggaaa	gatggctgaa	cttatgatga	1560
tttgggaaa	aaacaaatct	gtgagcccaa	cagtcactcc	aatgtctact	gctatgcaga	1620
atgaacgtag	gtgagtcaac	acaagatggc	aaatcaggat	caggtgaaaa	gatcaagaaa	1680

10


```

cgtgtgaaaa ctcctattc tcttaagcgg tggcgcccoct ccacctgggt catctccact 1740
gaatcgctgg actgtgaagt caacaataat ggcagtaaca gggcagttca ttccaaatcc 1800
agcaactgctg tttaccttgc agaaggaggc actgctacaa ccatgggtgc taaagatata 1860
ggaatgaact gtctgtgaaa tgttttcaag cctatggagt gaaattatct tttgcatcat 1920
ttaaacatgc agaagatggt taaaaataaa aaaaaaactg cttt 1964

```

- <210> 124
- <211> 3611
- <212> ADN
- <213> Homo sapiens
- <400> 124

5

```

cgcccccgga ccccggatcg aatccccgcc ctcegcaccc tggatatggt ttctcccaga 60
cctggatatt tttttgatat ogtgaaacta cgagggaaat aatttggggg atttcttctt 120
ggctccctgc tttccccaca gacatgcctt cegtttggag ggecgcgga ccccgctcca 180
ggcgaaggaa cccccccagc cgcgagggag agaaatgaag ggaattctct cagcggcatg 240
aaagctctgc agctaggcc cctcatcagc cattgtcct ttcaaactgt attgtgatac 300
ggcgaggatc agtccacggg agagaagacg agcctcccgg ctgtttctcc gccggtctac 360
ttcccatatt tcttttcttt gccctcctga ttcttggctg gccagggat gacttctctg 420
ctgcagcggc cctggcgggt gccctggcta ccatggacca tctgtctggg cagcactgcg 480
gctgcttcgc agaatcaaga acggctatgt gcgtttaaag atccgtatca gcaagacctt 540
gggatagggt agagtagaat ctctcatgaa aatgggacaa tattatgctc gaaaggtagc 600
acctgctatg gcccttggga gaaatcaaaa ggggacataa atcttgtaaa acaaggatgt 660
tggctccaca ttggagatcc ccaagagtgt cactatgaag aatgtgtagt aactaccact 720
cctccctcaa ttcagaatgg aacataccgt ttctgtgtt gtagcacaga tttatgtaat 780
gtcaacttta ctgagaattt tccacctct gacacaacac cactcagtcc acctcattca 840
tttaaccgag atgagacaat aatcattgct ttggcatcag tctctgtatt agctgttttg 900
atagttgcct tatgctttgg atacagaatg ttgacaggag accgtaaaca aggtcttcac 960
agtatgaaca tgatggaggc agcagcatcc gaacctctc ttgatctaga taatctgaaa 1020
ctgttggagc tgattggcgg aggtogatat ggagcagtat ataaaggctc cttggatgag 1080
cgtccagttg ctgtaaaagt gtttctcttt gcaaaccgtc agaattttat caacgaaaag 1140
aacatttaca gagtgccttt gatggaacat gacaacattg cccgctttat agttggagat 1200
gagagagtca ctgcagatgg acgcatggaa tatttgcttg tgatggagta ctatcccaat 1260
ggatctttat gcaagtattt aagtctccac acaagtgact gggtaagctc ttgccgtctt 1320
gctcattctg ttactagagg actggcttat ctccacacag aattaccacg aggagatcat 1380
tataaacctg caatttccca tcgagattta aacagcagaa atgtcctagt gaaaaatgat 1440
ggaacctgtg ttattagtga ctttggactg tccatgaggc tgactggaaa tagactggtg 1500
cgcccagggg aggaagataa tgcagccata agcaggttg gcactatcag atatatggca 1560
ccagaagtgc tagaaggagc tgtgaacttg agggactgtg aatcagcttt gaaacaagta 1620
gacatgtatg ctcttggact aatctatttg gagatattta tgagatgtac agacctctc 1680
ccaggggaat ccgtaccaga gtaccagatg gcttttcaga cagaggttgg aaacctccc 1740
acttttgagg atatgcaggt tctcgtgtct agggaaaaac agagacccaa gtcccagaa 1800
gctggaaag aaaatagcct ggcagtgagg tcaactcaagg agacaatcga agactggttg 1860
gaccaggatg cagaggctcg gcttactgca cagtgtgctg aggaaaggat ggctgaactt 1920
atgatgattt gggaaagaaa caaatctgtg agcccaacag tcaatccaat gtctactgct 1980
atgcagaatg aacgcaacct gtcacataat aggcgtgtgc caaaaattgg tccttatcca 2040
gattattctt cctcctcata cattgaagac tctatccatc atactgacag catcgtgaag 2100
aatatttctt ctgagcattc tatgtccagc acaccttga ctatagggga aaaaaaccga 2160
aattcaatta actatgaaag acagcaagca caagctcgaa tccccagccc tgaacaagt 2220
gtcaccagcc tctccacca cacaacaacc acaaacacca caggactcac gccaaagtact 2280
ggcatgacta ctatatctga gatgccatac ccagatgaaa caaatctgca taccacaaat 2340
gttgacagat caattgggac aacctgtc tgcttacagc tgacagaaga agacttggaa 2400
accaacaagc tagaccocaa agaagtgat aagaacctca aggaaagctc tgatgagaat 2460
ctcatggagc actctcttaa acagttcagt ggcccagacc cactgagcag tactagttct 2520
agcttgcttt acccactcat aaaacttgca gtagaagcaa ctggacagca ggacttcaca 2580
cagactgcaa atggccaagc atgtttgatt cctgatgttc tgccactca gatctatcct 2640
ctccccagc agcagaacct tcccaagaga cctactagtt tgcccttgaa caccaaaaat 2700

```

10

tcaacaaaag agccccggct aaaatttggc agcaagcaca aatcaaactt gaaacaagtc 2760
 gaaactggag ttgccaagat gaataacaatc aatgcagcag aacctcatgt ggtgacagtc 2820
 accatgaatg gtgtggcagg tagaaaccac agtggttaact cccatgctgc cacaacccaa 2880
 tatgccaatg ggacagtaact atctggccaa acaaccaaca tagtgacaca tagggcccaa 2940
 gaaatgttgc agaatcagtt tat tgggtgag gacaccgggc tgaatattaa ttccagtcct 3000
 gatgagcatg agcctttact gagacgagag caacaagctg gccatgatga aggtgttctg 3060
 gatcgtcttg tggacaggag ggaacggcca ctagaagggtg gccgaactaa ttccaataac 3120
 aacaacagca atccatgttc agaacaagat gttcttgcac aggggtgttcc aagcacagca 3180
 gcagatcctg ggccatcaaa gccccagaaga gcacagagge ctaattctct ggatctttca 3240
 gccacaaaatg tcctggatgg cagcagtata cagatagggtg agtcaacaca agatggcaaa 3300
 tcaggatcag gtgaaaagat caagaaacgt gtgaaaactc cctattctct taagcgggtg 3360
 cgcccccca cctgggtcat ctccactgaa tcgctggact gtgaagtcaa caataatggc 3420
 agtaacaggg cagttcattc caaatccagc actgctgttt accttgcaga aggaggcact 3480
 gctacaacca tgggtgtctaa agatatagga atgaactgtc tgtgaaatgt tttcaagcct 3540
 atggagtgaa attatTTTTT gcatcattta aacatgcaga agatgtttaa aaataaaaaa 3600
 aaaactgctt t 3611

<210> 125
 <211> 3871
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 125

ggcctccgca ccttggatat gttttctccc agacctggat attttttga tatcgtgaaa 60
 ctacgagggg aataatttgg gggatttctt ctggctccc tgctttccc acagacatac 120
 ctcccgtttg gagggccgag gcaccccgtc cgaggcgaag gaaccccccc atccgcgagg 180
 gagagaaatg aagggaaatt ctgcagcggc atgaaagctc tgcagctagg tcctctcatc 240
 agccatttgt cctttcaaac tgtattgtga tacgggcagg atcagtcacc gggagagaag 300
 acgagcctcc cggctgtttc tccgcccgtc tacttcccat atttctttc tttgccctcc 360
 tgattcttgg ctggcccagg gatgacttcc tcgctgcagc ggccctggcg ggtgccctgg 420
 ctaccatgga ccatectget ggtcagcact gcggctgctt cgcagaatca agaacggcta 480
 tgtgcgttta aagatccgta tcagcaagac ctgggtag gtgagagtga aatctctcat 540
 gaaaatggga caatattatg ctcgaaaggc agcacctgct atggcctttg ggagaaatca 600
 aaaggggaca taaatcttgt aaaacaagga tgttggctc acattggaga tcccaagag 660
 tgtcactatg aagaatgtgt agtaactacc actcctcct caattcagaa tggacatac 720
 cgtttctgct gttgtagcac agatttatgt aatgtcaact ttactgagaa ttttccacct 780
 cctgacacaa caccactcag tccacctcat tcatttaacc gagatgagac aataatcatt 840
 gcttggcatc cagtctctgt attagctgtt ttgatagttg ccttatgctt tggatacaga 900
 atgttgacag gagaccgtaa acaaggctct cacagtatga acatgatgga ggcagcagca 960
 tccgaaccct ctcttgatct agataatctg aaactgttgg agctgattgg ccgaggctga 1020
 tatggagcag tatataaagg ctccctggat ggcgtccag ttgctgtaaa agtgttttcc 1080
 tttgcaaac gtcagaattt tatcaacgaa aagaacatt acagagtgcc tttgatggaa 1140
 catgacaaca ttgcccgtt tatagttgga gatgagagag tcactgcaga tggacgcatg 1200
 gaatatttgc ttgtgatgga gtactatccc aatggatctt tatgcaagta tttaatctc 1260
 cacacaagtg actgggtaag ctcttgcctt ctgtctcatt ctgttactag aggactggct 1320
 tatcttcaca cagaattacc acgaggagat cattataaac ctgcaatttc ccatcgagat 1380
 ttaaacagca gaaatgtcct agtgaaaaat gatggaacct gtgttattag tgactttgga 1440
 ctgtccatga ggctgactgg aatagactg gtgcgcccag gggaggaaga taatgcagcc 1500
 ataagcgagg ttggcactat cagatatatg gcaccagaag tgctagaagg agctgtgaac 1560
 ttgagggact gtgaatcagc tttgaaacaa gtagacatgt atgctcttgg actaatctat 1620
 tgggagatat ttatgagatg tacagacctc ttcccagggg aatccgtacc agagtaccag 1680
 atggcttttc agacagaggt tggaaacctc cccacttttg aggatatgca ggttctcgtg 1740
 tctagggaaa aacagagacc caagttccca gaagcttga aagaaaatg cctggcagtg 1800
 aggtcactca aggagacaat cgaagactgt tgggaccagg atgcagagge tccgcttact 1860
 gcacagtgtg ctgaggaaag gatggctgaa cttatgatga tttgggaaag aaacaaatct 1920
 gtgagcccaa cagtcaatcc aatgtctact gctatgcaga atgaacgcaa cctgtcacat 1980
 aatagggctg tgccaaaaat tggctcctat ccagattat ctctctctc atacattgaa 2040

10

```

gactctatcc atcatactga cagcatcgtg aagaatattt cctctgagca ttctatgtcc 2100
agcacacctt tgactatagg ggaaaaaac cgaaattcaa ttaactatga acgacagcaa 2160
gcacaagctc gaatccccag cctgaaaca agtgtcacca geectctccac caacacaaca 2220
accacaaaca ccacaggact cacgccaaagt actggcatga ctactatata tgagatgcca 2280
taccagatg acaaatcctt gcataccaca aatggtgcac agtcaattgg gccaacccct 2340
gtctgettac agctgacaga agaagacttg gaaaccaaca agctagacco aaaagaagt 2400
gataagaacc tcaaggaaag ctctgatgag aatctcatgg agcactctct taaacagttc 2460
agtggcccag acccactgag cagtactagt tctagcttgc tttaccact cataaaactt 2520
gcagtagaag caactggaca gcaggacttc acacagactg caaatggcca agcatgtttg 2580
attctgatg ttctgcctac tcagatctat cctctcccca agcagcagaa ccttcccagg 2640
agacetacta gtttgccttt gaacacaaa aattcaacaa aagagccccg gctaaaattt 2700
ggcagcaagc acaaatcaaa cttgaaacaa gtcgaaactg gagttgcca gatgaataca 2760
atcaatgcag cagaacctca tgtggtgaca gtcaccatga atggtgtggc aggtagaaac 2820
cacagtgtta actcccatgc tgccacaacc caatatgcca ataggacagt actatctggc 2880
caaacaacca acatagtgac acatagggcc caagaaatgt tgcagaatca gtttattggg 2940
gaggacaccc ggctgaatat taattccagt cctgatgagc atgagccttt actgagacga 3000
gagcaacaag ctggccatga tgaaggtgtt ctggatcgtc ttgtggacag gagggaacgg 3060
ccactagaag gtggccgaac taattccaat aacaacaaca gcaatccatg ttcagaacaa 3120
gatgttcttg cacaggtgtt tccaagcaca gcagcagatc ctgggccatc aaagcccaga 3180
agagcacaga ggctaatc tctggatctt tcagccacaa atgtcctgga tggcagcagt 3240
atacagatag gtgagtcaac acaagatggc aaatcaggat caggtgaaaa gatcaagaaa 3300
cgtgtgaaaa ctccctatc tcttaagcgg tggcgcccct ccacctgggt catctccact 3360
gaatcgctgg actgtgaagt caacaataat ggcagtaaca gggcagttca ttccaaatcc 3420
agcactgctg tttaccttgc agaaggaggc actgctacaa ccatgggtgtc taaagatata 3480
ggaatgaact gtctgtgaaa tgttttcaag cctatggagt gaaattattt tttgcatcat 3540
ttaaacatgc agaagatgtt taccggcggc ggtgacagga gagagcgtca gggcaagt 3600
gtggaggatg gggctcagaa tgcagacctg ggctggccgc atggcctctc cctgagccct 3660
gatttgtggg agggaaagcag tatgggtgca gtcccctctc aggcctccct ctgggggtcc 3720
ccgatcctat cccacctctt cagggtgagc cagcctcacc tcttctagt cctgaggggtg 3780
agggcaggct gaggcaacga gtgggaggtt caacaagag tgggctggag ccaagggaaa 3840
atagagatga tgtaatttct ttccggaatt c 3871

```

<210> 126
 <211> 88
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 126

```

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

```

10

<210> 127
 <211> 82
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15

<400> 127

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

<210> 128
 <211> 82
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 128

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

10

<210> 129
 <211> 84
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15

<400> 129

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

20

<210> 130
 <211> 83
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

25

<400> 130

ES 2 428 767 T3

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

<210> 131
 <211> 80
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 131

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

10

<210> 132
 <211> 80
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15

<400> 132

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

20

<210> 133
 <211> 85
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

25

<400> 133

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

<210> 134
 <211> 86
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 134

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

<210> 135
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

15

<400> 135

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

20

<210> 136
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

25

<400> 136

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

<210> 137
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 137

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

10

<210> 138
 <211> 205
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15

<400> 138

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

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

20

<210> 139
 <211> 197
 <212> PRT
 <213> Gallus gallus

5

<400> 139

```

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

10

<210> 140
 <211> 196
 <212> PRT
 <213> Xenopus laevis

15

<400> 140

```

Gln His Tyr Leu His Ile Arg Pro Ala Pro Ser Glu Asn Leu Pro Leu
 1          5          10          15
Val Asp Leu Ile Glu His Pro Asp Pro Ile Tyr Asp Pro Lys Glu Lys
          20          25          30
Asp Leu Asn Glu Thr Leu Leu Arg Thr Leu Met Val Gly His Phe Asp
          35          40          45
    
```


Pro Asn Phe Met Ala Thr Ile Leu Pro Glu Glu Arg Leu Gly Val Glu
 50 55 60
 Asp Leu Gly Glu Leu Asp Leu Leu Leu Arg Gln Lys Pro Ser Gly Ala
 65 70 75 80
 Met Pro Ala Glu Ile Lys Gly Leu Glu Phe Tyr Glu Gly Leu Gln Ser
 85 90 95
 Lys Lys His Arg Leu Ser Lys Lys Leu Arg Arg Lys Leu Gln Met Trp
 100 105 110
 Leu Trp Ser Gln Thr Phe Cys Pro Val Leu Tyr Thr Trp Asn Asp Leu
 115 120 125
 Gly Thr Arg Phe Trp Pro Arg Tyr Val Lys Val Gly Ser Cys Tyr Ser
 130 135 140
 Lys Arg Ser Cys Ser Val Pro Glu Gly Met Val Cys Lys Ala Ala Lys
 145 150 155 160
 Ser Met His Leu Thr Ile Leu Arg Trp Arg Cys Gln Arg Arg Val Gln
 165 170 175
 Gln Lys Cys Ala Trp Ile Thr Ile Gln Tyr Pro Val Ile Ser Glu Cys
 180 185 190
 Lys Cys Ser Cys
 195

<210> 141
 <211> 195
 <212> PRT
 <213> Takifugu rubripes

5

<400> 141

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

10

<210> 142
 <211> 196
 <212> PRT
 <213> Danio rerio

15

<400> 142

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

<210> 143
 <211> 188
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

5

<400> 143

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

 Leu Thr Arg Phe His Asn Gln Ser Glu Leu Lys Asp Phe Gly Pro Glu
 145 150 155 160
 Thr Ala Arg Pro Gln Lys Gly Arg Lys Pro Arg Pro Gly Ala Arg Gly
 165 170 175
 Ala Lys Ala Asn Gln Ala Glu Leu Glu Asn Ala Tyr
 180 185

10

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a un polipéptido de esclerostina que comprende una secuencia de aminoácidos expuesta en SEC ID N°: 46, donde dicho anticuerpo o fragmento se une a la secuencia de SEC ID N°: 98.
2. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la reivindicación 1, donde dicho anticuerpo o fragmento se une a la secuencia de SEC ID N°: 74.
- 10 3. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la reivindicación 1, donde dicho anticuerpo o fragmento se une a la secuencia de SEC ID N°: 75.
4. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la reivindicación 1 que se une específicamente a al menos cuatro aminoácidos consecutivos de SEC ID N°: 46.
- 15 5. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que es policlonal o monoclonal.
6. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que es humano, humanizado o quimérico.
- 20 7. El fragmento de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que está seleccionado de F(ab')₂, Fab, Fab', Fd, y Fv.
- 25 8. Una célula huésped que produce o expresa el anticuerpo o fragmento de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes.
9. La célula huésped de la reivindicación 8, que es una célula de hibridoma.
- 30 10. Un polinucleótido que codifica el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
11. Uso de la célula huésped de la reivindicación 8 o 9 para producir o expresar dicho anticuerpo o fragmento.
- 35 12. Una composición que comprende el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 y un vehículo fisiológicamente aceptable.
13. Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en un procedimiento de aumentar el contenido mineral óseo y/o densidad mineral ósea en un animal de sangre caliente o ser humano.
- 40 14. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la reivindicación 13 para su uso en el tratamiento de osteopenia, osteoporosis, una fractura, acondroplasia, disostosis cleidocraneal, encondromatosis, displasia fibrosa, enfermedad de Gaucher, raquitismo hipofosfatémico, síndrome de Marfan, exostosis múltiple hereditaria, neurofibromatosis, osteogénesis imperfecta, osteopetrosis, osteopoiquiosis, lesiones escleróticas, enfermedad periodontal, pseudoartrosis y osteomielitis piogénica.
- 45 15. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno para el uso de la reivindicación 14, donde la osteopenia es producida por un estado anémico, esteroides, heparina, un trastorno de la médula ósea, hipovitaminosis C, desnutrición, deficiencia de calcio, osteoporosis idiopática, osteopenia u osteoporosis congénita, alcoholismo, enfermedad hepática crónica, senilidad, estado posmenopáusico, oligomenorrea, amenorrea, embarazo, diabetes mellitus, hipertiroidismo, enfermedad de Cushing, acromegalia, hipogonadismo, inmovilización o inactividad, síndrome de distrofia simpática refleja, osteoporosis regional transitoria y osteomalacia.
- 50

Esqueleto de cisteína común

	1		50	
Gremlin humana.pro	-----	-----	-----	-----
Cerberus humana.pro	MHLLLFQLLV	LLPLGKTRRH	QDGRQNQSSL	SPVLLPRNQR ELPTGNHEEA
Dan humana.pro	-----	-----	-----	-----
Beer humana.pro	-----	-----	-----	-----
	51		100	
Gremlin humana.pro	-----	-----	-----	-----
Cerberus humana.pro	EEKPDFVAV	PHLVAT.SPA	GEGQRQREKM	LSRFGRFWKK PEREMHPSRD
Dan humana.pro	-----	-----	-----	-----
Beer humana.pro	-----	-----	-----	-----
	101		150	
Gremlin humana.pro	AI.PPPDKAQ	HNDSEQTQSP	QQPGSRNRGR	GQGRGTAMPG EEVLESSQEA
Cerberus humana.pro	SDSEFPFPGT	QSLIQPID.G	MKMEKSPLRE	EAKKFWHHFM FRKTPASQGV
Dan humana.pro	-----	-----	-----	-----
Beer humana.pro	AFRVVEGQGW	QAFKNDATEI	IPELGEYPEP	PPELENNKTM NRAENGRPP
	151		200	
Gremlin humana.pro	LHVTERKYLK	RDWCKTQPLK	QTIHEEGCNS	RTIINRF.CY GQCNSFYIPR
Cerberus humana.pro	ILPIKSHEVH	WETCRTVPFS	QTIHEGCEK	VVQNLL.CF GKCGSVHFP.
Dan humana.pro	INKLALFPDK	SAWCEAKNIT	QIVGHSQCEA	KSIGNRA.CL GQCFSYSVFN
Beer humana.pro	HHPFETKDVS	EYSRELHFT	RYVTDGPRCS	AKPVTELVCS GQCGPARLLP
	201		250	
Gremlin humana.pro	HIRKEEGSFQ	SCSF...CKP	KKFTTMVTL	NCPQLPPTK K.KRVTRVKQ
Cerberus humana.pro	..GAAQHSHT	SCSH...CLP	AKFTTMHLPL	NCTELSSVIK V...VMLVEE
Dan humana.pro	TFPQSTESLV	HCDS...CMP	AQSMWEIVTL	ECPGHEEVPR VDKLVEKILH
Beer humana.pro	NAIGRGKWR	PSGPDFRCIP	DRYRAQRVQL	LCPGGEAPRA RKVRLVAS..
	251		300	
Gremlin humana.pro	CRC.ISIOLD	-----	-----	-----
Cerberus humana.pro	CQCKVKTEHE	DGHILHAGSQ	DSFIPGWSA-	-----
Dan humana.pro	CSCQACGKEP	SHEGLSVYVQ	GEDGPGSQPG	THPHPHPHH PGGQTPPEPD
Beer humana.pro	CKCKRLTRFH	NQSELKDFGT	EAARPOKGRK	PRPRARSAKA NQAELENAY-
	301	314		
Gremlin humana.pro	-----	-----		
Cerberus humana.pro	-----	-----		
Dan humana.pro	PPGAPHTEEE	GAED		
Beer humana.pro	-----	-----		

Fig. 1

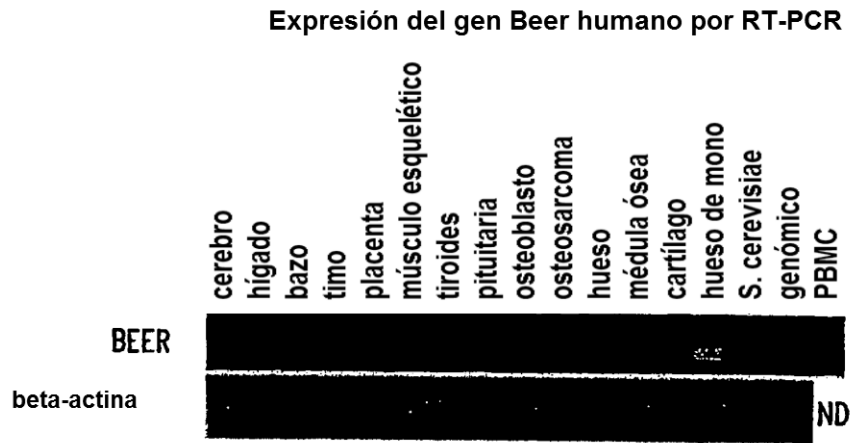


Fig. 2

Hibridación *in situ* de ARN de secciones de embrión de ratón

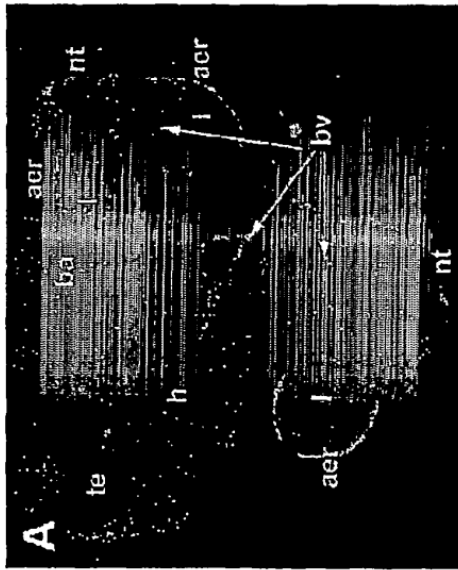


Fig. 3A

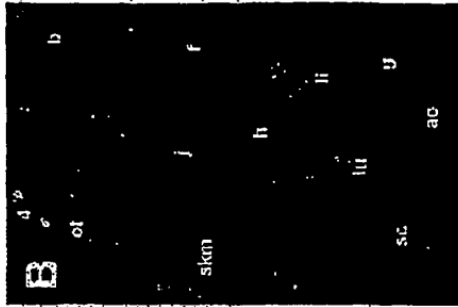


Fig. 3B

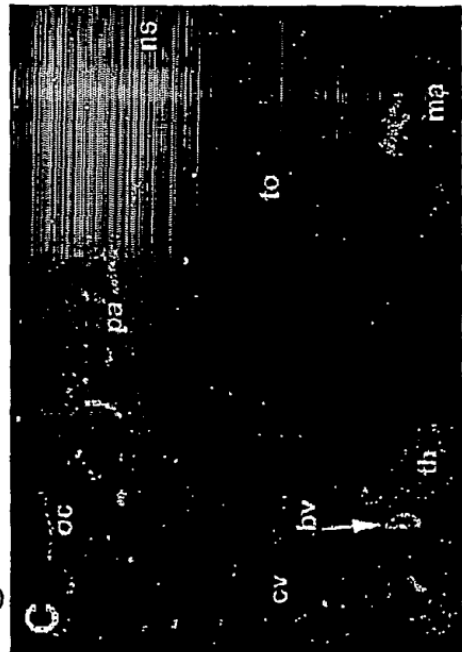


Fig. 3C

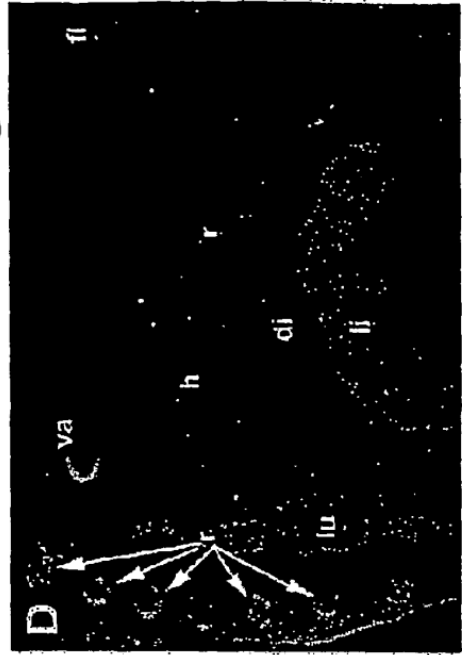


Fig. 3D

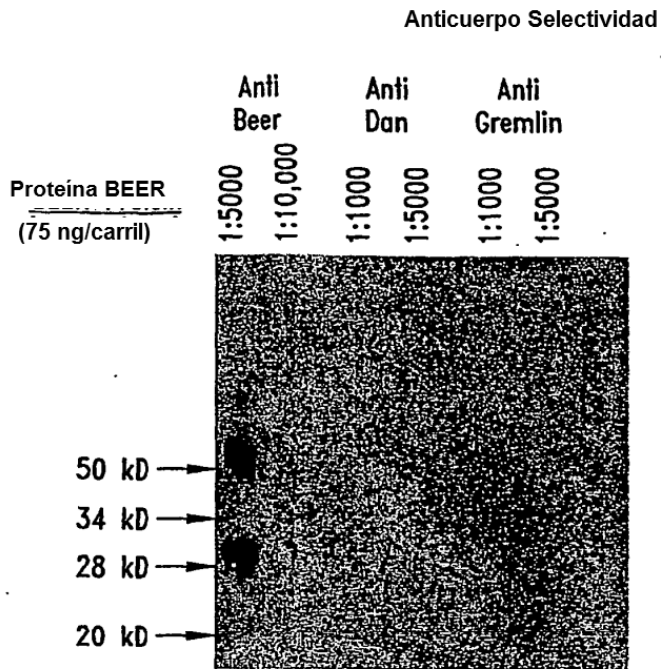


Fig. 4A

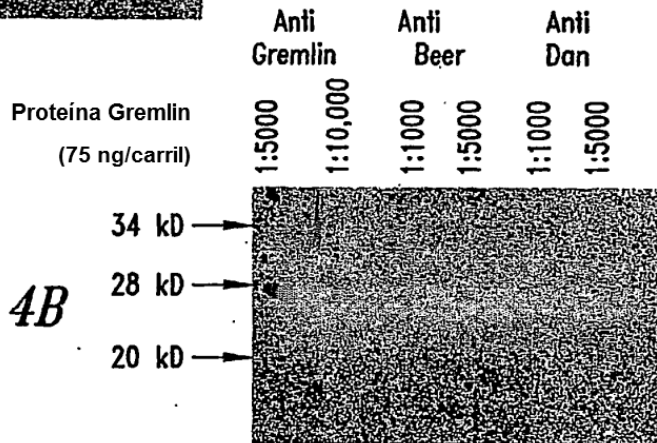


Fig. 4B

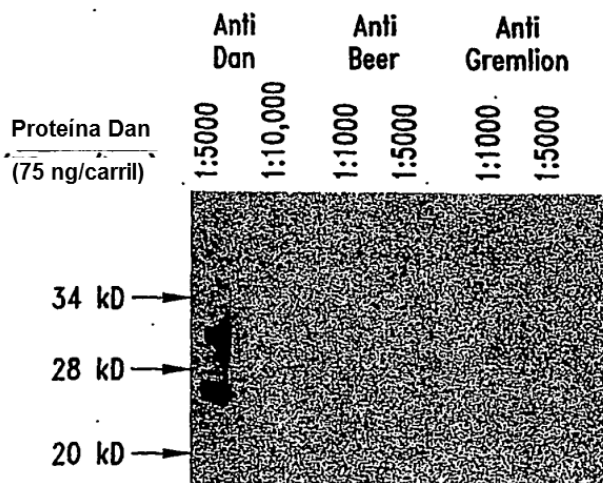


Fig. 4C

Evaluación de la unión de Beer a los miembros de la familia BMP
 Inmunoprecipitación anti-FLAG

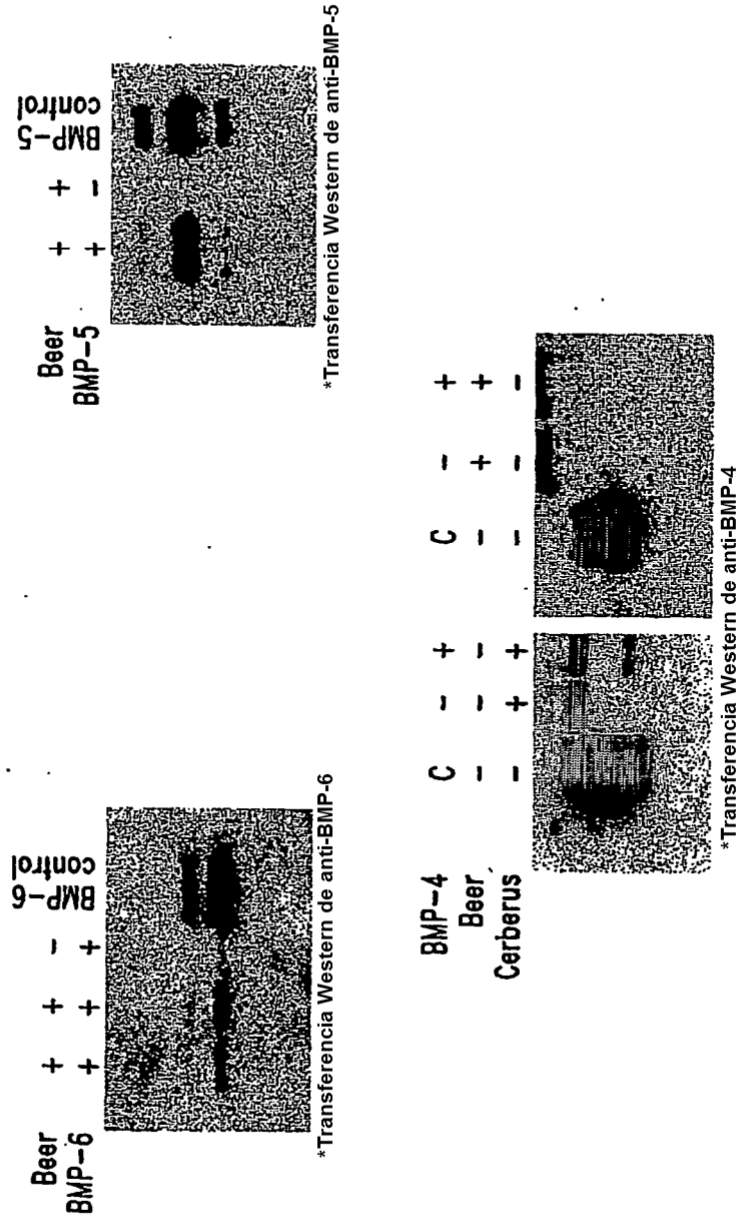
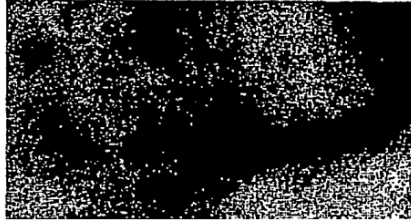


Fig. 5

Caracterización de la constante de disociación de BMP-5/Beer

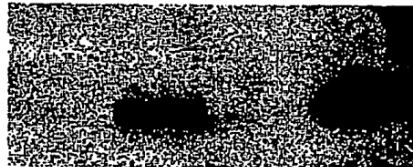
0,75 1,5 7,5 15 30 60 120 nM BMP-5



*Inmunoprecipitación anti-FLAG
*Transferencia Western anti-BMP-5

Rotura iónica de la unión de BMP-5/Beer

NaCl(mM)	500	150	150	BMP-5
Beer	+	+	-	western
BMP-5	+	+	+	control



*Inmunoprecipitación anti-FLAG
*Transferencia Western anti-BMP-5

Fig. 6

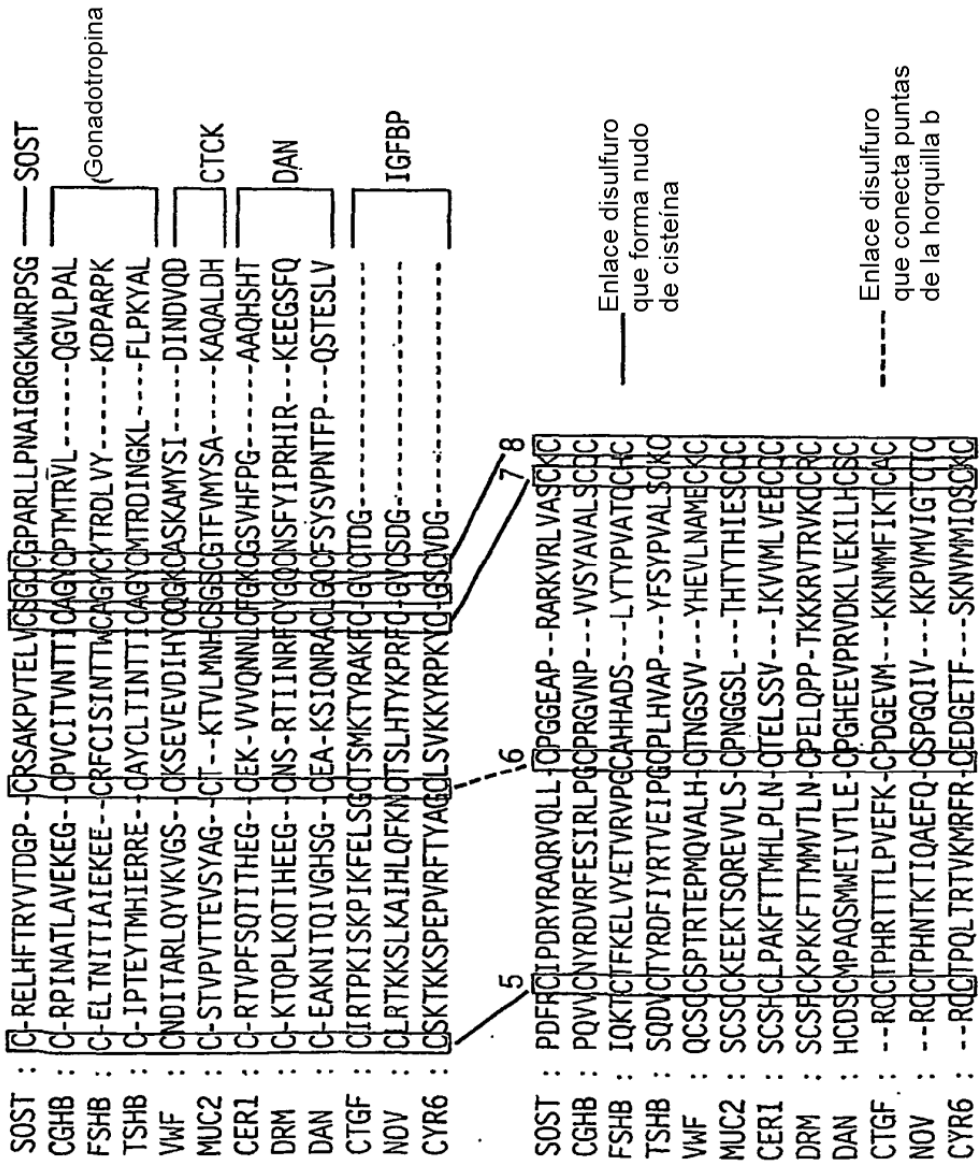


FIG. 7

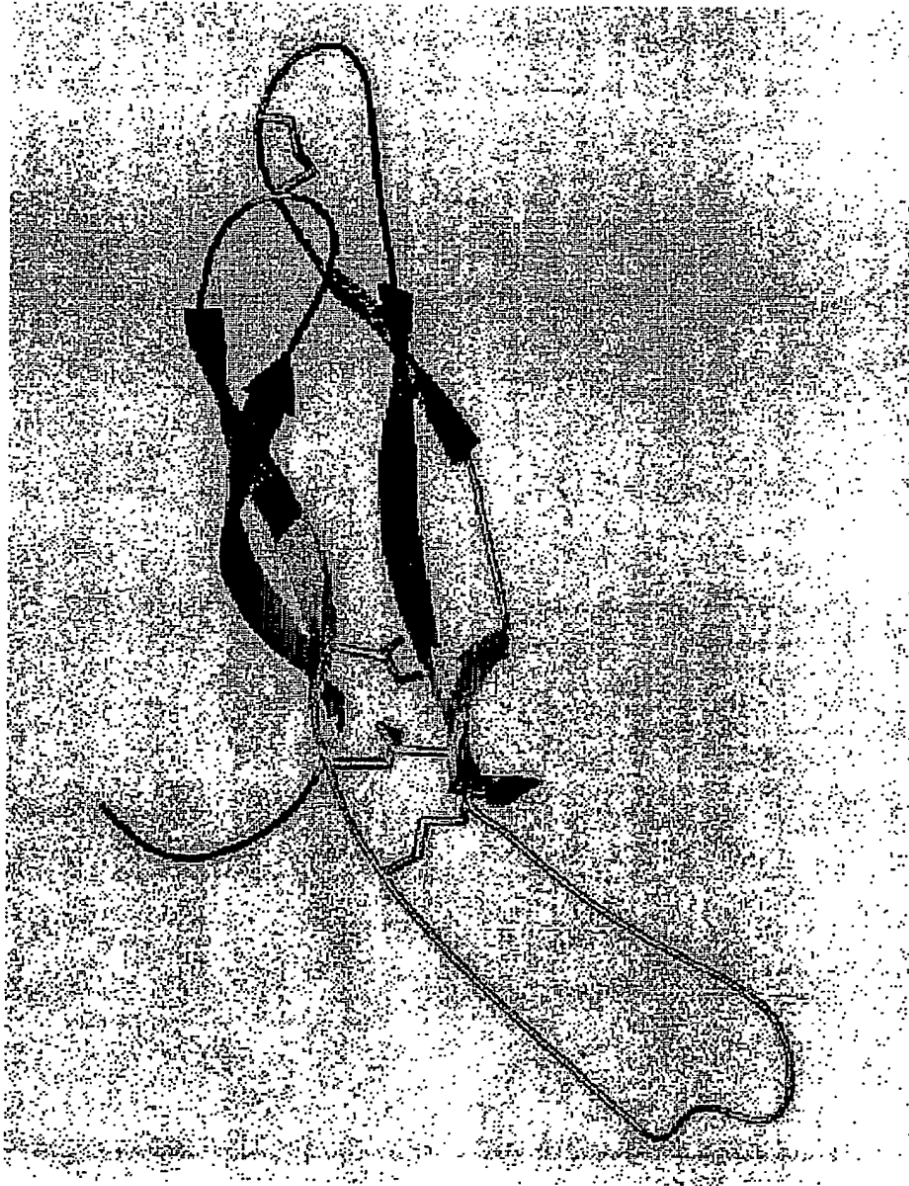


FIG. 8

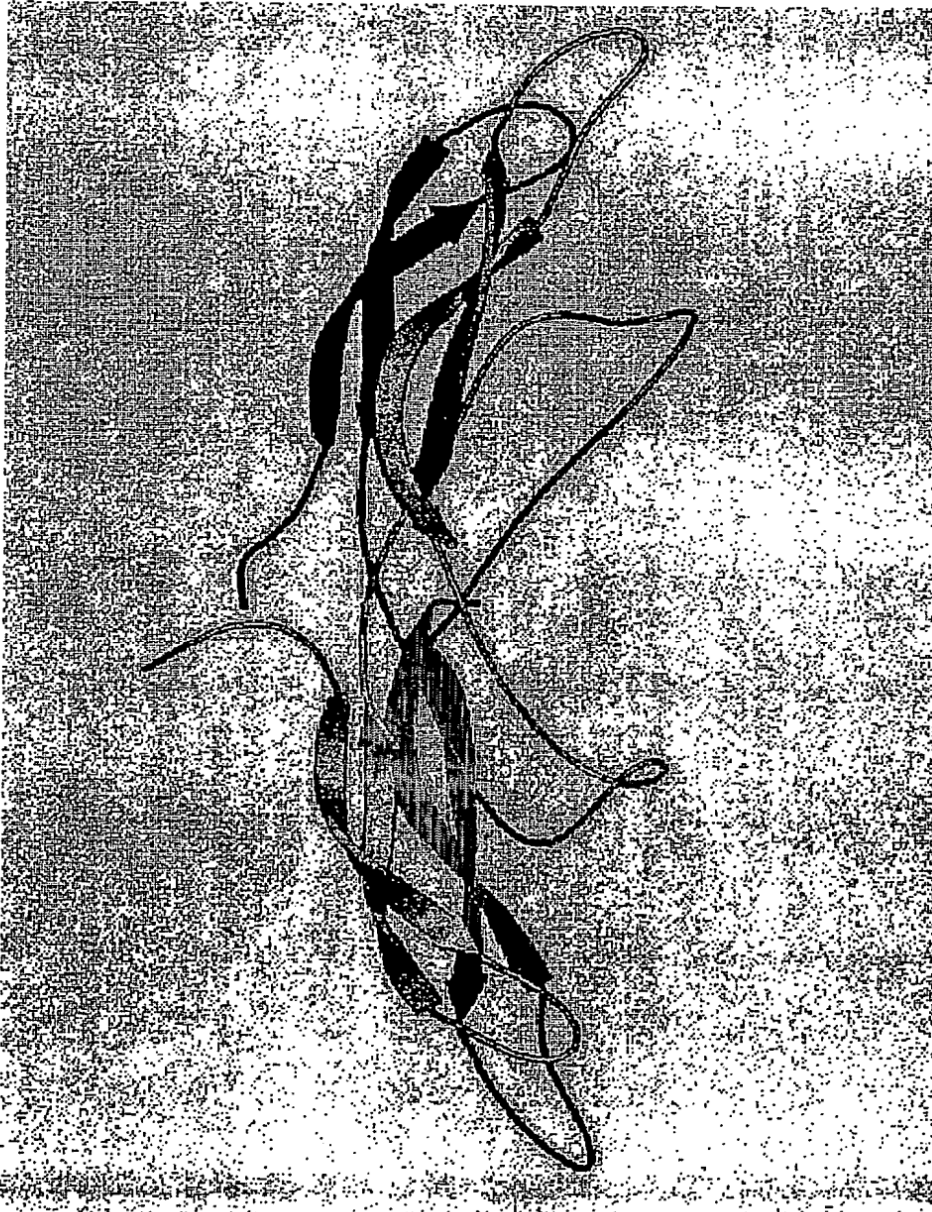


FIG. 9

	20	40	60	
NOGG_HUMANO :	QHYLHIRPA--FSDNLPVLDLIEHPPIFDPKKDLNETLRLSLGGSHYDPGFMATSPP-EDRPG :			62
NOGG_POLLO :	QHYLHIRPA--FSDNLPVLDLIEHPPIFDPKKDLNETLRLSLGGSHYDPNFMAMSLP-EDRLG :			62
NOGG_XENLA :	QHYLHIRPA--FSENLPVLDLIEHPPIYDPKKDLNETLRLSLMGGSHYDPNFMATILP-EERLG :			62
NOGG_FUGRU :	QHYVLLRPI--PSDSLPIVELKEDPPIVFDPKKDLNETLRLKSVLG-DFDSRFLSVLPPAEDGHA :			62
NOGG_CEBRA :	QHYVLLRPI--PSDSLPIVELKEDPPIVLDPKKDLNETLRLAILGGSHFEQNFMSINPP-EDKHA :			62
SOST_HUMANO :	QGWDA--FKNDATEIIP--ELGEMPEP--PPELENNQTMVRAENGGRP-PHHPFETKDV----- :			52
SOST_RATA :	QGWDA--FKNDATEIIP--GLGEMPEP--PPELENNQTMVRAENGGRP-PHHPYDTKDV----- :			52
SOST_RATÓN :	QGWDA--FRNDATEIIP--GLGEMPEP--PPE--NNTMVAENGGRP-PHHPYDAKDV----- :			50
	80	100	120	
NOGG_HUMANO :	GGGGAAGGAEDLAELDQLLRQSPGAMPSEIKGLEFSEGLAQGKKQRLSKLRRKLOMMLWSQTF :			127
NOGG_POLLO :	-----VDDLAELDQLLRQSPGAMPGEIKGLEFYDGLQPGKKHRLSKLRRKLOMMLWSQTF :			119
NOGG_XENLA :	-----VEDLGEDQLLRQSPGAMPAEIKGLEFYEGLQS-KKHRLSKLRRKLOMMLWSQTF :			118
NOGG_FUGRU :	G-----NDELDFD-AQR--WGGALPKETRAVDF-DAPQLGKKHKPSKLLRRLQQLWVYSF :			116
NOGG_CEBRA :	G-----QDELNESE-LMKQRPNGIMPKEIKAMEF-DIQ-HGKKHKPSKLLRRLQLWVSYTF :			117
SOST_HUMANO :	-----			SEYS : 56
SOST_RATA :	-----			SEYS : 56
SOST_RATÓN :	-----			SEYS : 54
	140	160	180	
NOGG_HUMANO :	CP-VLYA--WDLGSRFWRRVYKVGSCYSKRSCSVPEGM-----VCKPKKSVHL :			173
NOGG_POLLO :	CP-VLYT--WDLGSRFWRRVYKVGSCYSKRSCSVPEGM-----VCKPKKSVHL :			165
NOGG_XENLA :	CP-VLYT--WDLGTRFWRRVYKVGSCYSKRSCSVPEGM-----VCKAAKSMHL :			164
NOGG_FUGRU :	CP-LAHA--WDLGSRFWRRVYKVGSCYSKRSCSVPEGM-----TCKPATSTHL :			162
NOGG_CEBRA :	CP-VVHT--WDLGNRFWRRLKVGSCYNKRSCSVPEGM-----VCKPKKSHL :			163
SOST_HUMANO :	CRELHYTFYVTDGPCRSAPVITELVCS--GCGPARULPNAIGRQKWRPSPGPDFRCIIPDRYRAQ :			119
SOST_RATA :	CRELHYTFYVTDGPCRSAPVITELVCS--GCGPARULPNAIGRQKWRPSPGPDFRCIIPDRYRAQ :			119
SOST_RATÓN :	CRELHYTFELTDGPCRSAPVITELVCS--GCGPARULPNAIGRQKWRPSPGPDFRCIIPDRYRAQ :			117

FIG. 10A

	200	220	240	260	
NOGG_HUMANO	TIVLRWPCD-RRGG	RRCGWIPIQYHII	SECKCSC	-----	: 205
NOGG_POLLO	TILRWPCD-RRGG	RRCTWIPIQYHII	AECKCSC	-----	: 197
NOGG_XENLA	TILRWPCD-RRVQ	QKCAWITTIQYFVI	SECKCSC	-----	: 196
NOGG_FUGRU	TILRWPCVQRKV	ELKCAWIPMQYFVI	TDCKCSC	-----	: 195
NOGG_CEBRA	TIVLRWPCVQRK	GGELKCAWIPVQYFVI	SECKCSC	-----	: 196
SOST_HUMANO	RV-QLLCP---GG-	EAPRARKVRLVAS	CKRLTRFHNQSELKDFGTEAARPQKGRKPRPRARS		: 178
SOST_RATA	RV-QLLCP---GG-	AAPRSRKVRLVAS	CKRLTRFHNQSELKDFGPETARPQKGRKPRPRARG		: 178
SOST_RATÓN	RV-QLLCP---GG-	AAPRSRKVRLVAS	CKRLTRFHNQSELKDFGPETARPQKGRKPRPGARG		: 176

NOGG_HUMANO	: -----	: -
NOGG_POLLO	: -----	: -
NOGG_XENLA	: -----	: -
NOGG_FUGRU	: -----	: -
NOGG_CEBRA	: -----	: -
SOST_HUMANO	: AKANQAELENAY	: 190
SOST_RATA	: AKANQAELENAY	: 190
SOST_RATÓN	: AKANQAELENAY	: 188

FIG. 10B



FIG. 11



FIG. 12