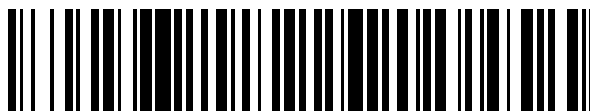


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 444 012**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

A61P 3/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.09.2007 E 07852417 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.11.2013 EP 2074149**

54 Título: **Composiciones y metodos relacionados con anticuerpos de receptores de glucagón**

30 Prioridad:

20.09.2006 US 846202 P

30.08.2007 US 968977 P

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

21.02.2014

73 Titular/es:

**AMGEN INC. (100.0%)
ONE AMGEN CENTER DRIVE
THOUSAND OAKS, CA 91320-1799, US**

72 Inventor/es:

**YAN, HAI;
HU, SHAW-FEN SYLVIA;
BOONE, THOMAS C. y
LINDBERG, RICHARD A.**

74 Agente/Representante:

ZEА CHECA, Bernabé

ES 2 444 012 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 métodos relacionados con anticuerpos de receptores de glucagón

5 **Campo de la invención**

El campo de la presente invención se refiere a composiciones y a métodos relacionados con anticuerpos de receptores de glucagón.

10 **Antecedentes de la invención**

El glucagón es una hormona de 29 aminoácidos procesada a partir de su proforma en las células alfa pancreáticas por expresión específica celular de la prohormona convertasa 2 (Furuta et al., J. Biol. Chem. 276: 27197-27202 (2001)). Durante el ayuno, la secreción de glucagón aumenta en respuesta a la disminución de los niveles de glucosa. El aumento de la secreción de glucagón estimula la producción de glucosa promoviendo la gluconeogénesis y la glucogenólisis hepática. Por lo tanto el glucagón contrarresta los efectos de la insulina manteniendo normales los niveles normales glucosa en animales.

El receptor de glucagón (GCGR) es un miembro de la subfamilia (familia B) de receptores acoplados a la proteína G (GCGR) de la secretina. La estructura del receptor de glucagón humano se conoce en la técnica anterior al igual que los anticuerpos específicos que se unen al receptor (véase Buggy J. et al., "Human glucagon receptor monoclonal antibodies: Antagonism of glucagon action and use in receptor characterization". *Hormone and Metabolic Research* vol. 28, nº 5, a996 págs. 215-219; Wright L. M. et al., "Structure of Fab hGR-2 F6, a competitive antagonist of the glucagon receptor". *Acta Crystallograpica Section D, Biological Crystallography* vol 56, nº Pt, 5 de mayo 2000 (2000-25 5), págs. 573-580; documento EP 1 514 932; documento WO 2006/005469)

El receptor de glucagón se expresa predominantemente en el hígado, donde se regula la producción de glucosa hepática y en el riñón, de ahí su función en la gluconeogénesis. La activación de los receptores de glucagón en el hígado estimula la actividad de la adenil ciclasa y la renovación de fosfoinositol que posteriormente dará como resultado la expresión aumentada de enzimas gluconeogénicas incluyendo la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK), la fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBPase-1) y la glucosa-6-fosfatasa (G-6-Pase). Además, la señalización del glucagón activa a la glucógeno fosforilasa e inhibe a la glucógeno sintasa.

Estudios realizados han demostrado que niveles más altos de glucagón basal y la falta de supresión de la secreción de glucagón postprandial contribuyen a afecciones diabéticas en seres humanos (Muller et al, N Eng J Med 283: 109-115 (1970)). El direccionamiento de la producción o función del glucagón puede ser un método de control y disminución de glucemia. Existe una necesidad permanente de proporcionar tratamientos eficaces para la diabetes de tipo 2. La presente invención aborda esta necesidad proporcionando nuevas composiciones y métodos para el tratamiento de la diabetes de tipo 2 y enfermedades relacionadas.

40

Sumario de la invención

La presente invención proporciona, entre otras cosas, una proteína de unión a antígeno que comprende un dominio variable de cadena ligera que comprende: una secuencia CDR1 de cadena ligera que comprende la SEC ID Nº: 14, una secuencia CDR2 de cadena ligera que comprende la SEC ID Nº: 45 o la SEC ID Nº: 50, y una secuencia CDR3 de cadena ligera que comprende la SEC ID Nº: 74; y un dominio variable de cadena pesada que comprende: una secuencia CDR1 de cadena pesada que comprende la SEC ID Nº: 102, una secuencia CDR2 de cadena pesada que comprende la SEC ID Nº: 128 y una secuencia CD3 de cadena pesada que comprende la SEC ID Nº: 169, y en la cual la proteína de unión a antígeno se une específicamente al receptor de glucagón humano.

50

En un aspecto, la proteína de unión a antígeno comprende adicionalmente un dominio variable de cadena ligera seleccionado del grupo que consiste en una secuencia de aminoácidos con una identidad de al menos 90 % con la SEC ID Nº: 217, 219 o 229, un dominio variable de cadena pesada seleccionado del grupo que consiste en una secuencia de aminoácidos con una identidad de al menos 90 % con la SEC ID Nº: 263, 265 o 275, y una combinación de un dominio variable de cadena ligera y un dominio variable de cadena pesada, en el cual el dominio variable de cadena ligera y el dominio variable de cadena pesada se seleccionan del grupo de combinaciones que consiste en: un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia que tiene una identidad de al menos 90 % con la SEC ID Nº: 217 y un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia con una identidad de al menos 90 % con la SEC ID Nº: 263; un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia con una identidad de al menos 90 % con la SEC ID Nº: 219 y un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia con una identidad de al menos 90 % con la SEC ID Nº: 265; y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia con una identidad de al menos 90 % con la SEC ID Nº: 229, y un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia con una identidad de al menos 90 % con la SEC ID Nº: 275, en la cual la proteína de unión a antígeno se une específicamente al receptor de glucagón humano.

65

Específicamente, el dominio variable de cadena ligera y el dominio variable de cadena pesada de la proteína de unión a antígeno puede seleccionarse del grupo de combinaciones que consiste en: un dominio variable de cadena ligera que tiene la secuencia como se indica en la SEC ID N°: 217 y un dominio variable de cadena pesada que tiene la secuencia como se indica en la SEC ID N°: 263; un dominio variable de cadena ligera que tiene la secuencia como se indica en la SEC ID N°: 219 y un dominio variable de cadena pesada que tiene la secuencia como se indica en la SEC ID N°: 265; y un dominio variable de cadena ligera que tiene la secuencia como se indica en la SEC ID N°: 229, y un dominio variable de cadena ligera que tiene la secuencia como se indica en SEC ID N°: 275, en la cual la proteína de unión a antígeno se une específicamente al receptor de glucagón humano.

10 Esta proteína de unión a antígeno puede comprender adicionalmente la secuencia constante de cadena ligera de la SEC ID N°: 305; la secuencia constante de cadena ligera de la SEC ID N°: 307; la secuencia constante de cadena pesada de la SEC ID N°: 309; la secuencia constante de cadena ligera de la SEC ID N°: 305 y la secuencia constante de cadena pesada de la SEC ID N°: 309, o la secuencia constante de cadena ligera de la SEC ID N°: 307 y la secuencia constante de cadena pesada de la SEC ID N°: 309.

15 La proteína de unión a antígeno de la invención puede seleccionarse del grupo que consiste en un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal, un anticuerpo recombinante, un fragmento de anticuerpo de unión a antígeno, un anticuerpo monocaténario, un diacuerpo, un triacuerpo, un tetracuerpo, un fragmento de Fab, un fragmento F (fa')x, un anticuerpo de dominio, un anticuerpo de IgD, un anticuerpo de IgE, un anticuerpo de IgM, un anticuerpo de IgG1, un anticuerpo de IgG2, un anticuerpo de IgG3, un anticuerpo de IgG4 y un anticuerpo de IgG4 que tiene al menos una mutación en la región bisagra.

25 Específicamente, la proteína de unión a antígeno de la invención descrita anteriormente puede ser un anticuerpo humano. Este anticuerpo humano puede comprender una cadena ligera que tiene la SEC ID N°: 312 y una cadena pesada que tiene la SEC ID N°: 311; o una cadena ligera que tiene la SEC ID N°: 310 y una cadena pesada que tiene la SEC ID N°: 311. En la invención también se incluye un hibridoma capaz de producir el anticuerpo humano de la invención.

30 Cuando la proteína de unión a antígeno de la invención se une al receptor de glucagón humano, también puede unirse al receptor de glucagón humano sustancialmente con la misma K_d que un anticuerpo de referencia, inhibir la estimulación de glucagón del receptor de glucagón humano sustancialmente con la misma CI₅₀ que dicho anticuerpo de referencia, o competir en cruzado por la unión con dicho anticuerpo de referencia en el receptor de glucagón humano, en el cual dicho anticuerpo de referencia comprende una combinación de secuencias de dominio variable de cadena ligera y cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia como se indica en la SEC ID N°: 217 y un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia como se indica en la SEC ID N°: 263; un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia como se indica en la SEC ID N°: 219 y un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia como se indica en la SEC ID N°: 265; y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia como se indica en la SEC ID N°: 229, y un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia como se indica en SEC ID N°: 275.

La invención también incluye una composición farmacéutica que comprende la proteína de unión a antígeno de la invención en mezcla con un transportador farmacéuticamente aceptable del mismo.

45 También se incluye un ácido nucleico que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica el dominio variable de cadena ligera, el dominio variable de cadena pesada, o ambos, de la proteína de unión a antígeno de la invención. El polinucleótido que codifica este ácido nucleico puede incluir la secuencia de cadena ligera seleccionada de la SEC ID N°: 216, 218 y 228; y la secuencia de cadena pesada seleccionada de la SEC ID N°: 262, 264 y 274. También se incluye un vector de expresión recombinante que comprende el ácido nucleico descrito anteriormente y una célula hospedadora que comprende este vector.

La invención también proporciona un método para producir una proteína de unión a antígeno que se une específicamente al receptor de glucagón humano que comprende incubar la célula hospedadora descrita anteriormente en condiciones que permitan que esta exprese la proteína de unión a antígeno.

55 La invención también incluye una composición farmacéutica que comprende la proteína de unión a antígeno de la invención en mezcla con un transportador farmacéuticamente aceptable del mismo. La proteína de unión a antígeno de la invención o la composición farmacéutica que comprende la proteína de unión a antígeno puede usarse para disminuir la glucosa en sangre, mejorar la tolerancia a glucosa, o prevenir o tratar la diabetes tipo 2 o un trastorno relacionado en un sujeto que necesite dicho tratamiento. El trastorno relacionado puede ser hiperglucemia, glucemia basal alterada, tolerancia alterada a glucosa, dislipidemia, o síndrome metabólico.

La invención también proporciona un kit para el tratamiento de la diabetes de tipo 2 que comprende la composición farmacéutica descrita anteriormente.

También se describe una proteína de unión a antígeno aislada que comprende cualquiera de: a. una CDR3 de cadena ligera que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: i. una secuencia CDR3 de cadena ligera que difiere en no más de un total de tres adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR3 seleccionada del grupo que consiste en las secuencias CDR3 de cadena ligera de L1-L23, SEC ID Nos: 72; 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 100; ii. L Q X₂₁ N S X₂₂ P L T (SEC ID N°: 208), iii. Q A W D S X₂₃ T V X₂₄ (SEC ID N°: 209); y b. una secuencia CDR3 de cadena pesada que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: i. una secuencia CDR3 de cadena pesada que difiere en no más de un total de cuatro adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR3 seleccionada del grupo que consiste en las secuencias CDR3 de cadena pesada de H1-H23, SEC ID N°: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199; ii. E X₂₅ X₂₆ X₂₇ Y D I L T G Y X₂₈ X₂₉ Y Y G X₃₀ D V (SEC ID N°: 210) iii. X₃₁, G G G F D Y (SEC ID N°: 211); o c. la secuencia CDR3 de cadena ligera de (a) y la secuencia CDR3 de cadena pesada de (b); en la cual, X₂₁ es un resto de histidina, o un resto de glutamina, X₂₂ es un resto de asparagina, un resto de aspartato, o un resto de tirosina, X₂₃ es un resto de asparagina o un resto de serina, X₂₄ es un resto de isoleucina o un resto de valina, X₂₅ es un resto de lisina, un resto de glutamato, o un resto de prolina, X₂₆ es un resto de aspartato, un resto de treonina, un resto de glutamina, o un resto de prolina, X₂₇ es un resto de histidina o un resto de tirosina, X₂₈ es un resto de asparagina, un resto de histidina, un resto de aspartato o un resto de fenilalanina, X₂₉ es un resto de tirosina, un resto de histidina, o un resto de asparagina, X₃₀ es un resto de leucina o un resto de metionina, X₃₁ es un resto de leucina o un resto de metionina, en la cual dicha proteína de unión a antígeno se une específicamente al receptor de glucagón humano.

En otro aspecto, la proteína de unión aislada comprende adicionalmente una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: a. una secuencia CDR1 de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en: i. una CDR1 de cadena ligera que difiere en no más de tres adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR1 de L1-L23, SEC ID Nos: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 y 41, ii. R S X₁, Q S L D X₂ X₃ D G T Y T L D (SEC ID N°: 200); iii. R A S Q X₄ I R N D X₅ G (SEC ID N°: 201); y iv. S G D K L G D K Y X₆ C (SEC ID N°: 202); en la cual X₁ es un resto de serina o un resto de treonina, X₂ es un resto de arginina o un resto de serina, X₃ es un resto de aspartato o un resto de alanina, X₄ es un resto de glicina o un resto de aspartato, X₅ es un resto de leucina o un resto de fenilalanina, X₆ es un resto de valina o un resto de alanina, b. una secuencia CDR2 de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en: i. una CDR2 de cadena ligera que difiere en no más de dos adiciones de sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR2 de L1-L23, SEC ID Nos: 43, 45, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68 y 70; ii. A A S D L X₉ S (SEC ID N°: 204); y iii. Q X₁₀ X₁₁ K R P S (SEC ID N°: 205); en la cual X₉ es un resto de glutamina o un resto de glutamato, X₁₀ es un resto de serina o un resto de treonina, X₁₁ es un resto de treonina, o un resto de serina; c. una secuencia CDR1 de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en: i. una CDR1 de cadena pesada que difiere en no más de dos adiciones, sustituciones, y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR1 de H1-H23, SEC ID Nos: 102, 104, 106, 108, 111, 113, 115, 117, 118, 120 y 122, ii. X₇ Y X₈ M H (SEC ID N°: 203) en la cual X₇ es un resto de serina o un resto de treonina, X₈ es un resto de glicina o un resto de aspartato; y d. una CDR2 de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en: i. una secuencia pesada que difiere en no más de tres adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR2 de H1-H23, SEC ID Nos: 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 y 163; ii. X₁₂ I W X₁₃ D G S X₁₄ K Y Y X₁₅ D S V K G (SEC ID N°: 206); y iii. X₁₆ I S X₁₇ D G S X₁₈ K Y X₁₉ X₂₀ D S V K G (SEC ID N°: 207); en la cual X₁₂ es un resto de serina, un resto de fenilalanina, un resto de valina o un resto de glutamato, X₁₃ es un resto de tirosina o un resto de asparagina, X₁₄ es un resto de asparagina o un resto de glutamato, X₁₅ es un resto de valina o un resto de alanina, X₁₆ es un resto de valina o un resto de fenilalanina, X₁₇ es un resto de histidina, o un resto de aspartato, o un resto de tirosina, X₁₈ es un resto de aspartato, un resto de asparagina, o un resto de histidina, X₁₉ es un resto de tirosina, o un resto de serina, X₂₀ es un resto de alanina o un resto de glicina; en la cual dicha proteína de unión a antígeno se une específicamente al receptor de glucagón humano.

En un aspecto adicional, la proteína de unión aislada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: a. una secuencia CDR1 de cadena ligera que difiere en no más de dos adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR1 de L1-L23, SEC ID Nos: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 y 41; b. una secuencia CDR2 de cadena ligera que difiere en no más de una adición, sustitución y/o delección de aminoácido de una secuencia CDR2 de L1-L23, SEC ID Nos: 43, 45, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68 y 70; c. una secuencia CDR3 de cadena ligera que difiere en no más de dos adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR3 de L1-L23, SEC ID Nos: 72, 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97 y 100; d. una secuencia CDR1 de cadena pesada que difiere en no más de una adición, sustitución y/o delección de aminoácido de una secuencia CDR1 de H1-H23, SEC ID Nos: 102, 104, 106, 108, 111, 113, 115, 117, 118, 120 y 122; e. una secuencia CDR2 de cadena pesada que difiere en no más de dos adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR2 de H1-H23, SEC ID Nos: 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 y 163; y f. una secuencia CDR3 de cadena pesada que difiere en no más de tres adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR3 de H1-H23, SEC ID Nos: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197 y 199, en la cual la proteína de unión a antígeno se une específicamente al receptor de glucagón humano.

En un aspecto adicional, la proteína de unión aislada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: a. una secuencia CDR1 de cadena ligera que difiere en no más de una adición, sustitución y/o delección de aminoácido de una secuencia CDR1 de L1-L23, SEC ID Nos: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 y 41; b. una secuencia CDR2 de cadena ligera de L1-L23, SEC ID N°: 43, 45, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68 y 70; c. una secuencia CDR3 de cadena ligera que difiere en no más de una adición, sustitución y/o delección de aminoácido de una secuencia CDR3 de L1-L23, SEC ID Nos : 72, 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97 y 100; d. una secuencia CDR1 de cadena pesada de H1-H23, SEC ID Nos: 102, 104, 106, 108, 111, 113, 115, 117, 118, 120 y 122; e. una secuencia CDR2 de cadena pesada que difiere en no más de una adición , sustitución y/o delección de aminoácido de una secuencia CDR2 de H1-H23, SEC ID Nos: 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 y 163; y f. una secuencia CDR3 de cadena pesada que difiere en no más de dos adiciones, sustituciones, y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR3 de H1-H23, SEC ID Nos: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197 y 199, en la cual la proteína de unión a antígeno se une específicamente al receptor de glucagón humano

En un aspecto adicional, la proteína de unión aislada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: a. una secuencia CDR1 de cadena ligera de L1-L23, SEC ID Nos: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 y 41; b. una secuencia CDR3 de cadena ligera de L1-L23, SEC ID Nos: 72, 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97 y 100; c. una secuencia CDR2 de cadena pesada de H1-H23, SEC ID Nos: 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 y 163; y d. una secuencia CDR3 de cadena pesada que difiere en no más de una adición, sustitución y/o delección de aminoácido de una secuencia CDR3 de H1-H23, SEC ID Nos: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197 y 199, en la cual la proteína de unión a antígeno se une específicamente al receptor de glucagón humano.

En otro aspecto adicional, la proteína de unión aislada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: una secuencia CDR3 de cadena pesada de H1-H23, SEC ID Nos: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197 y 199, en la cual la proteína de unión a antígeno se une específicamente al receptor de glucagón humano.

En otro aspecto, la proteína de unión aislada comprende dos secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en: a. una secuencia CDR1 de cadena ligera que difiere en no más de tres adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR1 de L1-L23, SEC ID Nos: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 y 41; b. una secuencia CDR2 de cadena ligera que difiere en no más de dos adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR2 de L1-L23, SEC ID Nos: 43, 45, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68 y 70; c. una secuencia CDR3 de cadena ligera que difiere en no más de tres adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR3 de L1-L23, SEC ID Nos: 72 , 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97 y 100; d. una secuencia CDR1 de cadena pesada que difiere en no más de dos adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR1 de H1-H23, SEC ID Nos: 102, 104, 106, 108, 111, 113, 115, 117, 118, 120 y 122; e. una secuencia CDR2 de cadena pesada que difiere en no más de tres adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR2 de H1-H23, SEC ID Nos: 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 y 163, y f. una secuencia CDR3 de cadena pesada que difiere en no más de cuatro adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR3 de H1-H23, SEC ID Nos: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197 y 199, en la cual la proteína de unión a antígeno se une específicamente al receptor de glucagón humano.

En otro aspecto, la proteína de unión aislada comprende tres secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en: a. una secuencia CDR1 de cadena ligera que difiere en no más de tres adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR1 de L1-L23, SEC ID Nos: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 y 41; b. una secuencia CDR2 de cadena ligera que difiere en no más de dos adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR2 de L1-L23, SEC ID Nos: 43, 45, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68 y 70; c. una secuencia CDR3 de cadena ligera que difiere en no más de tres adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR3 de L1-L23, SEC ID Nos: 72, 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97 y 100; d. una secuencia CDR1 de cadena pesada que difiere en no más de dos adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR1 de H1-H23, SEC ID Nos: 102, 104, 106, 108, 111, 113, 115, 117, 118, 120 y 122; e. una secuencia CDR2 de cadena pesada que difiere en no más de tres adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR2 de H1-H23, SEC ID Nos: 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 y 163; y f. una secuencia CDR3 de cadena pesada que difiere en no más de cuatro adiciones, sustituciones y/o delecciones de aminoácidos de una secuencia CDR3 de H1-H23, SEC ID Nos: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197 y 199; en la cual la proteína de unión a antígeno se une específicamente al receptor de glucagón humano.

En otro aspecto, la proteína de unión aislada comprende cuatro secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en: a. una secuencia CDR1 de cadena ligera que difiere en no más de tres adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos de una secuencia CDR1 de L1-L23, SEC ID Nos: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 y 41; b. una secuencia CDR2 de cadena ligera que difiere en no más de dos adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos de una secuencia CDR2 de L1-L23, SEC ID Nos: 43, 45, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68 y 70; c. una secuencia CDR3 de cadena ligera que difiere en no más de tres adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos de una secuencia CDR3 de L1-L23, SEC ID Nos: 72, 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97 y 100; d. una secuencia CDR1 de cadena pesada que difiere en no más de dos adiciones, sustituciones, y/o deleciones de aminoácidos de una secuencia CDR1 de H1-H23, SEC ID Nos: 102, 104, 106, 108, 111, 113, 115, 117, 118, 120 y 122; e. una secuencia CDR2 de cadena pesada que difiere en no más de tres adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos de una secuencia CDR2 de H1-H23, SEC ID Nos: 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 y 163; y f. una secuencia CDR3 de cadena pesada que difiere en no más de cuatro adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos de una secuencia CDR3 de H1-H23, SEC ID Nos: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197 y 199 en la cual la proteína de unión a antígeno se une específicamente al receptor de glucagón humano. En otro aspecto, la proteína de unión aislada comprende cinco secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en: a. una secuencia CDR1 de cadena ligera que difiere en no más de tres adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos de una secuencia CDR1 de L1-L23, SEC ID Nos: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 y 41; b. una secuencia CDR2 de cadena ligera que difiere en no más de dos adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos de una secuencia CDR2 de L1-L23, SEC ID Nos: 43, 45, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68 y 70; c. una secuencia CDR3 de cadena ligera que difiere en no más de tres adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos de una secuencia CDR3 de L1-L23, SEC ID Nos: 72, 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97 y 100; d. una secuencia CDR1 de cadena pesada que difiere en no más de dos adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos de una secuencia CDR1 de H1-H23, SEC ID Nos: 102, 104, 106, 108, 111, 113, 115, 117, 118, 120 y 122; e. una secuencia CDR2 de cadena pesada que difiere en no más de tres adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos de una secuencia CDR2 de H1-H23, SEC ID Nos: 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 y 163; y f. una secuencia CDR3 de cadena pesada que difiere en no más de cuatro adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos de una secuencia CDR3 de H1-H23, SEC ID Nos: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, y 199 en la cual la proteína de unión a antígeno se une específicamente al receptor de glucagón humano.

En otro aspecto, la proteína de unión aislada comprende: a. una secuencia CDR1 de cadena ligera que difiere en no más de tres adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos de una secuencia CDR1 de L1-L23, SEC ID Nos: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 y 41; b. una secuencia CDR2 de cadena ligera que difiere en no más de dos adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos de una secuencia CDR2 de L1-L23, SEC ID Nos: 43, 45, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68 y 70; c. una secuencia CDR3 de cadena ligera que difiere en no más de tres adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos de una secuencia CDR3 de L1-L23, SEC ID Nos: 72, 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97 y 100; d. una secuencia CDR1 de cadena pesada que difiere en no más de dos adiciones, sustituciones, y/o deleciones de aminoácidos de una secuencia CDR1 de H1-H23, SEC ID Nos: 102, 104, 106, 108, 111, 113, 115, 117, 118, 120 y 122; e. una secuencia CDR2 de cadena pesada que difiere en no más de tres adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos de una secuencia CDR2 de H1-H23, SEC ID Nos: 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 y 163; y f. una secuencia CDR3 de cadena pesada que difiere en no más de cuatro adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos de una secuencia CDR3 de H1-H23, SEC ID Nos: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197 y 199, en la cual la proteína de unión a antígeno se une específicamente al receptor de glucagón humano.

En otro aspecto, la proteína de unión a antígeno aislada comprende cualquiera de: a. un dominio variable de cadena ligera que comprende i. una secuencia CDR1 de cadena ligera seleccionada de la SEC ID Nos: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 y 41; ii. una secuencia CDR2 de cadena ligera seleccionada de la SEC ID Nos: 43, 45, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68 y 70, y iii. una secuencia CDR3 de cadena ligera seleccionada de la SEC ID Nos: 72, 74, 76, 78, 80, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97 y 100; b. un dominio variable de cadena pesada que comprende: i. una secuencia CDR1 de cadena pesada seleccionada de la SEC ID Nos: 102, 104, 106, 108, 111, 113, 115, 117, 118, 120 y 122; ii. una secuencia CDR2 de cadena pesada seleccionada de la SEC ID Nos: 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 y 163; y iii. una secuencia CDR3 de cadena pesada seleccionada de la SEC ID Nos: 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197 y 199; o c. el dominio variable de cadena ligera de (a) y el dominio variable de cadena pesada de (b), en la cual la proteína de unión a antígeno se une específicamente al receptor de glucagón humano.

En otro aspecto, la proteína de unión a antígeno aislada comprende cualquiera de: a. una secuencia de dominio variable de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en: i. aminoácidos que tienen una secuencia al menos 80 % idéntica a una secuencia de dominio variable de cadena ligera seleccionada de L1-L23, SEC ID Nos: 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255 y 257; ii. una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de polinucleótidos que es al menos 80 % idéntica a

- una secuencia de polinucleótidos que codifica la secuencia de dominio variable de cadena ligera de L1-L23, SEC ID Nos: 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254 y 256; iii. una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de polinucleótidos que se hibrida en condiciones moderadamente rigurosas con el complemento de un polinucleótido que consiste en una secuencia de dominio variable de cadena ligera de L1-L23 de la SEC ID Nos: 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254 y 256; b. una secuencia de dominio variable de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en: i. una secuencia de aminoácidos que es al menos 80 % idéntica a una secuencia de dominio variable de cadena pesada de H1-H23 de la SEC ID Nos: 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301 y 303; ii. una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de polinucleótidos que es al menos 80 % idéntica a una secuencia de polinucleótidos que codifica la secuencia de dominio variable de cadena pesada de H1-H23, SEC ID Nos: 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300 y 302; iii. una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de polinucleótidos que se hibrida en condiciones moderadamente rigurosas con el complemento de un polinucleótido que consiste en una secuencia de dominio variable de cadena pesada de H1-H23, SEC ID Nos: 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300 y 302; o c. el dominio variable de cadena ligera de (a) y el dominio variable de cadena pesada de (b), en la cual dicha proteína de unión a antígeno se une específicamente al receptor de glucagón humano.
- 20 En una realización, la proteína de unión a antígeno aislada comprende cualquiera de: a. una secuencia de dominio variable de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en: L1-L23 de la SEC ID Nos: 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255 y 257; b. una secuencia de dominio variable de cadena pesada seleccionada el grupo que consiste en: H1-H23 de la SEC ID Nos: 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301 y 303; o c. el dominio variable de cadena ligera de (a) y el dominio variable de cadena pesada de (b) en la cual la proteína de unión a antígeno se une específicamente al glucagón humano.

- En otra realización, la proteína de unión a antígeno aislada comprende una combinación de un dominio variable de cadena ligera y un dominio variable de cadena pesada seleccionada del grupo de combinaciones que consiste en: L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22 y L23H23, en la cual la proteína de unión a antígeno se une específicamente al receptor de glucagón humano. En una realización, la proteína de unión a antígeno aislada comprende adicionalmente: la secuencia constante de cadena ligera de la SEC ID N°: 305; la secuencia constante de cadena ligera de la SEC ID N°: 307; la secuencia constante de cadena pesada de la SEC ID N°: 309; la secuencia constante de cadena ligera de la SEC ID N°: 305 y la secuencia constante de cadena pesada de la SEC ID N°: 309; o la secuencia constante de cadena ligera de la SEC ID N°: 307 y la secuencia constante de cadena pesada de la SEC ID N°: 309.

- En un aspecto, la proteína de unión a antígeno aislada se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, anticuerpo quimérico, un anticuerpo monoclonal, un policlonal, un anticuerpo recombinante, un fragmento de anticuerpo de unión a antígeno, un anticuerpo monocaténario, un diacuerpo, un triacuerpo, un tetracuerpo, un fragmento Fab, un fragmento F(fa')x, un anticuerpo de dominio, un anticuerpo de IgD, un anticuerpo de IgE, un anticuerpo de IgM, un anticuerpo de IgG1, un anticuerpo de IgG2, un anticuerpo de IgG3, un anticuerpo de IgG4 y un anticuerpo de IgG4 que tiene al menos una mutación en la región bisagra que atenúa una tendencia a formar enlaces disulfuro intracatenarios-H. En una realización, la proteína de unión a antígeno es un anticuerpo humano.

- En otro aspecto, cuando la proteína de unión a antígeno aislada se une al receptor de glucagón humano: a. se une al receptor de glucagón humano sustancialmente con la misma Kd que un anticuerpo de referencia; b. inhibe la estimulación de glucagón del receptor de glucagón humano sustancialmente con la misma CI₅₀ que dicho anticuerpo de referencia, o c. compite por la unión con dicho anticuerpo de referencia, en la cual dicho anticuerpo de referencia comprende una combinación de secuencias de dominio variable de cadena ligera y cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L11H11, L12H12, L13H13, L15H15, L21H21 y L22H22.

- En otro aspecto, se describe un anticuerpo humano aislado que, cuando se une al receptor de glucagón humano: a. se une al receptor de glucagón humano sustancialmente con la misma Kd que un anticuerpo de referencia; b. inhibe la estimulación de glucagón del receptor de glucagón humano sustancialmente con la misma CI₅₀ que dicho anticuerpo de referencia, o c. compite por la unión con dicho anticuerpo de referencia, en el cual dicho anticuerpo de referencia comprende una combinación de secuencias de dominio variable de cadena ligera y cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en A-1, A-2, A-3, A-4, A-5, A-6, A-7, A-8, A-9, A-11, A-12, A-13, A-15, A-21 y A-22.

- En otro aspecto, se describe un anticuerpo humano aislado que, cuando se une al receptor de glucagón humano: a. se une específicamente de Ser80 a Ser119 del receptor de glucagón humano; b. reduce la señalización de glucagón

con un valor CI_{50} de 90 nM o menor; c. disminuye la glucosa en sangre en un modelo animal; d. tanto a y b, o e, tanto a, b y c. En una realización, el modelo animal es el modelo animal ob/ob.

En otro aspecto, se describe una composición farmacéutica que comprende las proteínas de unión a antígeno en
5 mezcla con un transportador farmacéuticamente aceptable. En otra realización, la composición farmacéutica comprende un anticuerpo humano aislado en mezcla con un transportador farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto, se describe una molécula de ácido nucleico aislada que comprende la secuencia de polinucleótidos que codifica el dominio variable de cadena ligera, el dominio variable de cadena pesada, o ambos, de una proteína
10 de unión a antígeno de la invención. En una realización, el polinucleótido comprende una secuencia de polinucleótidos de dominio variable de cadena ligera L1-L23, SEC ID Nos: 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254 y 256, una secuencia de polinucleótidos de dominio variable de cadena pesada H1-H23, SEC ID Nos: 258, 260, 262, 264, 266, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300, 302 o ambas.

15 También se describen vectores que comprenden los polinucleótidos descritos. En una realización, el vector es un vector de expresión. También se describe una célula hospedadora que comprende el vector. También se describe un hibridoma capaz de producir la proteína de unión a antígeno de la invención. Adicionalmente se describe un método para fabricar la proteína de unión a antígeno de la presente invención que comprende cultivar la célula
20 hospedadora en condiciones que permitan que la célula exprese la proteína de unión a antígeno de la invención.

También se describe un método de disminución de glucosa en sangre en un sujeto que lo necesite que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de las composiciones farmacéuticas. También se describe un método para mejorar la tolerancia a la glucosa en un sujeto que lo necesite que comprende administrar
25 al sujeto una dosificación terapéuticamente eficaz de las composiciones farmacéuticas. También se describe un método para prevenir o tratar la diabetes de tipo 2 o trastornos relacionados en un sujeto que lo necesite administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de las composiciones farmacéuticas. En una realización, el sujeto es un sujeto humano. En otra realización, el trastorno relacionado se selecciona de hiperglucemia, glucosa basal alterada, tolerancia alterada a glucosa, dislipidemia y síndrome metabólico. También
30 se describe el uso de las composiciones farmacéuticas desveladas en la preparación de un medicamento útil para la disminución de la glucosa en sangre, prevención o tratamiento de la diabetes tipo 2 y trastornos relacionados incluyendo hiperglucemia, glucosa basal alterada, tolerancia alterada a glucosa, dislipidemia y síndrome metabólico.

Breve descripción de las figuras

35 La Figura 1 muestra niveles de glucosa en sangre de ratones ob/ob macho de 14 semanas de vida después de una sola inyección de anticuerpo A-3 o anticuerpo A-4 en comparación con tampón, a una dosis de 1 o 3 mg/kg ($n = 10$ animales/grupo). La glucosa en sangre se midió en el momento 0 y 24, 48, 96, 120, 144, 192 y 240 horas después de la inyección.

40 La Figura 2 muestra niveles de glucosa en sangre de ratones ob/ob macho de 14 semanas de vida después de una sola inyección de anticuerpo A-3, o anticuerpo A- 9 en comparación con tampón a una dosis de 1 o 3 mg/kg, ($n = 10$ animales/grupo). La glucosa en sangre se midió en el momento 0 y 24, 72, 120, 192 y 240 horas después de la inyección.

45 La Figura 3 muestra los resultados de un ensayo de tolerancia a glucosa oral (GTT, *Glucose Tolerance Test*) mostrando los niveles bajo la curva (ABC) de glucosa antes de (GTT1 y GTT2) y después (GTT3, 4 y 5) de una sola inyección subcutánea de vehículo o anticuerpo 9 (A9).

50 La Figura 4 muestra anticuerpos no marcados capaces de competir por la unión con el anticuerpo A-3 marcado (anticuerpos superables).

La Figura 5 muestra anticuerpos no marcados capaces de competir parcialmente por la unión con el anticuerpo A-3 marcado (anticuerpos parcialmente superables).

55 La Figura 6 muestra anticuerpos no marcados incapaces de competir por la unión con el anticuerpo A-3 marcado (anticuerpos insuperables).

La Figura 7 muestra los resultados de los estudios de unión de cuatro anticuerpos anti-GCGR contra receptores
60 quiméricos contruidos a partir del GCGR y de receptores de GLP-1 humano, como se indica.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a proteínas de unión a antígeno tales como anticuerpos que se unen
65 específicamente al receptor de glucagón humano (GCGR). Estas incluyen proteínas de unión a antígeno que inhiben

o bloquea la unión de glucagón al GCGR humano, y reducen la señalización de glucagón a través del receptor. En una realización, se proporcionan anticuerpos humanos que incluyen anticuerpos antagonistas capaces de disminuir la glucosa en sangre en modelos animales. Las proteínas de unión a antígeno son útiles para el tratamiento de la diabetes y de enfermedades relacionadas.

5

La presente invención proporciona adicionalmente composiciones, kits y métodos relacionados con las proteínas de unión a antígeno que se unen específicamente al receptor de glucagón humano. También se proporcionan moléculas de ácido nucleico, y derivados y fragmentos de los mismos, que comprenden una secuencia de polinucleótidos que codifican todo o parte de un polipéptido que se une al receptor de glucagón, tal como un ácido nucleico que codifica todo o parte de un anticuerpo anti-receptor de glucagón, un fragmento de anticuerpo, o un derivado de anticuerpo. La presente invención proporciona adicionalmente vectores y plásmidos que comprenden dichos ácidos nucleicos y células o líneas de celulares que comprenden dichos ácidos nucleicos y/o vectores y plásmidos. Los métodos proporcionados incluyen, por ejemplo, métodos para fabricar, identificar o aislar proteínas de unión a antígeno que se unen al GCGR humano, tales como anticuerpos anti-GCGR, métodos para determinar si una proteína de unión a antígeno se une al GCGR, métodos para fabricar composiciones, tales como composiciones farmacéuticas, que comprenden una proteína de unión a antígeno que se une al GCGR humano, y métodos para administrar a un sujeto una proteína de unión a antígeno que se une al GCGR, por ejemplo, métodos para tratar una afección mediada por GCGR, y para modular una actividad biológica asociada con la señalización de glucagón *in vivo* o *in vitro*.

20

Definiciones

Las secuencias de polinucleótidos y de polipéptidos se indican usando abreviaturas convencionales de una o tres letras. A menos que se indique otra cosa, las secuencias de polipéptidos tienen sus extremos amino a la izquierda y sus extremo carboxilo a la derecha, y las secuencias de ácido nucleico monocatenario, y la cadena superior de las secuencias de ácido nucleico bicatenario, tienen sus extremos 5' a la izquierda y sus extremos 3' a la derecha. Una sección particular de un polipéptido puede denominarse por el número de resto de aminoácido tal como aminoácidos 80 a 119, o por el resto real en ese sitio tal como de Ser80 a Ser119. Una secuencia de polipéptidos o de polinucleótidos también puede describirse explicando cómo se diferencia de una secuencia de referencia. Las secuencias de polinucleótidos y de polipéptidos de dominios variables de cadena pesada y ligera particular se denominan L1 ("dominio variable de cadena ligera 1"), H1 ("dominio variable de cadena pesada 1"). Las proteínas de unión a antígeno o los anticuerpos que comprenden una cadena ligera y una cadena pesada se indican combinando el nombre de los dominios variables de la cadena ligera y el nombre de los dominios variables de la cadena pesada. Por ejemplo, "L4H7", indica un anticuerpo que comprende el dominio variable de cadena ligera de L4 y el dominio variable de cadena pesada de H7.

35

A menos que se defina de otra manera en el presente documento, los términos científicos y técnicos usados en relación con la presente invención tendrán los significados normalmente comprendidos por los expertos habituales en la materia. Adicionalmente, a menos que lo requiera el contexto de otra manera, los términos en singular incluirán el plural y los términos en plural incluirán el singular. Generalmente, las nomenclaturas usadas en relación con, y técnicas de, cultivo celular y tisular, biología molecular, inmunología, microbiología, genética y química de proteínas y de ácidos nucleicos e hibridación descritas en el presente documento son aquellas bien conocidas y normalmente usadas en la técnica. Los métodos y técnicas de la presente invención se realizan generalmente de acuerdo con métodos convencionales bien conocidos en la técnica y se describen en diversas referencias generales y más específicas que se citan y se comentan a lo largo de la presente memoria descriptiva a menos que se indique de otra manera. Véase, por ejemplo, Sambrook et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2ª ed, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989) y Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates (1992), y Harlow y Lane Antibodies: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990). Las reacciones enzimáticas y técnicas de purificación se realizan de acuerdo con las especificaciones del fabricante, como normalmente se realizan en la técnica o como se describe en el presente documento. La terminología usada en relación con, y los procedimientos y técnicas de laboratorio de, química analítica, química orgánica sintética y química médica y farmacéutica descritos en el presente documento son los bien conocidos y normalmente usados en la técnica. Pueden usarse técnicas convencionales para la síntesis química, el análisis químico, las preparaciones farmacéuticas, formulación, administración y tratamiento de pacientes.

55

A menos que se indique otra cosa, se entenderá que las siguientes expresiones tienen los siguientes significados: la expresión "molécula aislada" (en la cual la molécula es, por ejemplo, un polipéptido, un polinucleótido o un anticuerpo) es una molécula que, en virtud de su origen o fuente de procedencia (1) no está asociada con componentes naturalmente asociados que la acompañan en su estado nativo, (2) está sustancialmente libre de otras moléculas de la misma especie (3) se expresa por una célula de diferente especie, o (4) no se produce en la naturaleza. Por tanto, una molécula que se sintetiza químicamente, o que se expresa en un sistema celular diferente al de la célula de la que se origina naturalmente, estará "aislada" de sus componentes naturalmente asociados. Mediante aislamiento, una molécula también puede liberarse sustancialmente de componentes con los que está asociada de manera natural, usando técnicas de purificación bien conocidas en la materia. La pureza u

65

homogeneidad de una molécula puede ensayarse mediante diversos medios bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, la pureza de una muestra polipeptídica puede ensayarse usando electroforesis en gel de poliacrilamida y tinción del gel para visualizar el polipéptido usando técnicas bien conocidas en la materia. Para determinados fines, puede proporcionarse mayor resolución usando HPLC u otros medios de purificación bien conocidos en la materia.

5 Los términos “inhibidor de glucagón” y “antagonistas de glucagón” se usan indistintamente. Cada uno es una molécula que inhibe de manera detectable la señalización de glucagón. La inhibición producida por un inhibidor no necesita ser completa siempre que sea detectable usando un ensayo. Por ejemplo, el ensayo basado en células descrito más adelante en el Ejemplo 4 demuestra un ensayo útil para determinar la inhibición de la señalización de glucagón.

10 Cada uno de los términos “péptido”, “polipéptido” y “proteína” se refiere a una molécula que comprende dos o más restos de aminoácidos unidos entre sí mediante enlaces peptídicos. Estos términos incluyen, por ejemplo, proteínas, fragmentos de proteínas y análogos de polipéptidos (tales como muteínas, variantes y proteínas de fusión) naturales y artificiales de una secuencia de proteína, así como proteínas modificadas postraduccionalmente, o de otro modo, de manera covalente o no covalente. Un péptido, un polipéptido o una proteína puede ser monomérico(a) o polimérico(a)

15 La expresión “fragmento polipeptídico” como se usa en el presente documento se refiere a un polipéptido que tiene una delección amino-terminal y/o carboxi-terminal en comparación con una proteína correspondiente de longitud completa. Los fragmentos pueden tener, por ejemplo, una longitud de al menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 50, 70, 80, 90, 100, 150 o 200 aminoácidos. Los fragmentos, también pueden tener una longitud de, por ejemplo, a lo sumo 1000, 750, 500, 250, 200, 175, 150, 125, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 15, 14, 13, 12, 11 o 10 aminoácidos. Además, un fragmento puede comprender, en cualquiera de sus extremos o en ambos extremos, uno o más aminoácidos adicionales, por ejemplo, una secuencia de aminoácidos de una proteína diferente de origen natural (por ejemplo, un dominio de cremallera de leucina o Fc) o una secuencia de aminoácidos artificial (por ejemplo, una secuencia conectora artificial).

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

25 La presente invención también proporciona análogos no peptídicos de proteínas de unión a antígeno de GCGR. Normalmente los análogos no peptídicos se usan para proporcionar fármacos con propiedades análogas a las del péptido molde. Estos tipos de compuestos no peptídicos se denominan “miméticos peptídicos” o “peptidomiméticos”. Fauchere, J. Adv. Drug. Res. 15:29 (1986); Veber y Freidinger TINS pág. 392 (1985) y Evans et al. J. Med. Chem. 30:1229 (1987). Los miméticos peptídicos que son estructuralmente similares a los péptidos terapéuticamente útiles pueden usarse para producir un efecto terapéutico o profiláctico equivalente. Generalmente, los peptidomiméticos son estructuralmente similares a un polipéptido paradigma (por ejemplo, un polipéptido que tiene una propiedad bioquímica o una actividad farmacológica deseada), tal como un anticuerpo humano, pero que tiene uno o más enlaces peptídicos opcionalmente reemplazados por un enlace seleccionado del grupo que consiste en: --CH₂NH--, -CH₂S--, --CH₂--CH₂--/--CH=CH(cis y trans), --COCH₂--, --CH(OH)CH₂-- y --CH₂SO--, por métodos bien conocidos en la técnica. La sustitución sistemática de uno o más aminoácidos de una secuencia consenso con un D-aminoácido del mismo tipo (por ejemplo, D-lisina en lugar de L-lisina) también puede usarse para generar péptidos más estables. Además, pueden generarse péptidos limitados que comprenden una secuencia consenso o una secuencia consenso sustancialmente idéntica por métodos conocidos en la técnica (Rizo y Gierasch Ann. Rev. Biochem. 61:387 (1992), por ejemplo, añadiendo restos de cisteína internos capaces de formar puentes disulfuro intramoleculares que ciclan el péptido).

30 Una “variante” de un polipéptido (por ejemplo, un anticuerpo) comprende una secuencia de aminoácidos en la cual uno o más restos de aminoácidos están insertados en, delecionados de y/o sustituidos en, la secuencia de aminoácidos con respecto a otra secuencia polipeptídica. Las variantes de la invención incluyen proteínas de fusión.

65

Un “derivado” de un polipéptido es un polipéptido (por ejemplo, un anticuerpo) que se ha sido modificado químicamente, por ejemplo, mediante conjugación con otro resto químico tal como, por ejemplo, polietilenglicol, albúmina (por ejemplo, seroalbúmina humana), fosforilación y glucosilación. A menos que se indique de otra manera, el término “anticuerpo” incluye, además de anticuerpos que comprenden dos cadenas pesadas de longitud completa y dos cadenas ligeras de longitud completa, derivados, variantes, fragmentos y muteínas de los mismos, cuyos ejemplos se describen más adelante.

Una “proteína de unión a antígeno” es una proteína que comprende una parte que se une a un antígeno y, opcionalmente, una parte almacén o región marco conservada que permite que la parte de unión a antígeno adopte una conformación que promueve la unión de la proteína de unión a antígeno con el antígeno. Los ejemplos de proteínas de unión a antígeno incluyen anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (por ejemplo, una parte de unión a antígeno de un anticuerpo), derivados de anticuerpos y análogos de anticuerpos. La proteína de unión a antígeno puede comprender, por ejemplo, un almacén de proteína alternativo o un almacén artificial con las CDR o derivados de las CDR injertados. Dichos almacenes incluyen, pero sin limitación, almacenes derivados de anticuerpos que comprenden mutaciones introducidas para, por ejemplo, estabilizar la estructura tridimensional de la proteína de unión a antígeno, así como almacenes completamente sintéticos que comprenden, por ejemplo, un polímero biocompatible. Véase, por ejemplo, Korndorfer et al, 2003, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, Volume 53, Publicación 1:121-129; Roque et al, 2004, *Biotechnol. Prog.* 20:639-654. Además, pueden usarse miméticos de anticuerpos peptídicos (“MAP”), así como almacenes basados en miméticos de anticuerpos usando componentes fibroconectores como un almacén.

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

Las cadenas de inmunoglobulina de origen natural presentan la misma estructura general de regiones marco (FR, *Framework Regions*) relativamente conservadas unidas por tres regiones hipervariables, también denominadas regiones determinantes de la complementariedad o CDR. Desde el extremo N al extremo C, ambas cadenas ligera y pesada comprenden los dominios FR1, CDR1 FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. La asignación de aminoácidos a cada dominio se realiza de acuerdo con las definiciones de Kabat et al. en *Sequences of Protein of Immunological Interest* 5ª Ed., US Dep. of Health and Human Services, PHS, NIH, NIH Publicación N° 91-3242, 1991.

Un “anticuerpo” se refiere a una inmunoglobulina intacta o a una parte de unión a antígeno de la misma que compite con el anticuerpo intacto por la unión específica, salvo que se especifique de otra manera. Las partes de unión a antígeno pueden producirse mediante técnicas de ADN recombinante o por escisión enzimática o química de anticuerpos intactos. Las partes de unión a antígeno incluyen, entre otros, fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, anticuerpos de dominio (dAb), fragmentos que incluyen regiones determinantes de la complementariedad (CDR), anticuerpos monocatenarios (scFv), anticuerpos quiméricos, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos y polipéptidos que contienen al menos una parte de una inmunoglobulina que es suficiente para conferir la unión a antígeno específica al polipéptido.

Un fragmento Fab es un fragmento monovalente que tiene los dominios V_L, V_H, C_L y C_H1; un fragmento F(ab')₂ es un fragmento bivalente que tiene dos fragmentos Fab unidos mediante un puente disulfuro en la región bisagra; un fragmento Fd tiene los dominios V_H y C_H1; un fragmento Fv tiene los dominios V_L y V_H de un solo brazo de un anticuerpo; y un fragmento dAb tiene un dominio V_H, un dominio V_L, o un fragmento de unión a antígeno de un dominio V_H o V_L (Patente de Estados Unidos, N° 6.846.634 y 6.696.245, Solicitud de Estados Unidos Publicada N° 05/ 0202512, 04/0202995, 04/0038291, 04/0009507, 03/0039958, Ward et al., *Nature* 341:544-546, 1989).

Un anticuerpo monocatenario (scFv) es un anticuerpo en el cual una región V_L y una región V_H están unidas mediante un engarce (por ejemplo, una secuencia sintética de restos de aminoácidos) para formar una cadena de proteína continua en la cual el engarce es lo suficientemente largo como para permitir que la cadena de proteína se pliegue hacia atrás sobre sí misma y forme un sitio de unión a antígeno monovalente (véase, por ejemplo, Bird et al., 1988, *Science* 242:423-26 y Huston et al., 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 5879-83). Los diacuerpos son anticuerpos bivalentes que comprenden dos cadenas polipeptídicas, comprendiendo cada cadena polipeptídica

dominios V_H y V_L unidos por un engarce que es demasiado corto para permitir el emparejamiento entre dos dominios de la misma cadena, permitiendo de esta manera que cada dominio se empareje con un dominio complementario en otra cadena polipeptídica (véase, por ejemplo, Holliger et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-48, y Poljak et al., 1994, Structure 2:1121-23). Si las dos cadenas polipeptídicas de un diacuerpo son idénticas, entonces un

5 diacuerpo resultante de su emparejamiento tendrá dos sitios de unión a antígeno idénticos. Pueden usarse cadenas polipeptídicas que tienen secuencias diferentes para preparar un diacuerpo con dos sitios de unión a antígeno diferentes. De manera similar, los triacuerpos y tetracuerpos son anticuerpos que comprenden tres y cuatro cadenas polipeptídicas, respectivamente, y que forman tres y cuatro sitios de unión a antígeno, respectivamente, que pueden ser iguales o diferentes.

10

Las regiones determinantes de la complementariedad (CDR) y las regiones marco (FR) de un anticuerpo determinado puede identificarse usando el sistema descrito por Kabat et al. en Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª Ed., Dep. of Health and Human Services, PHS, NIH, NIH Publicación N° 91-3242, 1991. Pueden incorporarse una o más CDR en una molécula de manera covalente o no covalente para preparar una

15 proteína de unión a antígeno. Una proteína de unión a antígeno puede incorporar la CDR (o las CDR) como parte de una cadena polipeptídica más larga, puede unir covalentemente la CDR (o las CDR) a otra cadena polipeptídica, o puede incorporar la CDR (o las CDRs) de manera no covalente. Las CDR permiten que la proteína de unión a antígeno se una específicamente a un antígeno de interés particular.

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

25 La expresión "anticuerpo humano" incluye todos los anticuerpos que tienen una o más regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina humana. En una realización, todos los dominios constantes y variables derivan de secuencias de inmunoglobulina humana (un anticuerpo completamente humano). Estos anticuerpos pueden prepararse de diversos modos, más adelante se describen ejemplos de estos, incluyendo a través de inmunización con un antígeno de interés de un ratón que está modificado genéticamente para expresar

30 anticuerpos derivados de genes que codifican la cadena pesada y/o ligera humana.

Un anticuerpo humanizado tiene una secuencia que difiere de la secuencia de un anticuerpo derivado de una especie no humana en una o más sustituciones, delecciones y/o adiciones de aminoácidos, de tal manera que es menos probable que el anticuerpo humanizado induzca una respuesta inmunitaria y/o induzca una respuesta

35 inmunitaria menos grave, en comparación con el anticuerpo de especies no humanas, cuando se administra a un sujeto humano. En una realización, determinados aminoácidos en la región marco y en los dominios constantes de las cadenas pesadas y/o ligeras del anticuerpo de especies no humanas están mutados para producir el anticuerpo humanizado. En otra realización, el dominio (o dominios) constante de un anticuerpo humano se fusiona con el dominio (o dominios) variable de una especie no humana. En otra realización, uno o más restos de aminoácidos en

40 una o más secuencias CDR de un anticuerpo no humano se cambian para reducir la posible inmunogenicidad del anticuerpo no humano cuando se administra a un sujeto humano, en el cual cualquiera de los restos de aminoácidos cambiados no son críticos para la unión inmuno-específica del anticuerpo con su antígeno, o los cambios que se realizan en la secuencia de aminoácidos son cambios conservativos, de tal manera que la unión del anticuerpo humanizado con el antígeno no es significativamente peor que la unión del anticuerpo no humano con el antígeno.

45 Pueden encontrarse ejemplos de cómo preparar anticuerpos humanizados en las patentes de Estados Unidos Nos 6.054.297, 5.886.152 y 5.877.293.

La expresión "anticuerpo quimérico" se refiere a un anticuerpo que contiene una o más regiones de un anticuerpo y una o más regiones de uno u más anticuerpos distintos. En una realización, una o más de las CDR derivan de un

50 anticuerpo anti-GCGR humano. En otra realización, todas las CDR derivan de un anticuerpo anti-GCGR humano. En otra realización, las CDR de más de un anticuerpo anti-GCGR humano se mezclan y se emparejan con un anticuerpo quimérico. Por ejemplo, un anticuerpo quimérico puede comprender una CDR1 de la cadena ligera de un primer anticuerpo anti-GCGR humano, una CDR2 y una CDR3 de la cadena ligera de un segundo anticuerpo anti-GCGR humano, y las CDR de la cadena pesada de un tercer anticuerpo anti-GCGR. Adicionalmente, las regiones

55 marco pueden derivar de uno de los mismos anticuerpos anti-GCGR, de uno o más anticuerpos diferentes, tal como un anticuerpo humano, o de un anticuerpo humanizado. En un ejemplo de un anticuerpo quimérico, una parte de la cadena pesada y/o ligera es idéntica a, homóloga a, o deriva de, un anticuerpo de una especie particular o que pertenece a una clase o subclase particular, mientras que el resto de la cadena (o cadenas) es idéntico a, homólogo a, o derivado de un anticuerpo o anticuerpos de otra especie o que pertenecen a otra clase o subclase de

60 anticuerpo. También se incluyen fragmentos de dichos anticuerpos que presentan la actividad biológica deseada (es decir, la capacidad de unirse específicamente al receptor de glucagón humano).

Un "anticuerpo neutralizante" o "anticuerpo inhibidor" se refiere a un anticuerpo que inhibe la unión del glucagón al receptor de glucagón humano, y/o inhibe o reduce la señalización de glucagón, como se determina, por ejemplo,

65 mediante el ensayo basado en células descrito más adelante en el Ejemplo 4. No es preciso que la inhibición sea

completa y, en una realización, puede reducir la unión o la señalización al menos un 20 %. En otras realizaciones, la reducción en la unión o señalización es de al menos 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 99 % y 99,9 %.

- 5 Un experto habitual en la materia puede preparar fácilmente fragmentos o análogos de anticuerpos siguiendo las enseñanzas de esta memoria descriptiva y usando técnicas bien conocidas en la materia. Los extremos amino y carboxilo preferidos de fragmentos o análogos se producen cerca de los límites de dominios funcionales. Los dominios estructurales y funcionales pueden identificarse por comparación de los datos de las secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos con las bases de datos de secuencias públicas o de patente. Pueden usarse métodos de comparación informatizados para identificar motivos de secuencias o dominios de conformación de proteína previstos que se producen en otras proteínas de estructura y/o función conocidas. Se conocen métodos para identificar secuencias de proteínas que se pliegan en una estructura tridimensional conocida. Véase, por ejemplo, Bowie et al., 1991, Science 253:164.

- 15 Un “anticuerpo con CDR injertada” es un anticuerpo que comprende una o más CDR derivadas de un anticuerpo de una especie o isotipo particular y la región marco de otro anticuerpo de la misma o diferente especie o isotipo.

Un “anticuerpo multiespecífico” es un anticuerpo que reconoce más de un epítipo en uno o más antígenos. Una subclase de este tipo de anticuerpo es un “anticuerpo biespecífico” que reconoce dos epítopos distintos en el mismo antígeno o en diferentes antígenos.

- 25 Una proteína de unión a antígeno, incluyendo un anticuerpo, “se une específicamente” a un antígeno, tal como el receptor de glucagón humano, si éste se une al antígeno con una alta afinidad de unión, como se determina por un valor de la constante de disociación (K_d , o correspondiente K_b , como se define más adelante) de 10^{-7} M o menor (100 nM o menor). Una proteína de unión a antígeno que se une específicamente al receptor de glucagón humano puede unirse a receptores de glucagón de otras especies también con la misma afinidad o con diferente afinidad.

- 30 Un “dominio de unión a antígeno”, una “región de unión a antígeno”, o un “sitio de unión a antígeno” es una parte de una proteína de unión a antígeno que contiene restos de aminoácidos (u otras fracciones) que interacciona con un antígeno y que contribuye a la especificidad de la proteína de unión a antígeno y afinidad por el antígeno. Para un anticuerpo que se une específicamente con su antígeno, esto incluirá al menos parte de al menos uno de sus dominios CDR.

- 35 Un “epítipo” es la parte de una molécula que está unida por una proteína de unión a antígeno (por ejemplo, por un anticuerpo). Un epítipo puede comprender partes no contiguas de la molécula (por ejemplo, en un polipéptido, restos de aminoácidos que no son contiguos en la secuencia primaria del polipéptido pero que, en el contexto de la estructura terciaria y cuaternaria del polipéptido, están lo suficiente cerca entre sí para unirse mediante una proteína de unión a antígeno).

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

- 45 Los términos “polinucleótido”, “oligonucleótido” y “ácido nucleico” se usan siempre indistintamente e incluyen moléculas de ADN (por ejemplo, ADNC o ADN genómico), moléculas de ARN (por ejemplo, ARNm), análogos del ADN o ARN generados usando análogos nucleotídicos (por ejemplo, ácidos nucleicos peptídicos y análogos nucleotídicos de origen no natural), y sus híbridos. La molécula de ácido nucleico puede ser bi- o mono- catenaria. En una realización, las moléculas de ácido nucleico de la invención comprenden una pauta abierta de lectura contigua que codifica un anticuerpo, o un fragmento, un derivado, una muteína, o una variante de los mismos de la invención.

- 55 Dos polinucleótidos monocatenarios son “el complemento” del otro si sus secuencias pueden alinearse en una orientación antiparalela, de tal manera que cada nucleótido en un polinucleótido es opuesto a su nucleótido complementario en el otro polinucleótido, sin la introducción de huecos y sin nucleótidos desaparejados en el extremo 5' o en el extremo 3' de cualquier secuencia. Un polinucleótido es “complementario” a otro polinucleótido si los dos polinucleótidos pueden hibridarse entre sí en condiciones moderadamente rigurosas. Por tanto, un polinucleótido puede ser complementario a otro polinucleótido sin ser su complemento.

- 60 Un “vector” es un ácido nucleico que puede usarse para introducir en una célula otro ácido nucleico ligado a él. Un tipo de vector es un “plásmido”, que se refiere a una molécula de ADN bicatenario, lineal o circular, en la cual pueden ligarse segmentos adicionales de ácido nucleico. Otro tipo de vector es un vector viral (por ejemplo, retrovirus de replicación defectuosa, adenovirus y adenovirus asociados), en el cual pueden introducirse segmentos de ADN adicionales en el genoma viral. Determinados vectores pueden replicarse de manera autónoma en una célula hospedadora en la cual se introducen (por ejemplo, vectores bacterianos que comprenden un origen de replicación bacteriano y vectores episomales de mamíferos). Otros vectores (por ejemplo, vectores no episomales

vectores episomales de mamíferos) se integran en el genoma de una célula hospedadora después de la introducción en la célula hospedadora y por lo tanto se replican junto con el genoma del hospedador. Un “vector de expresión” es un tipo de vector que puede dirigir la expresión de un polinucleótido seleccionado.

- 5 Una secuencia de nucleótidos está “unida operativamente” a una secuencia reguladora si la secuencia reguladora influye en la expresión (por ejemplo, en el nivel, en la sincronización, o en la localización de la expresión) de la secuencia de nucleótidos. Una “secuencia reguladora” es un ácido nucleico que influye en la expresión (por ejemplo, en el nivel, en la sincronización o en la localización de la expresión) de un ácido nucleico al cual está unido operativamente. La secuencia reguladora puede, por ejemplo, ejercer sus efectos directamente en el ácido nucleico
- 10 regulado, o a través de la acción de una o más moléculas distintas (por ejemplo, polipéptidos que se unen a la secuencia reguladora y/o al ácido nucleico). Los ejemplos de secuencias reguladoras incluyen promotores, potenciadores y otros elementos de control de expresión (por ejemplo, señales de poliadenilación). Otros ejemplos de secuencias reguladoras se describen, por ejemplo, en Goeddel, 1990, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA y Baron et al, 1995, Nucleic Acids Res. 23: 3605-06.
- 15 Una “célula hospedadora” es una célula que puede usarse para expresar un ácido nucleico, por ejemplo, un ácido nucleico de la invención. Una célula hospedadora puede ser un procariota, por ejemplo, *E. coli*, o puede ser un eucariota, por ejemplo, un eucariota unicelular (por ejemplo, una levadura u otros hongos), una célula vegetal (por ejemplo, una célula vegetal de tabaco o de tomate), una célula animal (por ejemplo, una célula humana, una célula
- 20 de mono, una célula de hámster, una célula de rata, una célula de ratón o una célula de insecto) o un hibridoma. Típicamente, una célula hospedadora es una célula cultivada que puede transformarse o transfectarse con un ácido nucleico que codifica un polipéptido, que después puede expresarse en la célula hospedadora. La frase “célula hospedadora recombinante” puede usarse para indicar una célula hospedadora que se ha transformado o transfectado con un ácido nucleico a expresar. Una célula hospedadora también puede ser una célula que
- 25 comprende el ácido nucleico pero que no lo expresa a un nivel deseado, salvo que introduzca una secuencia reguladora en la célula hospedadora, de tal manera que comience a unirse operativamente con el ácido nucleico. Se entiende que la expresión célula hospedadora se refiere no sólo a la célula del sujeto particular sino a la progenie o posible progenie de dicha célula. Dado que en generaciones sucesivas pueden producirse ciertas modificaciones, debido, por ejemplo, a mutación o influencia ambiental, dicha progenie puede no ser, en realidad, idéntica a la célula
- 30 parental, pero aún se incluye dentro del ámbito del término, tal y como se usa en el presente documento.

Receptores de glucagón

- Los receptores de glucagón (GCGR) pertenecen a la familia de receptores de 7 dominios transmembrana que están
- 35 acoplados a una o más rutas de señalización intracelular mediante proteínas (proteínas G) heterodiméricas de unión a nucleótidos de guanina (Jelinek et al, Science 259: 1614-1616 (1993), Segre et al., Trends Endocrinol. Metab 4:309-314 (1993)). Como se usa en el presente documento, las expresiones “receptor de glucagón” y “GCGR” se usan indistintamente. Otros miembros de este grupo incluyen receptores de secretina, péptido similar a glucagón (GLP-1), proteína intestinal vasoactiva (VIP), y factor de liberación de la hormona del crecimiento. Estos receptores
- 40 tienen características estructurales muy homólogas que incluyen un dominio N-terminal extracelular relativamente grande y una serie de dominios transmembrana, intracelulares y extracelulares.

- En una realización, los agentes de unión a antígeno de la presente invención pueden seleccionarse para unirse a receptores de glucagón unidos a membrana, expresados en las células, y para inhibir o bloquear el glucagón o
- 45 bloquear la señalización del glucagón a través del receptor de glucagón. En una realización, los agentes de unión a antígeno de la presente invención se unen específicamente al receptor de glucagón humano. En una realización adicional, las proteínas de unión a antígeno que se unen al receptor de glucagón humano también pueden unirse a los receptores de glucagón de otras especies. Los siguientes ejemplos proporcionan un método para generar anticuerpos completamente humanos que se unen a receptores de glucagón humanos unidos a membrana, y en una
- 50 realización adicional, se unen a receptores de glucagón de otras especies.

Se conocen las secuencias de polinucleótidos y polipéptidos de diversas especies de receptores de glucagón. La Tabla 1 presenta secuencias de ser humano, ratón y rata. En el presente documento se identifican las secuencias del receptor de glucagón del mono cinomolgo y se presentan a continuación.

55

Tabla 1: Receptores de glucagón

Polinucleótidos humanos (*Homo sapiens*) (SEC ID N°: 1)

N° de registro BC 104854

1 gtgcagcccc tgccagatgt gggaggcagc tagctgcccc gaggcgatgcc cccctgccag
 61 ccacagcgac ccttgctgct gttgctgctg ctgctggcct gccagccaca ggtccccctc
 121 gctcaggtga tggacttcct gtttgagaag tggagctct acggtgacca gtgtcaccac
 181 aacctgagcc tgctgcccc tcccacggag ctggtgtgca acagaacctt cgacaagtat
 241 tcctgctggc cggacacccc cgccaatacc acggccaaca tctctgccc ctggtacctg
 301 ccttggcacc acaaagtga acaccgcttc gtgttcaaga gatgcgggcc cgacggtcag
 361 tgggtgcgtg gacccgggg gcagcctigg cgtgatgcct cccagtgcc gatggatggc
 421 gaggagattg aggtccagaa ggaggtggcc aagatgtaca gcagcttcca ggtgatgtac
 481 acagtgggct acagcctgtc cctgggggcc ctgctcctcg ccttggccat cctggggggc
 541 ctcagcaagc tgcactgcac ccgcaatgcc atccacgca atctgttgc gtccttcgtg
 601 ctgaaagcca gctcctgct ggatcattgat gggctgctca ggacccgcta cagccagaaa
 661 attggcgacg acctcagtgt cagcacctgg ctcatgatg gagcgggtggc tggctgccgt
 721 gtggccgcgg tgttcattgca atatggcatc gtggccaact actgctggct gctggtggag
 781 ggcctgtacc tgcacaacct gctgggcctg gccaccctcc ccgagaggag ctcttcagc
 841 ctctacctgg gcatcggtg ggggtgcccc atgctgttcg tcgtccctg ggcagtggc
 901 aagtgtctgt tcgagaacgt ccagtgtgg accagcaatg acaacatggg ctctggtgg
 961 atcctgcgtt tccccgtct cctggccatc ctgatcaact tcttcattt cgtccgcatc
 1021 gttcagctgc tcgtggccaa gctgcgggca cggcagatgc accacacaga ctacaagttc
 1081 cggctggcca agtccacgt gacctcatc cctctgctgg gctccacga agtggcttc
 1141 gccttcgtga cggacgagca cggcagggc acctgcgt cggccaagct ctcttcgac
 1201 ctcttctca gctccttcca gggcctgctg gtggctgtcc tctactgctt cctcaacaag
 1261 gaggtgcagt cggagctgcg gcggcgttg caccgctggc gcctgggcaa agtgctatgg
 1321 gaggagcgga acaccagcaa ccacagggcc tcatcttcg ccggccacgg cctcccagc
 1381 aaggagctgc agtttgggag ggggtggggc agccaggatt catctgcgga gaccccttg
 1441 gctggtggcc tccctagatt ggctgagagc ccctctgaa ccctgctggg accccagcta
 1501 gggctggact ctggcacc

Aminoácidos humanos (*Homo sapiens*) (SEC ID N°: 2)

477 aa; N° de registro EAW89684

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

Polinucleótidos de ratón (*Mus musculus*) (SEC ID Nº: 3)

Número de registro BC5057988

```

1 cgcgaggagc gcagccctag ccccgggcgac tgagcacacc tgaggagagg tgcacacact
61 ctgaggacct aggtgtgcaa cctctgccag atgtggggcg tggctacca gaggcattgcc
121 cctcaccag ctccactgtc cccacctgtc gctgctgtg ttggtgtgt catgtctgcc
181 agaggcacc tctgccagg taatggactt ttgtttgag aagtggaagc tctatagtga
241 ccaatgccac cacaacctaa gcctgtgcc cccacctact gagctggtct gtaacagaac
301 cttegacaag tactctgtc ggctgacac cctcccaac accactgcc acatttctg
361 cccctggtac ctaccttgg accacaaagt gcagcaccgc ctagtgttca agaggtgtgg
421 gccgatggg cagtgggtc gagggccacg ggggcagccg tggcgcaacg cctccaatg
481 tcagttggat gatgaagaga tcgaggtcca gaagggggtg gccaagatgt atagcagcca
541 gcaggtgatg tacaccgtg gctacagtct gtccctgggg gccttgctcc ttgcgtggt
601 catcctgtg ggctcagga agctgcactg caccgaaac tacatccatg ggaacctgtt
661 tgcgtcctt gtgtcaagg ctggctctgt gttggtcctc gattggctgc tgaagacacg
721 gtacagccag aagattggcg atgacctag tgtgagcgtc tggctcagt acggggcgat
781 ggccggctgc agagtggcca cagtatcat gcagtacggc atcatagcca actattgtg
841 gttgctgta gagggcgtg acctgtacag cctgtgagc ctgccacct tctctgagag
901 gagcttctt tccctctacc tgggcattgg ctggggtgcg cccctgtgt ttgtatccc
961 ctgggtggtg gtcaagtgtc tgtttagaa tgttcagtgc tggaccagca atgacaacat
1021 gggattctg tggatcctc gtattcctgt ctccctggcc ttactgatca atttttcat
1081 ctttgtccac atcattcacc ttctgtggc caagctgct gccatcaga tgcactatg
1141 tgactataag ttccggctgg ccaggctcc gctgacctc atccctctg tgggggtcca
1201 cgaggtggtc ttgccttg tgactgacga gcatgccaa ggcacctgc gctccacaa
1261 gctcttttt gacctgtcc tcagtcctt ccagggtctg ctggtggtg ttctactg
1321 ttctctaac aaggagggtc aggcagagct gatgcggcgt tggaggcaat ggcaagaagg
1381 caaagctct caggaggaaa ggttgccag cagccatggc agccacatg cccagcagg
1441 gcctgtcat ggtgatccct gtgagaaact tcagcttatg agtcaggca gcagcagtgg
1501 gactggctgt gtgccctta tggagacctc gctggccagt agtctccaa ggttggtga
1561 cagccccacc tgaatctca ctggagccta gccaggctgc gttcagaaag ggctcagag
1621 gacaaccag agccagatgc ccggccaagg ctgaagagac aaagcagcaa gacagcagt
1681 tgactgtgc acactccct aacctgtct agcctggcac aggccacagt gacagagtag
1741 ggggttgata tgatggagaa gccatgtat ctatgaactc tgagtgtcc catgtgtgt
1801 gacatgttcc ctgtaccag atatgtcct cagtaaaaag ctgagtggg agctgtgca
1861 caaaaaaaaa aaaaaaaaaa

```

Aminoácidos de ratón (*Mus musculus*) (SEC ID N°: 4)

485 aa Número de registro AAH57988

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

Polinucleótidos de rata (*Rattus norvegicus*) (SEC D N°: 5)
N° de registro NM 172092

1 gaattcgcgg ccgccgccgg gccccagatc ccagtgcgcg aggagcccag tcttagaccc
 61 agcaacctga ggagaggtgc acacaccccc aaggaccag gcaccaacc tctgccagat
 121 gtgggggggt ggctaccag aggcattgct ctcaccagc tccactgtcc ctacctgtg
 181 ctgctgctgg tggctgtgc atgtctgcca aaggcaccct ctgccagggt aatggacttt
 241 ttgttgaga agtgaagct ctatagtac cagtgccacc acaacctaag cctgtgccc
 301 ccacctactg agctggtctg caacagaact ttgacaagt actcctgctg gcctgacacc
 361 cctcccaaca cactgccaa catttctgc cctggtacc taccttgga ccacaaagt
 421 cagcaccgcc tagtgtcaa gaggtgtggg cctgatgggc agtgggttcg agggccacgg
 481 gggcagtcac ggcgcgacgc ctccaatgt cagatggatg atgacgagat cgaggtccag
 541 aaggggtag ccaagatga tagcagctac caggtgatgt acactgtggg ctacagtctg
 601 tccctggggg ccttctcct ggcgtggtc atcctgtgg gcctcaggaa gctgcactgc
 661 acccgaact acatccacgg gaacctgttc gcctccttcg tgctcaaggc tggctctgtg
 721 ctggtcattg attggctgct caagacacgc tatagccaga agattggaga tgacctcagt
 781 gtgagcgtct ggctcagtga tggggcgggtg gctggctgca gagggtccac agtgatcatg
 841 cagtacggca tcatagccaa ctactgctgg ttgctggtgg aggggtgtga cctgtacgc
 901 ctgctgagca tcaccacctt ctgggagaag agcttcttct cctctatct gtgcatcggc
 961 tggggatctc cctgtgtgt tgcaccccc tgggtggtgg tcaagtgtct gtttgagaat
 1021 gtccagtgtt ggaccagcaa tgacaatat ggattctggt ggatcctgcg tatcctgtga
 1081 ctctggcca tactgatcaa tttttcacc ttgtccgca tcattcatct tctgtggcc
 1141 aagctgcgtg cccatcagat gcaactatgt gattacaagt tccggctagc caggtccacg
 1201 ctgacctca ttctctgct gggagtccac gaagtgtgt ttgcctttgt gactgatgag
 1261 catgccacgg gcacctgac ctccaccaag ctctttttg acctgttctt cagctcctt
 1321 cagggtctgc tgggtggtgt tctctactgt ttctcaaca aggaggtgca ggcagagcta
 1381 ctgcggcgtt ggagggcatg gcaagaaggc aaagctcttc aggaggaaag gatggccagc
 1441 agccatggca gccacatggc ccagcaggg acttgctcatg gtgatccctg tgagaaactt
 1501 cagcttatga gtgcaggcag cagcagtggg actggctgtg agccctctgc gaagacctca
 1561 ttggccagta gtctcccaag gctggctgac agccccacct gaatctccac tggactccag
 1621 ccaagttgga ttcagaaagg gcctcacaag acaaccaga aacagatgcc tggccaaggc
 1681 tgaagaggca aagcagcaag acagcagctt gtactatcca cactcccta acctgtcctg
 1741 gccgggtaca ggccacattg atggagtagg ggctggatat gatggagtag ccattgctatg
 1801 aactatgggt gttcccatga gtgttggcat gttccatgca cacagatag accttcagta
 1861 aagagctccc gtagg

Aminoácidos de rata (*Rattus norvegicus*) (SEC ID N°: 6)

489 aa, N° de registro NM 172092

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

Polinucleótidos de mono cinomolgo (*Macaca fascicularis*) (SEC ID N°: 7)

> cino-20042028417-contig1 (32pb - 1465pb, directo) 1434pb

atgccccctgtgacccacgtcgacccctgctactgttgcgtgctgctgctggcctgccagccacaggccccctccgctcaggtgatggact
tctgtttgagaagtggaaactctacggtgaccagtgtcaccacaacctgagcctgctgccccccccacggaactctcttaacagaac
cttcgacaagtattcctgctggccagacacccccccaataccacagccaacatctctgcccctggtacctgacctggcaccacaaagt
caacaccgcttcgtgttcaagagatgcggggcccgatggcagtggtgctgggacccggggggcagccttggcgtagcctctcagtg
ccagatggacggcgaggagcttgaggtccagaaggaggtggctaagatgtacagcagcttcaggtgatgtacacggtgggctacagc
ctgtccctggggggccctgctcctgccttggccatcctggggggcatcagcaagctgcactgcacccgcaacgccatccacgcgaacct
gtttgttccttcgtgctgaaggccagctccgtgctggtcatcgatgggctgctcaggacccgctacagccagaagattggcgacgacctc
agtgtcagcatctggctcagtgatggagcgggtggcggctgcccgtgtggcccggtgttcgcatgcaatatggcgctggtggcaactactgct
ggctgctggtggaggcctgtacctgcacaacctgctgggcctggccaccctccctgagaggagcttctcagcctctacctgggcatcg
gctggggtgccccatgctgttcacatcccctgggtggtggtcaggtgtctgttcgagaacatccagtgtggaccagcaatgacaacatg
ggcttctggtggatcctgcggttccccgtcttctggccatcctgatcaacttctcattcctccgattgttcacctgctgtggccaagctg
cgggcgcgggagatgcaccacacagactacaagttccgactggccaagtccacactgacctcattccccctgctgggtgtccacgaagt
gatcttcgcttcgtgacggacgagcagcccaggccacctgccttcgccaagctcttctcagcttctcagctccttcaggggcc
tgctggtggtgctcctctactgcttctcaacaaggaggtgcagtcggaacttcggcggcattggcaccgctggcgctgggcaaaagtgt
gcaggaggagcggggcaccagcaaccacaagaccccatctgcgcctggccaaggccttctggcaagaagctgcagctgtgggaggg
gtggtggcagccaggactcatctgcggagatcccccttggtgtgtgctccctaggttggtgagagcccttctga

Aminoácidos de mono cinomolgo (*Macaca fascicularis*) (SEC ID N°: 8)

478 aa

Met Pro Pro Cys Gln Pro Arg Arg Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Cys Gln
Pro Gln Ala Pro Ser Ala Gln Val Met Asp Phe Leu Phe Glu Lys Trp Lys Leu Tyr Gly
Asp Gln Cys His His Asn Leu Ser Leu Leu Pro Pro Pro Thr Glu Leu Val Cys Asn Arg
Thr Phe Asp Lys Tyr Ser Cys Trp Pro AspThr Pro Ala Asn Thr Thr Ala Asn Ile Ser
Cys Pro Trp Tyr Leu Pro Trp His His LysVal Gln His Arg Phe Val Phe Lys Arg Cys
Gly Pro Asp Gly Gln Trp Val Arg Gly ProArg Gly Gln Pro Trp Arg Asp Ala Ser Gln
Cys Gln Met Asp Gly Glu Glu Leu Glu ValGln Lys Glu Val Ala Lys Met Tyr Ser Ser
Phe Gln Val Met Tyr Thr Val Gly Tyr SerLeu Ser Leu Gly Ala Leu Leu Leu Ala Leu
Ala Ile Leu Gly Gly Ile Ser Lys Leu His Cys Thr Arg Asn Ala Ile His Ala Asn Leu
Phe Val Ser Phe Val Leu Lys Ala Ser SerVal Leu Val Ile Asp Gly Leu Leu Arg Thr
Arg Tyr Ser Gln Lys Ile Gly Asp Asp Leu Ser Val Ser Ile Trp Leu Ser Asp Gly Ala
Val Ala Gly Cys Arg Val Ala Ala Val Phe Met Gln Tyr Gly Val Val Ala Asn Tyr Cys
Trp Leu Leu Val Glu Gly Leu Tyr Leu His Asn Leu Leu Gly Leu Ala Thr Leu Pro Glu
Arg Ser Phe Phe Ser Leu Tyr Leu Gly Ile Gly Trp Gly Ala Pro Met Leu Phe Ile Ile
Pro Trp Val Val Val Arg Cys Leu Phe Glu Asn Ile Gln Cys Trp Thr Ser Asn Asp Asn
Met Gly Phe Trp Trp Ile Leu Arg Phe Pro Val Phe Leu Ala Ile Leu Ile Asn Phe Phe
Ile Phe Ile Arg Ile Val His Leu Leu Val Ala Lys Leu Arg Ala Arg Glu Met His His
Thr Asp Tyr Lys Phe Arg Leu Ala Lys Ser Thr Leu Thr Leu Ile Pro Leu Leu Gly Val
His Glu Val Ile Phe Ala Phe Val Thr Asp Glu His Ala Gln Gly Thr Leu Arg Phe Ala
Lys Leu Phe Phe Asp Leu Phe Leu Ser Ser Phe Gln Gly Leu Leu Val Ala Val Leu Tyr
Cys Phe Leu Asn Lys Glu Val Gln Ser Glu Leu Arg Arg His Trp His Arg Trp Arg Leu
Gly Lys Val Leu Gln Glu Glu Arg Gly Thr Ser Asn His Lys Thr Pro Ser Ala Pro Gly
Gln Gly Leu Pro Gly Lys Lys Leu Gln Ser Gly Arg Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ser Ser
Ala Glu Ile Pro Leu Ala Gly Gly Leu Pro Arg Leu Ala Glu Ser Pro Phe

Proteínas de unión a antígeno

En un aspecto, la presente invención proporciona proteínas de unión a antígeno (por ejemplo, anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, derivados de anticuerpos, muteínas de anticuerpos, y variantes de anticuerpos), que se unen específicamente al receptor de glucagón humano. En una realización, la proteína de unión a antígeno es un anticuerpo humano.

Las proteínas de unión a antígeno de acuerdo con la presente invención incluyen proteínas de unión a antígeno que se unen específicamente al receptor de glucagón humano e inhiben la señalización de glucagón a través del receptor de glucagón. En una realización, el valor de CI50 de la proteína de unión a antígeno es de 90 nM o menor. En un aspecto, las proteínas de unión a antígeno se unen específicamente al receptor de glucagón, inhiben la señalización y presentan efectos biológicos terapéuticos, tales como, disminución de glucosa en sangre en modelos animales, o mejora de la eliminación de glucosa (tolerancia) en modelos animales. En una realización, las proteínas de unión a antígeno son anticuerpos humanos que se unen específicamente al receptor de glucagón e inhiben la señalización a través del receptor de glucagón. En otra realización, las proteínas de unión a antígeno son anticuerpos humanos que se unen específicamente al receptor de glucagón, inhiben la señalización a través del receptor de glucagón y son capaces de disminuir la glucosa en sangre o mejorar la eliminación de glucosa (tolerancia) en modelos animales.

También se describe una proteína de unión a antígeno (por ejemplo, anticuerpo) que comprende secuencias que difieren cada una independientemente en 5, 4, 3, 2, 1 o 0 adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos sencillos de una secuencia CDR de A1-A23 mostrada en la siguiente Tabla 2. Como se usa en el presente documento, una secuencia CDR que difiere en no más de un total de, por ejemplo, cuatro adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos de una secuencia CDR mostrada en la siguiente Tabla 2 se refiere a una secuencia con 4, 3, 2, 1 o 0 adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos sencillos en comparación con las secuencias mostradas en la Tabla 2.

También se describe una proteína de unión a antígeno que comprende una o más secuencias consenso CDR mostradas más adelante. Se proporcionan secuencias consenso para la CDR1, CDR2, CDR3 de cadena ligera y para la CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena pesada, mostradas más adelante.

- 5 Las CDR de cadena ligera de las proteínas de unión a antígeno (anticuerpos) A1-A23 y las CDR de cadena pesada de proteínas de unión a antígeno ejemplares (anticuerpos) A1-A23 se muestran a continuación en la Tabla 2. A1 a A23 se corresponden con L1 a L23 mostradas más adelante y con H1 a H23 mostradas más adelante. También se muestran secuencias de polinucleótidos que codifican las secuencias de aminoácidos de las CDR.

10

TABLA 2
CADENAS LIGERAS L1 a L23

Ab	CDR1	CDR2	CDR3
A-1 NA	aggctagtcagagcctcttgatagag atgatggagacacatttgac (SEC ID N°: 9)	acgcttcctatcgggcctct (SEC ID N°: 42)	atgcaacgtatagagtttc cattcact (SEC ID N°: 71)
AA	RSSQSLLDRDDGDTYLD (SEC ID N°: 10)	TLSYRAS (SEC ID N°: 43)	MQRIEFPFT (SEC ID N°: 72)
A-2 NA	aggctagtcagagcctcttgatagtc tgatggagacacatttgac (SEC ID N°: 11)	acgcttcctatcgggcctct (SEC ID N°: 42)	atgcaacgtatagagtttc cattcact (SEC ID N°: 71)
AA	RSSQSLLDSADGDTYLD (SEC ID N°: 12)	TLSYRAS (SEC ID N°: 43)	MQRIEFPFT (SEC ID N°: 72)
A-3 NA	cgggcaagtcagggcattagaaatgatt taggc (SEC ID N°: 13)	gctgcatccagtttgcaaagt (SEC ID N°: 44)	ctacagcataatagtaacc ctctcact (SEC ID N°: 73)
AA	RASQGIRNDLG (SEC ID N°: 14)	AASSLQS (SEC ID N°: 45)	LQHNSNPLT (SEC ID NO: 74)
A-4 NA	cgggcaagtcagggcattagaaatgatt taggc (SEC ID N°: 13)	gctgcatccagtttgcaaagt (SEC ID N°: 44)	ctacagcataatagtaacc ctctcact (SEC ID N°: 73)
AA	RASQGIRNDLG (SEC ID N°: 14)	AASSLQS (SEC ID N°: 45)	LQHNSNPLT (SEC ID N°: 74)
A-5 NA	cgggcaagtcagggcattagaaatgatt taggc (SEC ID N°: 13)	gctgcctccagtttgcaaagt (SEC ID N°: 46)	ctacagcataatagtacc cgctcacc (SEC ID N°: 75)
AA	RASQGIRNDLG (SEC ID N°: 14)	AASSLQS (SEC ID N°: 45)	LQHNSDPLT (SEC ID N°: 76)
A-6 NA	agggccagtcagagtgttagcagcaac tacttagcc (SEC ID N°: 15)	ggtgcatccagcagggccact (SEC ID N°: 47)	caacaatatgtaactcac cattcact (SEC ID N°: 77)
AA	RASQSVSSNYLA (SEC ID N°: 16)	GASSRAT (SEC ID N°: 48)	QQYGNPFT (SEC ID N°: 78)
A-7 NA	cgggcaagtcaggacattagaaatgatt ttggc (SEC ID N°: 17)	gctgcatccagtttacaaagt (SEC ID N°: 44)	ctacagcaaaatagttacc cgctcact (SEC ID N°: 79)
AA	RASQDIRNDFG (SEC ID N°: 18)	AASSLQS (SEC ID N°: 45)	LQQNSYPLT (SEC ID N°: 80)
A-8 NA	gggtctactcagagcctcttgatagtg tgatggagacacatttgac (SEC ID N°: 19)	acgcttcctatcgggcctct (SEC ID N°: 42)	atgcaacgtatagagtttc cattcact (SEC ID N°: 71)
AA	RSTQSLLDSDDGDTYLD (SEC ID N°: 20)	TLSYRAS (SEC ID N°: 43)	MQRIEFPFT (SEC ID N°: 72)

ES 2 444 012 T3

Ab	CDR1	CDR2	CDR3
A-9 NA	cgggcaagtcagggcattagaaatgatt taggc (SEC ID N°: 13)	gctgcattccagtttgaaaagt (SEC ID N°: 49)	ctacagcataatagtaacc ctctcact (SEC ID N°: 73)
AA	RASQGIRNDLG (SEC ID N°: 14)	AASSLES (SEC ID N°: 50)	LQHNSNPLT (SEC ID N°: 74)
A-10 NA	caggcgagtcaggacattagtaagtattt aaat (SEC ID N°: 21)	gatgcattccaatttggaaca (SEC ID N°: 51)	caacagtatggtaatctcc cgatcacc (SEC ID N°: 75)
AA	QASQDISKYLN (SEC ID N°: 22)	DASNLET (SEC ID N°: 52)	QQYGNLPIT (SEC ID N°: 76)
A-11 NA	tctggagataaattgggggataaatatgt ttgc (SEC ID N°: 23)	caaactccaagcgccctca (SEC ID N°: 53)	caggcgtgggacagcaa cactgtgatt (SEC ID N°: 77)
AA	SGDKLGDKYVC (SEC ID N°: 24)	QTSKRPS (SEC ID N°: 54)	QAWDSNTVI (SEC ID N°: 78)
A-12 NA	tctggagataaattgggggataaatatgt ttgc (SEC ID N°: 23)	caaactccaagcgccctca (SEC ID N°: 53)	caggcgtgggacagcag cactgtggtt (SEC ID N°: 79)
AA	SGDKLGDKYVC (SEC ID N°: 24)	QTSKRPS (SEC ID N°: 54)	QAWDSSTVV (SEC ID N°: 80)
A-13 NA	tctggagataaattgggggataaatatgc ttgc (SEC ID N°: 25)	caatctaccaagcgccctca (SEC ID N°: 55)	caggcgtgggacagcag cactgtggtta (SEC ID N°: 81)
AA	SGDKLGDKYAC (SEC ID N°: 26)	QSTKRPS (SEC ID N°: 56)	QAWDSSTVV (SEC ID N°: 80)
A-14 NA	acccgcagcagtgccagcattgtcagc aactttgtgcaa (SEC ID N°: 27)	gaggataaccaagaccctct (SEC ID N°: 57)	cagtcttatgataccagca atcagggtg (SEC ID N°: 82)
AA	TRSSGSIVSNFVQ (SEC ID N°: 28)	EDNQRPS (SEC ID N°: 58)	QSYDTSNQV (SEC ID N°: 83)
A-15 NA	actggaatcacctccaacatcggaagca atactgtacac (SEC ID N°: 29)	agtaataatcagcgccctca (SEC ID N°: 59)	gcagcatgggatgacag cctgaatgggtccggtg (SEC ID N°: 84)
AA	TGITSNIGSNTVH (SEC ID N°: 30)	SNNQRPS (SEC ID N°: 60)	AAWDDSLNGPV (SEC ID N°: 85)
A-16 NA	tctggaagcaggtccaacatcggaagta attatgtatac (SEC ID N°: 31)	aggaataatcagcgccctca (SEC ID N°: 61)	gcagcatgggatgacag cctgagtaggccggtta (SEC ID N°: 86)
AA	SGRSNIGSNYVY (SEC ID N°: 32)	RNNQRPS (SEC ID N°: 62)	AAWDDSLSRPV (SEC ID N°: 87)
A-17 NA	actgggagcagctccaacatcggggca ggttatgctgtacac (SEC ID N°: 33)	gataacaacaatcgccctca (SEC ID N°: 63)	cagtcttatgacagcagc ctgagtgctata (SEC ID N°: 88)
AA	TGSSSNIGAGYAVH (SEC ID N°: 34)	DNNNRP (SEC ID N°: 64)	QSYDSSLIAI (SEC ID N°: 89)
A-18 NA	aagtctagtacagagcctcctgcatagtg atggaagaactattgttt (SEC ID N°: 35)	gaagtttctaccggttctct (SEC ID N°: 65)	atgcaaaatatacagcctc ctctcacc (SEC ID N°: 90)
AA	KSSQSLHSDGKNYLF (SEC ID N°: 36)	EVSYRFS (SEC ID N°: 66)	MQNIQPPLT (SEC ID N°: 91)

ES 2 444 012 T3

Ab	CDR1	CDR2	CDR3
A-19 NA	aggctctagtcagagcctcctgcatagta atggatacaactatttggat (SEC ID N°: 37)	ttgggttctaatacgggcctcc (SEC ID N°: 67)	atggaagctcttcaaacta tgtgcagt (SEC ID N°: 92)
AA	RSSQSLLSNGYNYLD (SEC ID N°: 38)	LGSNRAS (SEC ID N°: 68)	MEALQTMCS (SEC ID N°: 93)
A-20 NA	cgggcaagtcagggcattagaatgatt taggc (SEC ID N°: 39)	gctgcatccagtttgcaaagt (SEC ID N°: 44)	ctacagcataatagttacc ctgcagt (SEC ID N°: 94)
AA	RASQGIRNDLG (SEC ID N°: 14)	AASSLQS (SEC ID N°: 45)	LQHNSYPRS (SEC ID N°: 95)
A-21 NA	cgggagtcagggtattagcagctgg ttagcc (SEC ID N°: 40)	gctgcatccagtttgcaaagt (SEC ID N°: 44)	caacaggctaacagttcc cgctcact (SEC ID N°: 96)
AA	RASQGISSWLA (SEC ID N°: 41)	AASSLQS (SEC ID N°: 45)	QQANSFPLT (SEC ID N°: 97)
A-22 NA	aggctctagtcagagcctcttgatagag atgatggagacacatttggac (SEC ID N°: 9)	acgcttctatcgggcctct (SEC ID N°: 42)	atgcaacgtatagagttc cattcact (SEC ID N°: 98)
AA	RSSQSLLDRDDGDTYLD (SEC ID N°: 10)	TLSYRAS (SEC ID N°: 43)	MQRTEFPFT (SEC ID N°: 72)
A-23 NA	cgggagtcagggtattagcagctgg ttagcc (SEC ID N°: 40)	actgcatccactttgcaaagt (SEC ID N°: 69)	caacagctaacagttcc cgctcact (SEC ID N°: 99)
AA	RASQGISSWLA (SEC ID N°: 41)	TASTLQS (SEC ID N°: 70)	QQSNSFPLT (SEC ID N°: 100)

CADENAS PESADAS H1 a H23

Ab	CDR1	CDR2	CDR3
A-1 NA	agctatggcatgcac (SEC ID N°: 101)	tctatatggtatgatggaagtaataaatatt atgtagactccgtgaagggc (SEC ID N°: 123)	cttggtggtggtttgactac (SEC ID N°: 164)
AA	SYGMH (SEC ID N°: 102)	SIWYDGSNKYYVDSVKG (SEC ID N°: 124)	LGGGFDY (SEC ID N°: 165)
A-2 NA	agctatggcatgcac (SEC ID N°: 101)	tttatatggtatgatggaagtgaataaatat tatgtagactccgtgaagggc (SEC ID N°: 125)	atgggaggcggtttgactac (SEC ID N°: 166)
AA	SYGMH (SEC ID N°: 102)	FIWYDGSEKYYVDSVKG (SEC ID N°: 126)	MGGGFDY (SEC ID N°: 167)
A-3 NA	agctatggcatgcac (SEC ID N°: 101)	gttatgtggtatgatggaagtaataaaga ctatgtagactccgtgaagggc (SEC ID N°: 127)	gaaaaagatcattacgacattttgactggtata actactactacggtctggacgtc (SEC ID N°: 168)
AA	SYGMH (SEC ID N°: 102)	VMWYDGSNKDYVDSVKG (SEC ID N°: 128)	EKDHYD1LTGYNYYYGLDV (SEC ID N°: 169)
A-4 NA	agctatggcatgcac (SEC ID N°: 101)	gttatgtggtatgatggaagtaataaaga ctatgtagactccgtgaagggc (SEC ID N°: 127)	gaaaaagatcattacgacattttgactggtata actactactacggtctggacgtc (SEC ID N°: 168)
AA	SYGMH (SEC ID N°: 102)	VMWYDGSNKDYVDSVKG (SEC ID N°: 128)	EKDHYDILTGYNYYYGLDV (SEC ID N°: 169)

ES 2 444 012 T3

Ab	CDR1	CDR2	CDR3
A-5 NA	acctatgggatgcac (SEC ID N°: 103)	gttatatcagatgatggaagtcataaata ctctgcagactccgtgaagggc (SEC ID N°: 129)	gaggagacgtattacgatattttgactggctat catcactactacggtatggacgtc (SEC ID N°: 170)
AA	TYGMH (SEC ID N°: 104)	VISDDGSHKYSADSVKG (SEC ID N°: 130)	EETYYDILTGYHHYYGMDV (SEC ID N°: 171)
A-6 NA	agctatggcatgcac (SEC ID N°: 101)	gaaatatggaatgatggaagtaataaata ctatgcagactccgtgaagggc (SEC ID N°: 131)	gagcctcagtattacgatattttgactggttatg ataactactacggtatggacgtc (SEC ID N°: 172)
AA	SYGMH (SEC ID N°: 102)	EIWNDSNKKYADSVKG (SEC ID N°: 132)	EPQYYDILTYGDNYYGMDV (SEC ID N°: 173)
A-7 NA	agctatggcatgcac (SEC ID N°: 105)	gtgatatcacatgatggaagtataaata ctatgcagactccgtgaagggc (SEC ID N°: 133)	gaaaaaccgtattacgatattttgactggttatt ctactactatggtatggacgtc (SEC ID N°: 174)
AA	SYDMH (SEC ID N°: 106)	VISHDGSCKYADSVKG (SEC ID N°: 134)	EKPYYDILTYGYFYYGMDV (SEC ID N°: 175)
A-8 NA	agctatggcatgcac (SEC ID N°: 101)	ggtatatggtatgatggaaggaataaata ctatgtagactccgtgaagggc (SEC ID N°: 135)	ttagcagtggccttgactac (SEC ID N°: 176)
AA	SYGMH (SEC ID N°: 102)	GIWYDGRNKYYVDSVKG (SEC ID N°: 136)	LAVAFDY (SEC ID N°: 177)
A-9 NA	agctatggcatgcac (SEC ID N°: 101)	gttatgtggtatgatggaagtaataaaga ctatgtagactccgtgaagggc (SEC ID N°: 127)	gaaaaagatcattacgacattttgactggtata actactactacggtctggacgtc (SEC ID N°: 168)
AA	SYGMH (SEC ID N°: 102)	VMWYDGSNCKDYVDSVKG (SEC ID N°: 128)	EKDHYDILTYGNYYYGLDV (SEC ID N°: 169)
A-10 NA	agcaactatgctgctgga ac (SEC ID N°: 107)	aggacatactacaggtccaagtggata atgattatgcagatctgtgagaagt (SEC ID N°: 137)	gaagatggcagtggtggtacggtgctttga catc (SEC ID N°: 178)
AA	SNYAAWN (SEC ID N°: 108)	RTYYRSKWYNDYAVSVRS (SEC ID N°: 138)	EDGSGWYGAFDI (SEC ID N°: 179)
A-11 NA	agctatgacatgcac (SEC ID N°: 109)	tttatatcagatgatggaagtaataaatac tatggagactccgtgaagggc (SEC ID N°: 139)	gatcaatacgaattttgactggtattctctgat gcttttgatac (SEC ID N°: 180)
AA	SYDMH (SEC ID N°: 106)	FISDDGSNKKYGDVSKG (SEC ID N°: 140)	DQYDILTYSSDAFDI (SEC ID N°: 181)
A-12 NA	agctatgacatgcac (SEC ID N°: 109)	tttatatcagatgatggaagtaataaatac atggagactccgtgaagggc (SEC ID N°: 141)	gatcaatacgaattttgactggtattctctgat gcttttgatac (SEC ID N°: 180)
AA	SYDMH (SEC ID N°: 106)	FISDDGSNKKYGDVSKG (SEC ID N°: 140)	DQYDILTYSSDAFDI (SEC ID N°: 181)
A-13 NA	agctatgacatgcac (SEC ID N°: 109)	gttatatcatatgatggaagtaataaatac tatggagactccgtgaagggc (SEC ID N°: 142)	gatcaatacgaattttgactggtattctctgat gcttttgatac (SEC ID N°: 180)
AA	SYDMH (SEC ID N°: 106)	VISYDGSNKKYGDVSKG (SEC ID N°: 143)	DQYDILTYSSDAFDI (SEC ID N°: 181)
A-14 NA	aactatggcatgcac (SEC ID N°: 110)	gttatatggtatgatggaagtaataaatac tatgcagactccgtgaagggc (SEC ID N°: 144)	gcctattacgaattttgactgattacccccagt atgactactactacggtatggacgtc (SEC ID N°: 182)

ES 2 444 012 T3

Ab	CDR1	CDR2	CDR3
AA	NYGMH (SEC ID N°: 111)	VIWYDGSNKYYADSVKG (SEC ID N°: 145)	AYYDILTDYPQYDYYYGMDV (SEC ID N°: 183)
A-15 NA	agctatggcatgcac (SEC ID N°: 101)	cttatatcattgatggaagtaataaatact atgcagactccgtgaagggc (SEC ID N°: 146)	gatgggtattacgatattttgactgggtatgagg atgatgctttgatatc (SEC ID N°: 184)
AA	SYGMH (SEC ID N°: 102)	LISFDGSNKYYADSVKG (SEC ID N°: 147)	DGYDILTGYEDDAFDI (SEC ID N°: 185)
A-16 NA	ggctactatttcac (SEC ID N°: 112)	tggatcatccctgacagtgggtggcaciaa agtatgcacagaagttcagggc (SEC ID N°: 148)	gaaggggttcattacgatattttgactgggtccta cttctactactacggtatggacgtc (SEC ID N°: 186)
AA	GYYLH (SEC ID N°: 113)	WIIPDSGGTKYAQKFQG (SEC ID N°: 149)	EGFHYDILTSYFYFYGMDV (SEC ID N°: 187)
A-17 NA	agctatggatcagt (SEC ID N°: 114)	tggatcgccgtttacaatggtcacacaaa atatgcacagaagttccagggc (SEC ID N°: 150)	agggtagcagtggctgggtactttgactac (SEC ID N°: 188)
AA	SYGIS (SEC ID N°: 115)	WIGVYNGHTKYAQKFQG (SEC ID N°: 151)	RVAVAGYFDY (SEC ID N°: 189)
A-18 NA	aagtctagtcagagcctcc tgcatagtgtgaaaga actatttgtt (SEC ID N°: 116)	gaagtttctaccggttctct (SEC ID N°: 152)	atgcaaaatatacagcctctctcacc (SEC ID N°: 190)
AA	KSSQSLHSDGK NYLF (SEC ID N°: 117)	VIWYDGSHKYYEDSVKG (SEC ID N°: 153)	VGYGSGWYEEEEHYGMDV (SEC ID N°: 191)
A-19 NA	agctatggcatgcac (SEC ID N°: 101)	attatatggtctgatggaattaacaaatac tatgcagactccgtgaagggc (SEC ID N°: 154)	gagagaggcctctacgatattttgactggtatt ataactactacggtattgacgtc (SEC ID N°: 192)
AA	SYGMH (SEC ID N°: 102)	HWSDGINKYYADSVKG (SEC ID N°: 155)	ERGLYDILTYGYYNYGIDV (SEC ID N°: 193)
A-20 NA	ggctatacctgaac (SEC ID N°: 117)	aacattaatagtaggtagtctcatatac tacacagactctgtgaagggc (SEC ID N°: 156)	gatcagtataactggaactactactacggtatg gacgtc (SEC ID N°: 194)
AA	GYYLN (SEC ID N°: 118)	NINSRSLIYYTDSVKG (SEC ID N°: 157)	DQYNWNYYYGMDV (SEC ID N°: 195)
A-21 NA.	agctatgccatgaac (SEC ID N°: 119)	tacattggtagtagtagtagtgccatatac tacggagactctgtgaagggc (SEC ID N°: 158)	tatagaagtggctgggtccccctcttgacttc (SEC ID N°: 196)
AA	SYAMN (SEC ID N°: 120)	YIGSSSSAIYYGDSVKG (SEC ID N°: 159)	YRSGWSPLFDF (SEC ID N°: 197)
A-22 NA	agctatggcatgcac (SEC ID N°: 101)	tctatatggtatgatggaagtaataaatatt atgtagactccgtgaagggc (SEC ID N°: 160)	cttggtggtggtttgactac (SEC ID N°: 164)
AA	SYGMH (SEC ID N°: 102)	SIWYDGSNKYYVDSVKG (SEC ID N°: 161)	LGGGFDY (SEC ID N°: 165)
A-23 NA	agatagccatgaac (SEC ID N°: 121)	tacattggtagtagtagtagtgccatatac tacgcagactctgtgaagggc (SEC ID N°: 162)	tatagcagtggctgggtccccctcttgactac (SEC ID N°: 198)
AA	RYAMN (SEC ID N°: 122)	YIGSSSSAIYYADSVKG (SEC ID N°: 163)	YSSGWSPLFDY (SEC ID N°: 199)

Secuencias consenso CDR

Cadena ligera CDR1

Grupo 1

RSSQSLLDRDDGDTYLD (SEC ID N°: 10)

5 RSSQSLLDSADGDTYLD (SEC ID N°: 12)

RSTQSLLDSDDGDTYLD (SEC ID N°: 20)

R S ^{X₁} S Q S L L D ^{X₂} R ^{X₃} D D G T Y T L D
T S A

i. **R S X₁ Q S L L D X₂ X₃ D G T Y T L D (SEC ID N°: 200)**

X₁ es un resto de serina o un resto de treonina,

X₂ es un resto de arginina o un resto de serina,

10 X₃ es un resto de aspartato o un resto de alanina,

Grupo 2

RASQDIRNDFG (SEC ID N°: 18)

RASQGIRNDLG (SEC ID N°: 14)

R A S Q ^{X₄} G I R N D ^{X₅} L G
D F

ii. **R A S Q X₄ I R N D X₅ G (SEC ID N°: 201)**

15

X₄ es un resto de glicina o un resto de aspartato,

X₅ es un resto de leucina o un resto de fenilalanina.

20 Grupo 3

SGDKLGDKYVC (SEC ID N°: 24)

SGDKLGDKYAC (SEC ID N°: 26)

S G D K L G D K Y ^{X₆} V C
A

iii. **S G D K L G D K Y X₆ C (SEC ID N°: 202)**

25

X₆ es un resto de valina o un resto de alanina

Cadena Pesada CDR1

Grupo 1

30 TYGMH- (SEC ID N°: 104)

SYGMH- (SEC ID N°: 102)

SYDMH- (SEC ID N°: 106)

X ₇		X ₈		
S	Y	G	M	H
T		D		

i. **X₇ Y X₈ M H (SEC ID N°: 203)**

35

X₇ es un resto de serina o un resto de treonina,

X₈ es un resto de glicina, o un residuo de aspartato,

Cadena ligera CDR2

40 Grupo 1

AASSLQS (SEC ID N°: 45)

AASSLES (SEC ID N°: 50)

A A S S L X_9
Q S
E

i. A A S S L X_9 S (SEC ID N°: 204)

X_9 es un resto de glutamina o un resto de glutamato,

Grupo 2

- 5 QTSKRPS (SEC ID N°: 54)
QSTKRPS (SEC ID N°: 56)

X_{10} X_{11}
Q T S K R P S
S T

ii. Q X_{10} X_{11} K R P S (SEC ID N°: 205)

X_{10} es un resto de serina o un resto de treonina,

X_{11} es un resto de treonina o un resto de serina,

10

Cadena pesada CDR2

Grupo 1

SIWYDGSNKYYVDSVKG (SEC ID N°: 124)

FIWYDGSNKYYVDSVKG (SEC ID N°: 126)

- 15 VIWYDGSNKYYADSVKG (SEC ID N°: 145)

EIWNDGSNKYYADSVKG (SEC ID N°: 132)

X_{12} X_{13} X_{14} X_{15}
S I W Y D G S N K Y Y V D S V K G

F N E A
V

E

i. X_{12} I W X_{13} D G S X_{14} K Y Y X_{15} D S V K G (SEC ID N°: 206)

- 20 X_{12} es un resto de serina, un resto de fenilalanina, un resto de valina, o un resto de glutamato,

X_{13} es un resto de tirosina, un resto de asparagina,

X_{14} es un resto de asparagina o un resto de glutamato,

X_{15} es un resto de valina o un resto de alanina,

- 25 Grupo 2

VISHDGSNDKYYADSVKG (SEC ID N°: 134)

FISDDGSNKY YGDSVKG (SEC ID N°: 140)

VISYDGSNKY YGDSVKG (SEC ID N°: 143)

VISDDGSHKY SADSVDKG (SEC ID N°: 130)

30

X_{16} X_{17} X_{18} X_{19} X_{20}
V I S H D G S D K Y Y A D S V K G
F D N S G
Y H

ii. X_{16} I S X_{17} D G S X_{18} K Y X_{19} X_{20} D S V K G (SEC ID N°: 207)

X_{16} es un resto de valina o un resto de fenilalanina,

X_{17} es un resto de histidina, un resto de aspartato, o un resto de tirosina,

X_{18} es un resto de aspartato, un resto de asparagina o un resto de histidina,

- 35 X_{19} es un resto de tirosina, un resto de serina,

X₂₀ es un resto de alanina o un resto de glicina,

Cadena ligera CDR3

Grupo 1

- 5 LQHNSDPLT (SEC ID N°: 76)
LQQNSYPLT (SEC ID N°: 80)
LQHNSNPLT (SEC ID N°: 74)

L	Q	X ₂₁	N	S	X ₂₂	P	L	T
		H			N			
		Q			D			
					Y			

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

- 10 X₂₁ es un resto de histidina o un resto de glutamina,
X₂₂ es un resto de asparagina, un resto de aspartato o un resto de tirosina,

Grupo 2

- QAWDSNTVI (SEC ID N°: 78)
15 QAWDSSTVV (SEC ID N°: 80)

Q	A	W	D	S	X ₂₃	T	V	X ₂₄
					N			I
					S			V

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

- X₂₃ es un resto de asparagina o un resto de serina,
20 X₂₄ es un resto de isoleucina o un resto de valina,

Cadena pesada CDR3

Grupo 1

- EKDHYDILTGYNYYYGLDV (SEC ID N°: 169)
25 EETYYDILTGYHHYYGMDV (SEC ID N°: 171)
EPQYYDILTGYDNYGMDV (SEC ID N°: 173)
EKPYYDILTGYFYYYGMDV (SEC ID N°: 175)

E	X ₂₅	X ₂₆	X ₂₇	Y	D	I	L	T	G	Y	X ₂₈	X ₂₉	Y	Y	G	X ₃₀	D	V
	K	D	H								N	Y				L		
	E	T	Y								H	H				M		
	P	Q									D	N						
		P									F							

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

- 30 X₂₅ es un resto de lisina, un resto de glutamato, o un resto de prolina,
X₂₆ es un resto de aspartato, un resto de treonina, un resto de glutamina o un resto de prolina,
X₂₇ es un resto de histidina, o un resto de tirosina,
X₂₈ es un resto de asparagina, un resto de histidina, un resto de aspartato o un resto de fenilalanina,
X₂₉ es un resto de tirosina, un resto de histidina, o un resto de asparagina,
35 X₃₀ es un resto de leucina, o un resto de metionina,

Grupo 2

- LGGGFDY (SEC ID N°: 165)
MGGGFDY (SEC ID N°: 167)

X_{31}
 L G G G F D Y
 M

ii. X_{31} GGGFDY (SEC ID N°: 211)

X_{31} es un resto de leucina o un resto de metionina.

También se describen proteínas de unión a antígeno que comprenden una región variable de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en L1-L23 o una región variable de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en H1-H23, y fragmentos, derivados, muteínas y sus variantes. Dicha proteína de unión a antígeno puede representarse usando la nomenclatura "LxHy", en la cual "x" corresponde al número de la región variable de cadena ligera e "y" corresponde al número de la región variable de cadena pesada. Por ejemplo, L2H1 se refiere a una proteína de unión a antígeno con una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de L2 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de H1 como se muestra en la Tabla 3 más adelante. Las CDR y regiones marco conservadas de cada una de estas secuencias de dominio variable también se identifican en la Tabla 3 más adelante. Las proteínas de unión a antígeno de la invención incluyen, por ejemplo, anticuerpos que tienen una combinación de dominios variables de cadena ligera y cadena pesada seleccionados del grupo de combinaciones que consisten en L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11D11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, H17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22 y L23H23. En una realización, los anticuerpos son anticuerpos humanos.

La siguiente Tabla 3 también proporciona las secuencias de polinucleótidos (ADN) que codifican las secuencias de aminoácidos de los dominios variables de cadena ligera y cadena pesada para anticuerpos GCGR ejemplares.

TABLA 3

Secuencias de polinucleótidos y secuencias de aminoácidos de la región variable anti-GCGR

Secuencias de polinucleótidos y de aminoácidos de la región variable de cadena ligera

L1 (A-1)

gatattgtgctgaccagactccactctccctgcccgccacccctggagagccggcctccatctcctgcaggctagtcagagcctcttg
gatagagatgatggagacacctaattggactggtacctgcagaagccagggcagtcctccacagctcctgatctatacgtttcctatcgg
gcctctggagtcccagacaggttcagtggtcagtggtcaggcactgatttctcactgaaatcagcagggtggaggctgaggatgttg
gagtttattactgcatacgaacgtatagagttccattcactttcgccctgggaccaaagtggatatcaaa (SEC ID N°: 212)

DIVLTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLDRDDGDTYLDWYLQKPGQSPQLLIYITLSY
RAŠGVDPDRFSGSGSGTDFSLKISRVEAEDVGVYYCMQRIEFPFTFGPGTKVDIK (SEC
ID N°: 213)

L1 (A-2)

agactccactctccctgcccgccacccctggagagccggcctccatctcctgcaggctagtcagagcctctggatagtgctgatgga
gacacctatttgactggtacctgcagaagccagggcagtcctccacagctcctgatctatacgtttcctatcgggcctctggagtcca
gacaggttcagtggtcagtggtcagacactgatttctcactgaaatcagcagggtggaggctgaggatgttgagtttattactgcata
caacgtatagagttccattcactttcgccctgggaccaaagtggatatcaaa
 (SEC ID N°: 214)

DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLDSADGDTYLDWYLQKPGQSPQLLIYITLSY
RAŠGVDPDRFSGSGSDTDFSLKISRVEAEDVGVYYCMQRIEFPFTFGPGTKVDIK (SEC
ID N°: 215)

L3 (A-3)

gacatccagatgaccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgggcaagtcagggcattag
aaatgatttaggctggatcagcagaaaccagggaagcccctaagcgctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtgggtcccat
caagggtcagcggcagtggtatgggacagaattcactctcacaatcagcagtgtagcgcctgaagattttgtaacttattactgtctaca
gcataatagtaaccctctcacittcgccggagggaaccaagtgtagatcaaa

(SEC ID N°: 216)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGV
 PSRFSGSGSGTEFTLTISVQPEDFVITYYCLQHNSNPLTFGGGKVEIK

(SEC ID N°: 217)

L4 (A-4)

gacatccagatgaccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgggcaagtcagggcattag
aaatgatttaggctggatcagcagaaaccagggaagcccctaagcgctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtgggtcccat
caagggtcagcggcagtggtatgggacagaattcactctcacaatcagcagtgtagcgcctgaagattttgcaacttattactgtctaca
gcataatagtaaccctctcacittcgccggagggaaccaagtgtagatcaaa

(SEC ID N°: 218)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGV
 PSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSNPLTFGGGKVEIK

(SEC ID N°: 219)

5

L5 (A-5)

gacatccagatgaccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgggcaagtcagggcattag
aaatgatttaggctggatcagcagaaaccagggaagcccctaagcgctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtgggtcccat
caagggtcagcggcagtggtatgggtcagaattcactctcacaatcagcagcctgtagcgcctgaagattttgcaacttattactgtctaca
gcataatagtgaccgctcacittcgcccaagggaacagactggagattaaa

(SEC ID N°: 220)

DIQMTQSPSSLSAFVGDRVITITCRASQIRNDLGWYQQKPGKAPKRLLYAASSLQSG
 VPSRFSGSGSGSEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSDPLTFGQGTRLEIK

(SEC ID N°: 221)

10 L6 (A-6)

gaaattgtgtgacgcagctccaggcaccctgtctttgttccagggaagagccaccctctctgcaggggccagtcagagtgttagc
agcaactacttagcctggtagcagcagaatctggccaggctcccaggctctcatctatggtgcatccagcaggggccactggcatcc
cagacaggttcagtggtcagtggtctgggacagacttcactctcaccatcagcagactggagcctgaagattttgagtgattactgtc
acaatatgtaactcaccattcacittcgccctgggaccaatgtgatatcaaa

(SEC ID N°: 222)

EIVLTQSPGTLISLPGERATLSRASQSVSSNYLAWYQQKSGQAPRLLIYGASSRATGI
 PDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQOYGNPFTFGPGTNVDIK

(SEC ID N°: 223)

L7 (A-7)

gacatccagatgacccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccgtcacttgccgggcaagtcaggacattag
aaatgatttggctggatcagcaaaaaccagggaagcccctaagcgcctgatctatgctgcatccagtttacaagtggggtcccatc
aagggtcagcggcagtggtatctgggacagaattcactctcacaatcagcagcctgcagcctgaagattttgcaacttattactgtctacag
caaaatagttaccgcctcactttcgggggagggaccaaggtggaatcaaa

(SEC ID N°: 224)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTVTCRASODIRNDFGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLOSG
VPSRFSGSGSGTEFTLTISSLOPEDFATYYCLQONSYPLTFGGGTKVEIK

(SEC ID N°: 225)

L8 (A-8)

gatattgtgatgacccagactccacttccctgcccgtcaccctggagagcggcctccatctcctgcaggtctactcagagcctcttg
gatatgatgatggagacacctatttggactgggtacctgcagaagccggggcagctccacagctcctgatctatagccttctctatcgg
gcctctggagtcccagacaggttcagtggtcagtggtcaggcactgatttcacactgaaaatcagcaggggtggaggctgaggatgtg
gagtttattactgcatgcaacgtatagagtccattcactttcggcctgggaccaagtggaatcaaa

(SEC ID N°: 226)

5

DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSTQSLDSDGDYLDWYLQKPGQSPQLLIYITLSY
RASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQRIEFPTFGPGTKVDIK

(SEC ID N°: 227)

L9 (A-9)

gacatccagatgacccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgggcaagtcaggacattag
aaatgatttaggctggatcagcagaaaccagggaagcccctaagcgcctgatctatgctgcatccagtttgaagtggggtcccat
caagggtcagcggcagtggtatctgggacagaattcactctcacaatcagcagtggtgcagcctgaagattttgtaacttattactgtctaca
gcataatagtaacctctcactttcggcggagggaccaaggtggagatcaaa

(SEC ID N°: 228)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLESGV
PSRFSGSGSGTEFTLTISSVQPEDFVTYYCLOHNSNPLTFGGGKVEIK

(SEC ID N°: 229)

10

L10 (A-10)

gacatccagatgacccagctccatcctccctgtctgcatctgtgggagacagagtcaccatcacttgccaggcgagtcaggacattag
taagtatttaaatggatcagcagaaaccagggaagcccctaagctcctcatctacgatgcatccaatttgaagacaggggtcccatc
aagggtcagtggaagtggtatctgggacagattttactttaccatcagcagcctgcagcctgaagatattgcaacatattactgtcaacag
tatggtaatctcccgatcaccttcggccaaggacacgactggagagtaaa

(SEC ID N°: 230)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCQASODISKYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGV
PSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYYCQQYGNLPTFGQGTRESK

(SEC ID N°: 231)

L11 (A-11)

tcctatgagctgactcagccaccctcagtgctccgtgtcccaggacagacagccagcatcacctgcctggagataaattgggggataa
 atatgtttgctggatcagcagaagccaggccagtcacctgtgctgtcatctatcaaacctccaagcggccctcagggatccctgagcg
 gttctctggctccaactctgggaacacagccactctgacctcagcgggacccaggctatggatgaggctgactattactgtcagcgct
 gggacagcaacactgtgatttcggcgaggaggaccaagctgacctcta
 (SEC ID N° : 232)

SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYVCWYQQKPGQSPVLVIYQTSKRPSGIP
 ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSNTVIFGGGTKLTVL
 (SEC ID N° : 233)

L12 (A-12)

tcctatgagctgactcagccaccctcagtgctccgtgtcccaggacagacagccagcatcacctgcctggagataaattgggggataa
 atatgtttgctggatcagcagaagccaggccagtcacctgtgctgtcatctatcaaacctccaagcggccctcagggatccctgagcg
 gttctctggctccaactctgggaacacagccactctgacctcagcgggacccaggctatggatgaggctgactattactgtcagcgct
 gggacagcagcactgtggtttcggcgaggaggaccaagctgacctcta
 (SEC ID N° : 234)

SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYVCWYQQKPGQSPVLVIYQTSKRPSGIP
 ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTVVFGGGTKLTVL
 (SEC ID N° : 235)

5

L13 (A-13)

tcctatgagctgactcagccaccctcagtgctccgtgtcccaggacagacagccagcatcacctgcctggagataaattgggggataa
 atatgcttgcctggatcagcagaagccaggccagtcacctgtacttggtcatctatcaatctaccaagcggccctcagggatccctgagc
 gttctctggctccaactctgggaacacagccactctgacctcagcgggacccaggctatggatgaggctgactattactgtcagcgct
 tgggacagcagcactgtggtttcggcgaggaggaccaagctgacctcta
 (SEC ID N° : 236)

SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQQKPGQSPVLVIYQTSKRPSGIP
 ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTVVFGGGTKLTVL
 (SEC ID N° : 237)

10 L14 (A-14)

aattttatgctgactcagcccccactctgtgtcggagtctcgggggaagacggtaaccatctcctgcacccgcagcagtgccagcattgtc
 agcaactttgtgcaatggtaccagcagcggccggcagttccccaccactgtgatctatgaggataaccaagacccctctgggtcc
 ctgatcggttctctggctccatcgacagctcctccaactctgctccctcaccatctctggactgaagactgaggacgaggctgactact
 actgtcagtccttatgataccagcaatcaggtgttcggcgaggaggaccaagctgacctcctg
 (SEC ID N° : 238)

NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIVSNFVQWYQQRPGSSPTTVIYEDNORPSGV
 PDRFSGSIDSSNSASLTISGLKTEDEADYYCQSYDTSNQVFGGGGTKLTVL
 (SEC ID N° : 239)

L15 (A-15)

cagctgtgctgactcagccacccccagcgtctgggacccccgggcagagggtcaccatctctgtgactggaaacacctccaacatcg
gaagcaatactgtacactggtaccagcagttccagggaacggccccaaactcctcatctatagtaataatcagcggccctcaggggtc
cctgaccgattctctggctccaagtctggcacctcagcctccctggccatcagtggtcctcagctgaggatgaggctgattattactgtg
cagcatgggatgacagcctgaatggcgggtgttcggcgaggggaccaagctgaccgtccta
 (SEC ID N° : 240)

QSVLTQPPPASGTPGQRTVISCTGITSNIGSNTVHWYQQFPGTAPKLLIYSNNORPSGV
 PDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGPVFGGGTKLTVL
 (SEC ID N° : 241)

L16 (A-16)

cagctgtgctgactcagccaccctcagcgtctgggacccccgggcagagggtcaccatctctgttctggaagcaggtccaacatcg
gaagtaattatgtatactggtaccaacagctcccagggaacggccccaaactcctcatctataggaataatcagcggccctcaggggtc
cctgaccgattctctggctccaagtctggcacctcagcctccctggccatcagtggtcctcgggtccgaggatgaggctgattattactgt
gcagcatgggatgacagcctgagtaggccggtattcggcgaggggaccaagctgaccgtccta
 (SEC ID N° : 242)

QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSGSRSNIGSNYVYVYQQLPGTAPKLLIYRNNORPSG
 VPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSRPVFGGGTKLTVL
 (SEC ID N° : 243)

L17 (A-17)

cagctgtgctgacgcagccgccctcagtgctctggggccccagggcagagggtcaccatctcctgcactgggagcagctccaacatc
ggggcaggttatgtgtacactggtaccagcagcttcagggaacagccccaaactcctcatctatgataacaacaatcgccctcag
gggtccctgaccgattctctggctccaagtctggcacctcagcctccctggccatcactgggtccagggtgaggatgaggctgattatt
actgccagtcctatgacagcagcctgagtgctataatcggcgaggggaccaagctgaccgtccta
 (SEC ID N° : 244)

QSVLTQPPSVSGAPGQRTVISCTGSSSNIGAGYAVHWYQQLPGTAPKLLIYDNNNRPS
 GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSAIFGGGGTKLTVL
 (SEC ID N° : 245)

10

L18 (A-18)

aatattgtgatgaccagactccactctctgtccgtcaccctggacagccggcctccatctcctgaagtctagttagagcctcctgc
atagtgatggaagaactattttgtgtacctacagaagccaggccagctccacagctcctgatctatgaagttcctaccgggtctctg
gagtgccagataggttcagtgccagcgggtcagggacagatttctcattgaaaatcagccgggtggaggctgaggatgttggggttat
tactgcatgcaaaaataacagcctccttcaccttcggccaaggacagactggagattaaa
 (SEC ID N° : 246)

NIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLHSDGKNYLEWYLQKPGQSPQLLIYEVSYR
FSGVPDRFSGSGGTDFSLKISRVEADVGVYYCMQNIQPPLTFGQGTRLEIK
 (SEC ID N° : 247)

L19 (A-19)

gggtattgtgctgactcagctccactctccctgcccgtaaccctggagagccggcctccatctcctgcaggctagtcagagcctcctg
catagtaatggatacaactatttggattggtactgcagaagccagggcagctccgcagctcctgatctatttgggttctaatacgggcctc
cggggtcctgacaggtcagtggtcagtgatcaggcacagatttacactgaaaatcagcagagtgaggctgaggatgttggggtt
tattactgcatggaagctcttcaactatgtgcagtttggccaggggaccaagctggagatcaag

(SEC ID N°: 248)

GIVLTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
ASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMEALQTMCSFGQGTKLEIK

(SEC ID N°: 249)

L20 (A-20)

gacatccagatgaccagctccatctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgcgggcaagtcagggcattag
aatgatttagcctggtatcagcagaaccagggaagcccctaagcgctgatctatgctgcatccagtttgcaaaagtggttcccat
ctagggtcagcggcagtggtatcgggacagaattcactctcacaatcagcaacctgcagcctgaagatttgaacttactgtctaca
gcataatagttaccctcgagtttggccaggggaccaagctggagatcaaa

(SEC ID N°: 250)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLOSGSV
PSRFSSGSGSGTEFTLTISNLQPEDFATYYCLOHNSYPRSFGQGTKLEIK

(SEC ID N°: 251)

5

L21 (A-21)

gacatccagatgaccagctccatctccgtgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgcgggcgagtcagggtattagc
agctggttagcctggtatcagcagaaccagggaagcccctaagctcctaatactatgctgcatccagtttgcaaaagtggttcccat
acggttcagcggcagtggttctgggacagattcactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagatttgaacttactattgcaaca
ggctaacagtttcccgtcactttcggcggaggggaccaaggtggagatcaaa

(SEC ID N°: 252)

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLOSGSV
PSRFSSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPLTFGGGTKVEIK

(SEC ID N°: 253)

10 L22 (A-22)

gatattgtgctgaccagactccactctccctgcccgtaaccctggagagccggcctccatctcctgcaggctagtcagagcctcttg
gatagagatgatggagacacctatttggactggtacctgcagaagccagggcagctccacagctcctgatctatcgccttccctatcgg
gcctcggagtcaccagacaggtcagtggtcagtggtcaggcactgatttctactgaaaatcagcaggggtggaggctgaggatgttg
gagtttattactgcatgcaacgtatagagtttccattcacittcgccctgggaccaaaagtgatataaa

(SEC ID N°: 254)

DIVLTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLDRDDGDTYLDWYLQKPGQSPQLLIY
RASGVPDRFSGSGSGTDFSLKISRVEAEDVGVYYCMQRIEFPTFPGPTKVDIK

(SEC ID N°: 255)

L23 (A-23)

gacatccagatgaccagcttccatcttccgtgtctgcgtctgtaggggacagagtcaccatcactgtcgggcgagtcagggatattagc
agctggttagcctggatcagcagaaaccagggaagccctaagctcctgatctatactgcatccactttgcaaagtgggtcccatc
aagggtcagcgagtgatctgggacagattcactctcaccatcagcagcctgagcctgaagattttgcaactactattgtcaacag
ttaacagtttcccgctcactttcggcggaggaccaaggtggagatcaaa

(SEC ID N°: 256)

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYTASTLQSGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQOSNSFPLTIFGGGTKVEIK

(SEC ID N°: 257)

Secuencias de polinucleótidos y de aminoácidos de la región variable de cadena pesada

5

H1 (A-1)

cagggtgcagctggaggagctgtggggaggcgtgtgtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtctggaatcaccttca
gtagctatggcatgcactgggtccgccagggtccaggcaaggggctggagtggtggcattatattggtatgatggaagtaataaata
tatgtagactccgtgaagggccgattcaccatctcagagacaattccaagaaacgctgtatctgcaaatgaacaggctgagagccga
ggacacggctgtgtattactgtgcgagacttgggtgtgtttgactacttggggccagggaaccctggtcaccgtctcctca

(SEC ID N°: 258)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGITFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVASIWYDGS
NKYYVDSVKGRFTIFRDNSKTLYLQMNRLRAEDTAVYYCARLGGGFDYWGQGTL
VTVSS

(SEC ID N°: 259)

H2 (A-2)

cagggtgcaactggaggagctgtggggaggcgtgtgtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtctggaatcaccttca
gtagctatggcatgcactgggtccgccagggtccaggcaaggggctggagtggtggcattatattggtatgatggaagtgaataaata
tatgtagactccgtgaagggccgattcaccatctcagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagctgagagccg
aggacacggctgtgtattactgtgcgagaaatgggaggcggctttgactacttggggccagggaaccctggtcaccgtctcctca

(SEC ID N°: 260)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGITFSSYGMHWVRQGPGKGLEWVAFIWYDGS
EKYYVDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARMGGGFDYWGQGTL
VTVSS

(SEC ID N°: 261)

10

H3 (A-3)

cagggtgcagctggaggagctgtggggaggcgtgtgtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtctggattcaccttca
gtagctatggcatgcactgggtccgccagggtccaggcaaggggctggagtggtggcattatattggtatgatggaagtaataaag
actatgtagactccgtgaagggccgattcaccatctcagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaaccgcctgagagcc
gaggacacggctgtgtattactgtgcgagagaaaaagatcattacgacattttgactggtataactactactacggtctggacgtctggg
gccaagggaccacggtcaccgtctcctca

(SEC ID N°: 262)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVMWYD
GSNKDYVDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNRLRAEDTAVYYCAREKDHYDILTGYN
YYYGLDVWGQTTVTVSS

(SEC ID N°: 263)

15

H4 (A-4)

cagggtcagctggtggagctcgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtctggattcaccttca
 gtacctaaggcatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtggtggcagttatgtgtatgatggaagtaataaag
 actatgtagactccgtgaagggccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgcgttatctgcaaatgaaccgcctgagagcc
 gaggacacggctgtgtattactgtgcgaga gaaaaagatcattacgacattttgactggtataactactactacggtctggacgtctggg
 gccaagggaccacggtcaccgtctcctcagcctccaccaagggccatcggtcttccccctggcgcctgctccaggagcacctccg
 agagcacagcgccctgggctgcct
 (SEC ID N°: 264)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVMWYD
GSNKDYVDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREEKDHYDILTGYN
YYYGLDVWGQGTTVTVSS
 (SEC ID N°: 265)

H5 (A-5)

cagggtcagctggtggagctcgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcctctggattcaccttca
 gtacctaaggcatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtggtggcagttatgtgtatgatggaagtaataaag
 ctctgcagactccgtgaagggccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgcgttatctgcaaatgaaccgcctgagaactg
 aggactcggctgtgtattactgtgcgaga gaggagacgtattacgataattttgactggctatcatcactactacggtatggacgtctggg
 ccaagggaccacggtcaccgtctcctca
 (SEC ID N°: 266)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISDDGS
HKYSADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRTEDSAVYYCAREETYYDILTGYHHY
YGMADVWGQGTTVTVSS

5 (SEC ID N°: 267)

H6 (A-6)

cagggtcagctggtggagctcgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtctggattcaccttca
 gtacctaaggcatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtggtggcagaaatgtgaatgatggaagtataaag
 actatgcagactccgtgaagggccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgcgttatctgcaaatgaaccgcctgagagc
 cgaggacacggctgtgtattattgtgcgaga gaggcctcagtaattacgataattttgactggtatgataactactacggtatggacgtctggg
 gccaagggaccacggtcaccgtctcctca
 (SEC ID N°: 268)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAEIVNDG
SNKYYADSVKGRFTISRDNPNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREPOYYDILTGYDN
YYGMDVWGQGTTVTVSS

(SEC ID N°: 269)

10 H7 (A-7)

cagggtcagctggtggagctcgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcctctggattcaccttca
 gtacctaaggcatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtggtggcagtgatatcacatgatggaagtataaag
 actatgcagactccgtgaagggccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgcgttatctgcaaatgagcagtttgagagct
 gaggacacggctgtgtattactgtgcgaga gaaaaaccgtattacgataattttgactggtatttactactatggtatggacgtctggg
 ccaagggaccacggtcaccgtctcctca

(SEC ID N°: 270)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMHWVRQAPGKGLEWVAVISHDGS
DKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCAREKPYYDILTGYFYY
YGMADVWGQGTTVTVSS

(SEC ID N°: 271)

H8 (A-8)

cagggtgcagttggcggagctctgggggagggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtacagcgtctggaatcaccttca
gtagctatggcatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtggtggcagggtatatggtatgatggaaggaataaat
actatgtagactccgtgaagggccgattcaccatctccagagacaattccaagaaacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagcc
gaggacacggctgtgtattactgtgcgaggttagcagtgcccttgactactggggccagggaactttggtcaccgtctctca
 (SEC ID N°: 272)

QVQLAESGGGVVQPGRSLRLSCTASGITFSSYGMHFWVRQAPGKGLEWVAGIWDG
RNKYYVDSVKGRFTISRDNSSKTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLAVAFDYWGQGT
LVTVSS
 (SEC ID N°: 273)

H9 (A-9)

cagggtgcagctgggtggagctctgggggagggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtctggattcaccttca
gtagctatggcatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtggtggcagggttatgtggtatgatggaagtaataaag
actatgtagactccgtgaagggccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaaccgctgagagcc
gaggacacggctgtgtattactgtgcgagagaaaaagatcattacgacattttgactggttataactactactacggctctggacgtctggg
gccaagggaccacggtcaccgtctctca
 (SEC ID N°: 274)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHFWVRQAPGKGLEWVAVMWYD
GSNKDYVDSVKGRFTISRDNSSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREKDHIDILTGYN
YYYGLDVWGQGTITVTVSS
 (SEC ID N°: 275)

5

H10 (A-10)

cagggtacagctgcagcagtcagggtccaggactggtagggccctgcagaccctctcactcaccgtgtgccatctccggggacagtgctct
ctagcaactatgctgcttggaaactggatcaggcagtcctccatgcagagggccttgagtggtgggaaggacatactacaggtccaagtg
gtataatgattatgcagtatctgtgagaagtcgaacaaccatcaaccagacacatccaagaaccagttctccctgcagttgaactctgtg
actcccaggacacggctgtgtattactgtacaagagaagatggcagtggtgtacgggtgctttgacatctggggccaagggacaa
tggtcaccgtctctca
 (SEC ID N°: 276)

QVQLQSQGPGLVPRSQTLSTCAISGDSVSSNYAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYRS
KWYNDYAVSVRSRTTINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCTRLEDGSGWYGAFDI
WGQGTMTVTVSS
 (SEC ID N°: 277)

10 H11 (A-11)

cagggtgcaactgggtggagctctgggggagggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcctctgggagcaccttc
agaagctatgacatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtggtggcatttatacagatgatggaagtaataaat
actatggagactccgtgaagggccgattgaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagc
tgaggacacggctgtgtattactgtgcgagagatcaatacgataattttgactggtattctctgatgcttttgatactggggccaagggac
aatggtcaccgtctcttc
 (SEC ID N°: 278)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGSTFRSYDMHFWVRQAPGKGLEWVAFISDDGS
NKYYGDSVKGRITISRDNSSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQYDILTGYSSDAF
DIWGQGTMTVTVSS
 (SEC ID N°: 279)

H12 (A-12)

cagggtgcaactgggtgagctctgggggaggcggtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcctctgggagcaccttc
 agaagctatgacatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggcatttatcatgatggaagtaataaaf
 attatggagactccgtgaagggccgattgacctctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagct
 gaggacacggctgtgtattattgtgcgagagatcaatacgaatatttgactgggtattctctgatgcttttgatatctggggccaagggaca
 atggtcaccgtctcttca
 (SEC ID N°: 280)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGSTRSYDMHWVRQAPGKGLEWVAFISDDGS
NKYYGDSVKGRLTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQYDILTGYSSDAF
DIWGQGTMTVTVSS

(SEC ID N°: 281)

H13 (A-13)

cagggtgcagctgggtgagctctgggggaggcggtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcctctggaagcaccttc
 agaagctatgacatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggcatttatcatgatggaagtaataaaf
 actatggagactccgtgaagggccgattgacctctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagc
 tgaggacacggctgtgtattactgtgcgagagatcaatacgaatatttgactgggtattctctgatgcttttgatatctggggccaagggac
 aatggtcaccgtctcttca
 (SEC ID N°: 282)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGSTRSYDMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDG
SNKYYGDSVKGRLTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQYDILTGYSSDA
FDIWGQGTMTVTVSS

(SEC ID N°: 283)

5

H14 (A-14)

cagggtgcagctgggtgagctctgggggaggcggtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtctggattcaccttca
 gtaactatggcatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggcatttatatggtatgatggaagtaataaaf
 ctatgcagactccgtgaagggccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagcc
 gaggacacggctgtgtattactgtgcgagagcctattacgaatatttgactgattaccccgatgactactactacggtatggacgtctg
 gggccaagggaccacggtcaccgtctcttca
 (SEC ID N°: 284)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDG
SNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAYYDILTDYPOYD
YYYGMDVWGQGTITVTVSS

(SEC ID N°: 285)

10 H15 (A-15)

cagggtgcagctgggtgagctctgggggaggcggtggtccagcctgggaagtcctgagactctcctgtgcagctctctggattcatcttcag
 tagctatggcatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggcatttatatcatttgatggaagtaataaaf
 atgcagactccgtgaagggccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagctga
 ggacacggctgtgtattactgtgcgagagatgggtattacgaatatttgactggtatgaggatgatgcttttgatatctggggccaaggga
 caatggtcaccgtctcttca
 (SEC ID N°: 286)

QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAVSGFISYGMHWVRQAPGKGLEWVALISFDGS
NKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGYEDDA
FDIWGQGTMTVTVSS

(SEC ID N°: 287)

H16 (A-16)

caggtgcagctggtgcagctgggggctgaggtgaagaagcctgggggcctcagtgaaggtcctgcaaggcttctggatacaccttca
ccggctactatttgcactgggtgcacaggcccctggacaagggctgagtggatgggaggatcatccctgacagtggtgcacaaa
gtatgcacagaagttcagggcaggtcaccatgaccagggacacgtccatcagcacagcctactggagctgagcaggctgagatc
tgacgacacggcgtgtattactgtgcgagagaagggttcattacgatatttgactgttcttacttactactacggtatggacgtcg
gggccaagggaccacggtcaccgtctctca
(SEC ID N°: 288)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYLHWVRQAPGQGLEWMGWIIPDS
GGTKYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYLELSRLRSDDTAVYYCAREGFHYDILTGSYFY
YYGMDVWGQGTTVTVSS
(SEC ID N°: 289)

H17 (A-17)

caggttcagctggtgcagctgggagctgaggtgaagaagcctgggggcctcagtgaaggtcctgcaaggcttctggttacacctttac
cagctatggtatcagttggggcgccacaggcccctggacaagggctgagtggatgggaggatcggcgtttacaatggtcacacaaaa
tatgcacagaagttcagggcagatcaccatgaccacagacacatccacgagcacagcctacatgagctgaggagcctgagatc
gacgacacggccatattttactgtgcgagaagggtagcagtggctggtactttgactactggggccagggaaccctggtcaccgtc
ctca
(SEC ID N°: 290)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWARQAPGQGLEWMGWIGVYN
GHTKYAQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAIFYCARRVAVAGYFDYWG
QGTLTVTVSS
(SEC ID N°: 291)

H18 (A-18)

caggtgcagctggtgggagctgggggaggcgtggtcagcctgggaggtcctggagactctcctgtgcagcgtctggattcaccttca
gtagatatggcatgcactgggtccgccaggctcaggcaagggggctggagtgggtggcagttatatggtatgatggaagtcataaaata
ctatgaagactccgtgaagggcgattcaccatcccagagacaattctaagaacagcgtgatctgcaaatgaacagcctgagagcc
gacgacacgggtggttattactgtgcgagatggggtatggcagtggctggtacgagtactattaccactacggtatggacgtctggg
ccaagggaccacggtcaccgtctctca
(SEC ID N°: 292)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSRYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDG
SHKYYEDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRADDTGVYYCARVGYGSGWYEYYY
HYGMDVWGQGTTVTVSS
(SEC ID N°: 293)

10 H19 (A-19)

caggtgcagctggtgggagctgggggaggcgtggtcagcctgggaggtcctggagactctcctgtgcagcgtctggattcaccttca
gtagctatggcatgcactgggtccgccaggctcaggcaagggggctggagtgggtgacaattatatggtcgtatgaattaacaaata
ctatgcagactccgtgaagggcgattcaccatatccagagacaattccaagaacagcgtgaatctgcaaatgaacagtgagagcc
gaggacacggctggttattactgtgcgagagagaggcctctacgatatttgactgttatttataactactacggtattgacgtctggg
gccaagggaccacggtcaccgtctctca
(SEC ID N°: 294)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVTIIWSDGI
NKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLNLQMNSLRAEDTAVYYCARERGLYDILTGYNYN
YGIDVWGQGTTVTVSS
(SEC ID N°: 295)

H20 (A-20)

gagggtgcagctgggtggagtctgggggagacttggtacagcctgggggggtccctgagactctcctgtgcagcctctggattcaccttca
gtggctatacctgaactgggtccgccaggctccagggaaggggctggagtgggtttcaaacattaatagtaggagtagtctcatatact
acacagactctgtgaagggccgattcaccatctccagagacaatgccagaactcactgtatctgcaaatgaacagcctgagagacga
ggacacggctgtgtattctgtgcgagagatcagctataactggaactactactacgggtatggacgtctggggccaagggaccacgggtca
ccgtctcctca

(SEC ID N°: 296)

EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYTLNWVRQAPGKGLEWVSNINSRSSI
IYYTDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYFCARDQYNWNYYYGMDVW
GQGTTVTVSS

(SEC ID N°: 297)

H21 (A-21)

gagggtcgggctgggtggagtctgggggagacttggtacagcctgggggggtccctgagactctcctgtgcagcctctggattcaccttca
gtagctatgccatgaactgggtccgccaggctccagggaaggggctggagtggatttcatacattggtagtagtagtgccatatact
acgggagactctgtgaagggccgattcaccatctccagagacaatgccagaactcactgtatctgcaaatgaacagcctgagagacga
ggacacggctgtgtattactgtgcgagatatagaagtggctgtccccctctttgactctggggccagggaagcctgggtcaccgtctc
ctca

(SEC ID N°: 298)

EVRLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLEWISYIGSSSSAI
YYGDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARYRSGWSPLFDFWQGS
LTVTVSS

(SEC ID N°: 299)

5

H22 (A-22)

cagggtgcagctgggtggagtctgggggaggcgtgggtccagcctggggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtctggaatcaccttca
gtagctatgccatgcactgggtccgccaggctccagggaaggggctggagtgggtggcatctatatggtatggaagtaataaatat
tatgtagactccgtgaagggccgattcaccatctccagagacaattccaagaaacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccga
ggacacggctgtgtattactgtgcgagacitgggtgggtgtttgactactggggccagggaacctgggtcaccgtctcctca

(SEC ID N°: 300)

QVQLVESGGGVVQPGSRSLRLSCAASGITFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVASIWYDGS
NKYYVDSVKGRFTIFRDNSKKTLYLQMNRLRAEDTAVYYCARLGGGFDYWGQGT
LVTVSS

(SEC ID N°: 301)

10 H23 (A-23)

gagggtcgggctgggtggagtctgggggaggcgtgggtccagcctgggggggtccctgagactctcctgtacagcctctggattcccccttca
atagatatgccatgaactgggtccgccaggctccagggaaggggctggagtgggtttcatacattggtagtagtagtgccatatact
acgcagactctgtgaagggccgattcaccatctccagagacaatgccagaactcactgtatctgcaaatgaacagcctgagagatga
agacacggctgtgtattactgtgcgagatatagcagtggtgtgtccccctctttgactactggggccagggaacctgggtcaccgtctc
ctca

(SEC ID N°: 302)

EVRLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFPPNRYAMNWVRQAPGKGLEWVSYIGSSSS
AIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARYSSGWSPLFDYWGQ
GTLTVTVSS

(SEC ID N°: 303)

En el presente documento se describen realizaciones particulares de las proteínas de unión a antígeno que comprenden una o más secuencias de aminoácidos que son idénticas a las secuencias de aminoácidos de una o más de las CDR y/o FR (regiones marco conservadas) ilustradas anteriormente. En una realización, la proteína de unión a antígeno comprende una secuencia CDR1 de cadena ligera ilustrada anteriormente. En otra realización, la

proteína de unión a antígeno comprende una secuencia CDR2 de cadena ligera ilustrada anteriormente. En otra realización, la proteína de unión a antígeno comprende una secuencia CDR3 de cadena ligera ilustrada anteriormente. En otra realización, la proteína de unión a antígeno comprende una secuencia CDR1 de cadena pesada ilustrada anteriormente. En otra realización, la proteína de unión a antígeno comprende una secuencia CDR2 de cadena pesada ilustrada anteriormente. En otra realización, la proteína de unión a antígeno comprende una secuencia CDR3 de cadena pesada ilustrada anteriormente. En otra realización, la proteína de unión a antígeno comprende una secuencia FR1 de cadena ligera ilustrada anteriormente. En otra realización, la proteína de unión a antígeno comprende una secuencia FR2 de cadena ligera ilustrada anteriormente. En otra realización, la proteína de unión a antígeno comprende una secuencia FR3 de cadena ligera ilustrada anteriormente. En otra realización, la proteína de unión a antígeno comprende una secuencia FR4 de cadena ligera ilustrada anteriormente. En otra realización, la proteína de unión a antígeno comprende una secuencia FR1 de cadena pesada ilustrada anteriormente. En otra realización, la proteína de unión a antígeno comprende una secuencia FR2 de cadena pesada ilustrada anteriormente. En otra realización, la proteína de unión a antígeno comprende una secuencia FR3 de cadena pesada ilustrada anteriormente. En otra realización, la proteína de unión a antígeno comprende una secuencia FR4 de cadena pesada ilustrada anteriormente.

En otra realización, al menos una de las secuencias CDR3 de la proteína de unión a antígeno difiere en no más de 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos sencillos de una secuencia CDR3 de A1-A23, como se muestra en las Tablas 2 y 3 anteriores. En otra realización, la secuencia CDR3 de cadena ligera de la proteína de unión a antígeno difiere en no más de 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos sencillos de una secuencia CDR3 de cadena ligera de A1- A23 como se muestra anteriormente y la secuencia CDR3 de cadena pesada de la proteína de unión a antígeno difiere en no más de 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 adiciones, sustituciones, y/o deleciones de aminoácidos sencillos de una secuencia CDR3 de cadena pesada de A1-A23 como se muestra anteriormente. En otra realización, la proteína de unión a antígeno comprende adicionalmente 1, 2, 3, 4 o 5 secuencias CDR cada una de ellas diferenciadas independiente por 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 adiciones, sustituciones y/o deleciones de aminoácidos sencillos de una secuencia CDR de A1-A23. En otra realización, la proteína de unión a antígeno comprende las CDR de la región variable de cadena ligera y las CDR de la región variable de cadena pesada expuestas anteriormente. En otra realización, la proteína de unión a antígeno comprende 1, 2, 3, 4, 5 y/o 6 secuencias CDR consenso mostradas anteriormente. En una realización adicional, la proteína de unión a antígeno comprende las CDR de cualquiera de L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22 y L23H23. En una realización, la proteína de unión a antígeno es un anticuerpo humano.

En una realización, la proteína de unión a antígeno (tal como un anticuerpo o fragmento de anticuerpo) comprende un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que se diferencia de la secuencia de un dominio variable de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en L1 a L23 sólo en los restos 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0, en la cual cada una de dicha diferencia de secuencia es independientemente cualquiera de una deleción, inserción o sustitución de un resto de aminoácido. En otra realización, el dominio variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a la secuencia de un dominio variable de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en L1-L23. En otra realización, el dominio variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a una secuencia de polinucleótidos L1-L23 indicada más adelante. En otra realización, el dominio variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por un polinucleótido que, en condiciones moderadamente rigurosas, se hibrida con el complemento de un polinucleótido que codifica un dominio variable de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en L1-L23. En otra realización, el dominio variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por un polinucleótido que, en condiciones rigurosas, se hibrida con el complemento de un polinucleótido que codifica un dominio variable de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en L1-L23.

En otra realización, una proteína de unión a antígeno comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que se diferencia de la secuencia de un dominio variable de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en H1-H23 sólo en los restos 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0, en la cual cada una de dicha diferencia de secuencia es independientemente cualquiera de una deleción, inserción o sustitución de un resto de aminoácido. En otra realización se describe el dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a la secuencia de un dominio variable de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en H1-H23. En otra realización, en el dominio variable de cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por una secuencia de nucleótidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 99 % idéntica a una secuencia de nucleótidos que codifica un dominio variable de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en H1-H23. En otra realización, el dominio variable de cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por un polinucleótido que, en condiciones moderadamente rigurosas, se hibrida con el complemento de un polinucleótido que codifica un dominio variable de cadena pesada seleccionada entre el grupo que consiste H1-H23. En otra realización, el dominio variable de cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que está codificada por un polinucleótido que, en condiciones rigurosas, se hibrida con el complemento

de un polinucleótido que codifica un dominio variable de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en H1-H23.

Realizaciones adicionales incluyen proteínas de unión a antígeno que comprenden las combinaciones L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22 y L23H23.

Las proteínas de unión a antígeno (por ejemplo, anticuerpos, fragmentos de anticuerpos y derivados de anticuerpos) de la invención pueden comprender cualquier región constante conocida en la técnica. La región constante de cadena ligera puede ser, por ejemplo, una región constante de cadena ligera de tipo kappa o lambda, por ejemplo, una región constante de cadena ligera de tipo kappa o lambda humana. La región constante de cadena pesada puede ser, por ejemplo, una región constante de cadena pesada de tipo alfa-, delta-, épsilon-, gamma-, o mu-, por ejemplo, una región constante de cadena pesada de tipo alfa-, delta-, épsilon-, gamma-, o mu- humana. En una realización, la región constante de cadena ligera o pesada es un fragmento, un derivado, una variante o una muteína de una región constante de origen natural.

Se conocen técnicas para obtener un anticuerpo de una subclase o de un isotipo diferente de un anticuerpo de interés, es decir, cambiando la subclase. Por tanto, anticuerpos de IgG pueden proceder de un anticuerpo de IgM, por ejemplo, y viceversa. Dichas técnicas permiten la preparación de nuevos anticuerpos que poseen las propiedades de unión a antígeno de un anticuerpo determinado (el anticuerpo parental), pero que también presentan las propiedades biológicas asociadas con un isotipo o subclase de anticuerpo diferente del anticuerpo parental. Pueden emplearse técnicas de ADN recombinante. En dichos procedimientos puede emplearse ADN clonado que codifica polipéptidos de anticuerpos particulares, por ejemplo, ADN que codifica el dominio constante de un anticuerpo del isotipo deseado. Véase también Lanitto et al., *Methods Mol. Biol.* 178:303-16 (2002).

En una realización, una proteína de unión a antígeno de la invención comprende adicionalmente los dominios lambda o kappa de cadena ligera constante o un fragmento de éstos. En la siguiente Tabla 4 se proporcionan las secuencias de las regiones constantes de cadena ligera y polinucleótidos que las codifican. En otra realización, una proteína de unión a antígeno de la invención comprende adicionalmente un dominio constante de cadena pesada, o su fragmento, tal como la región constante de cadena pesada de IgG2 proporcionada en la Tabla 4.

En una realización, en las SEC ID Nos: 310, 311, 312 y 311, mostradas más adelante, se presenta una forma de IgG2 de las secuencias de aminoácidos de cadena ligera y cadena pesada humana para el anticuerpo A-9 y A-3.

TABLA 4

Región constante de cadena ligera
polinucleótidos (kappa)

cgaaactgtggctgcaccatctgtcttcattcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgctgctgaataa
cttctatcccagagaggccaaagtacagtggagggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcagga
cagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctgacgctgagcaaacgagactacgagaacacaaagtctacgcctgcgaa
gtcaccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt (SEC ID N°: 304)

aminoácidos (kappa)

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEC ID N°: 305)

polinucleótidos (lambda)

ggtcagcccaaggctgccccctcggtcactctgttcccgccctctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcat
aagtgtacttctacccgggagccgtgacagtggtgctggaaggcagatagcagccccgtcaaggcgggagtgagaccaccacacc
tcaaacaagcaacaacaagtacggcgccagcagctatctgagcctgacgcctgagcagtggaagtccacagaagctacagctg
ccaggtcacgcatgaaggagcaccgtggagaagacagtggtccctacagaatgttca (SEC ID N°: 306)

aminoácidos (lambda)

GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETSTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEC ID N°: 307)

Región constante de cadena pesada
polinucleótidos

gcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcgccctgtccaggagcacctccgagagcacagcgccctgggctgcctggt
caaggactacttccccgaaccggtgacgggtgctggaactcaggcgctctgaccagcggtgcacaccttcccagctgtcctacag
tctcaggacttactccctcagcagcggtgaccgtgccctcagcaacttcggcaccagacctacacctgcaacgtagatcaca
agcccagcaacaccaaggtggacaagacagtgtagcgcaaatgtgtgtcagtgcccaccgtgccagcaccacctgtggcagga
ccgtcagttcttcttcccccaaaacccaaggacacctcatgatctccggaccctgaggtcacgtgcgtgggtggacgtgag
ccacgaagacccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcggtgaggtgcataatgccaagacaaagccacgggagagcag
ttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgctcaccgtgtgaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgaaggctctcca
acaaaggcctccagccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaaggcgagccccgagaaccacaggtgtacacctgcccc
atccccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtaaaggcttctacccagcgacatcgccgtggagtggg
agagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacacctccatgctggactccgacggctccttctctacagcaagctcac
cgtggacaagagcaggtggcaggggaacgtcttctatgctccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgcagaaga
ccctctccctgtctccgggtaaa
(SEC ID N°: 308)

5 Aminoácidos

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPHKPSNTKVDKTVRKCCVECPPCPAPPVA
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYT
LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGDSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEC ID N°: 309)

Forma de IgG2 de cadena ligera para A-9

MDMRVPAQLLGLLLWFPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGW
YQQKPGKAPKRLIYAASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISVQPEDFVITYYCLQHNSN
PLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS
FNRGEC
(SEC ID N°: 310)

10

Forma de IgG2 de cadena pesada para A-9

MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHW
VRQAPGKGLEWVAVMWYDGSNKDYVDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNRLRAED
TAVYYCAREKDHYDILTGYNYYYGLDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTS
ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFG
TQTYTCNVDPHKPSNTKVDKTVRKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT

PEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQ
DWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL
VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEC ID N°: 311)

15 Forma de IgG2 de cadena ligera para A-3

MDMRVPAQLLGLLLWFPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGW
YQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISVQPEDFVITYYCLQHNSN
PLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS
FNRGEC (SEC ID N°: 312)

Forma de IgG2 de cadena pesada para A-3

MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHW.
VRQAPGKGLEWVAVMWYDGSNKDYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNRLRAED
TAVYYCAREKDHYDILTGYNYYYGLDVWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTS
ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFG
TQTYTCNVDPHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQ
DWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL
VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEC ID N°: 311)

- Las proteínas de unión a antígeno (por ejemplo, anticuerpos) descritas incluyen las que comprenden, por ejemplo, las combinaciones de dominios variables L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22 y L23H23 que tienen un isotipo deseado (por ejemplo, IgA, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgE e IgD), así como sus fragmentos Fab o F(ab')₂. Además, si se desea una IgG4, también puede desearse introducir una mutación puntual en la región bisagra como describen Bloom et al., 1997, en Protein Science 6:407, para atenuar la tendencia a formar enlaces disulfuro intracatenarios-H que pueden conducir a la heterogeneidad en los anticuerpos de IgG4.

Anticuerpos y fragmentos de anticuerpos

- En una realización las proteínas de unión a antígeno son anticuerpos. El término "anticuerpo" se refiere a un anticuerpo intacto, o a un fragmento de unión a antígeno del mismo, como se describe ampliamente en el apartado *Definiciones*. Un anticuerpo puede comprender una molécula completa de anticuerpo (incluyendo versiones policlonales, monoclonales y quiméricas, humanizadas o humanas que tienen cadenas ligeras y/o pesadas de longitud completa) o comprende un fragmento de unión a antígeno del mismo. Los fragmentos de anticuerpos incluyen fragmentos F(ab')₂, Fab, Fab' Fv, Fc y Fd y pueden incorporarse en anticuerpos de dominio sencillo, anticuerpos monocatenarios, maxicuerpos, minicuerpos, intracuerpos, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, v-NAR y bis-scFv (véase, por ejemplo, Hollinger y Hudson, 2005, Nature Biotechnology, 23, 9, 1126-1136). También se incluyen polipéptidos de anticuerpos, tales como los descritos en la Patente de Estados Unidos N° 6.703.199, incluyendo monocuerpos polipeptídicos de fibronectina. En la publicación de Patente de Estados Unidos 2005/0238646 se desvelan otros polipéptidos de anticuerpos, que son polipéptidos monocatenarios. En una realización, los anticuerpos de la presente invención comprenden al menos una CDR o CDR consenso expuesta en la Tabla 2 anterior.

- Los anticuerpos quiméricos y los anticuerpos humanizados se definen en el apartado *Definiciones* y pueden prepararse mediante técnicas conocidas. En una realización, un anticuerpo monoclonal humanizado comprende el dominio variable de un anticuerpo murino (o todo o parte del sitio de unión a antígeno del mismo) y un dominio constante derivado de un anticuerpo humano. Alternativamente, un fragmento de anticuerpo humanizado puede comprender el sitio de unión a antígeno de un anticuerpo monoclonal murino y un fragmento de dominio variable (que carece del sitio de unión a antígeno) derivado de un anticuerpo humano. Los procedimientos para la producción de anticuerpos monoclonales modificados por ingeniería genética incluyen los descritos en Riechmann et al., 1988, Nature 332:323, Liu et al., 1987, Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 84: 3439, Larrick et al., 1989, Bio/Technology 7: 934, y Winter et al., 1993, TIPS 14:139. En una realización, el anticuerpo quimérico es un anticuerpo con injerto de CDR. Se describen técnicas para la humanización de anticuerpos, por ejemplo, en las Patentes de Estados Unidos Nos 5.869.619; 5.225.539; 5.821.337; 5.859.205; 6.881.557, Padlan et al, 1995, FASEB J. 9: 133-39, Tamura et al, 2000, J. Immunol. 164:1432-41, Zhang, W., et al., Molecular Immunology 42(12): 1445-1451, 2005; Hwang W. et al., Methods. 36 (1):35-42, 2005; Dall'Acqua WF, et al., Methods 36 (1):43-60, 2005, y Clark, M., Immunology Today. 21 (8):397-402, 2000.

- Un anticuerpo de la presente invención también puede ser un anticuerpo monoclonal completamente humano. Los anticuerpos monoclonales completamente humanos pueden generarse mediante diversas técnicas con las que estarán familiarizados los expertos habituales en la materia. Dichos métodos incluyen, pero sin limitación, transformación de células sanguíneas periféricas humanas (por ejemplo, que contienen linfocitos B) con el virus de Epstein Barr (VEB), inmunización *in vitro* de células B humanas, fusión de esplenocitos de ratones transgénicos inmunizados portadores de genes insertados de inmunoglobulina humana, aislamiento de fagotecas de la región V de inmunoglobulina humana, u otros procedimientos conocidos en la técnica y basados en la descripción del presente documento.

Se han desarrollado procedimientos para generar anticuerpos monoclonales humanos en animales no humanos. Por ejemplo, se han generado ratones en los que se han inactivado uno o más genes endógenos de inmunoglobulina por diversos medios. Para reemplazar los genes de ratón inactivados se han introducido genes de inmunoglobulina

humana en los ratones. En esta técnica, se introducen elementos de los locus de cadena pesada y ligera humana en cepas de ratones derivadas de líneas de células madre embrionarias que contienen alteraciones diana de los locus endógenos de cadena pesada y cadena ligera (véase también Bruggemann et al., Curr. Opin. Biotechnol. 8: 455-58 (1997)). Por ejemplo, transgenes de inmunoglobulina humana pueden ser construcciones mini-genéticas, o translocus en cromosomas artificiales de levaduras, que se someten a reordenación e hipermutación de ADN específico de células B en el tejido linfático de ratón.

Los anticuerpos producidos en el animal incorporan cadenas polipeptídicas de inmunoglobulina humana codificadas por el material genético humano introducido en el animal. En una realización, un animal no humano, tal como un ratón transgénico, se inmuniza con un inmunógeno GCGR adecuado. Un ejemplo de un inmunógeno GCGR adecuado son fracciones de membrana celular ricas en receptores, tal como se describe en los Ejemplos más adelante. Otro ejemplo es el dominio extracelular de la SEC ID N°: 2.

Se describen ejemplos de técnicas para la producción y uso de animales transgénicos para la producción de anticuerpos humanos o parcialmente humanos en las Patentes de Estados Unidos 5.814.318, 5.569.825 y 5.545.806, David et al., Production of human antibodies from transgenic mice en Lo, ed. Antibody Engineering: Methods and protocols, Human Press, NJ: 191-200 (2003), Kellermann et al, 2002, Curr Opin Biotechnol. 13:593-97, Russel et al., 2000, Infect Immun. 68:1820-26, Gallo et al., 2000, Eur. J. Immun.30:534-40, Davis et al., 1999, Cancer Metastasis Rev. 18:421-25, Geen, 1999, J Immunol Methods. 231: 11-23, Jakobovits, 1998, Advanced Drug Delivery Reviews 31:33-42, Green et al, 1998, J Exp Med. 188:483-95, Jakobovits A, 1998, Exp. Opin. Invest. Drugs. 7:607-14, Tsuda et al., 1997, Genomics. 42:413-21, Méndez et al., 1997, Nat. Genet. 15:146-56, Jakobovits, 1994, Curr Biol. 4:761-63, Arbones et al., 1994, Immunity. 1: 247-60, Green et al., 1994, Nat. Genet. 7:13-21, Jakobovits et al., 1993, Nature. 362:255-58, Jakobovits et al., 1993, Proc Natl Acad Sci U.S.A. 90:2551-55. Chen, J., M. Trounstein, F.W. Alt, F. Young, C. Kurahara, J. Loring, D. Huszar. "Immunoglobulin gene rearrangement in B-cell deficient mice generated by targeted deletion of the JH locus". International Immunology 5 (1993): 647-656, Choi et al., 1993, Nature Genetics 4:117-23, Fishwild et al, 1996, Nature Biotechnology 14: 845-51, Harding et al, 1995, Annals of the New York Academy of Sciences, Lonberg et al., 1994, Nature 368:856-59, Lonberg, 1994, Transgenic Approaches to Human Monoclonal Antibodies in Handbook of Experimental Pharmacology 113: 49-101, Lonberg et al, 1995, Internal Review of Immunology 13: 65-93, Neuberger, 1996, Nature Biotechnology 14: 826, Taylor et al, 1992, Nucleic Acids Research 20: 6287-95, Taylor et al, 1994, International Immunology 6: 579-91, Tomizuka et al, 1997, Nature Genetics 16: 133-43, Tomizuka et al, 2000, Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 97: 722-27, Tuailon et al, 1993, Proceedings of the National Academy of Sciences USA 90: 3720-24, y Tuailon et al, 1994, Journal of Immunology 152: 2912-20; Lonberg et al., Nature 368:856, 1994; Taylor et al, Int. Immun. 6:579, 1994; Patente de Estados Unidos N° 5.877.397; Bruggemann et al, 1997, Curr. Opin. Biotechnol. 8:455-58; Jakobovits et al, 1995 Ann. N.Y. Acad. Sci. 764:525-35. Además, se describen protocolos en los que participa el ratón XenoMouse® (Abgenix, ahora Amgen, Inc.), por ejemplo, en los documentos US 05/0118643, WO 05/694879, WO 98/24838, WO 00/76310, y en la patente de Estados Unidos 7.064.244.

Las células linfoides de los ratones transgénicos inmunizados se fusionan con células de mieloma, por ejemplo, para producir hibridomas. Preferentemente, para su uso en procedimientos de fusión productores de hibridomas, las células de mieloma no producen anticuerpos, tienen alta eficiencia de fusión y deficiencias enzimáticas que hacen que no sean capaces de crecer en determinados medios selectivos que solo mantienen el crecimiento de las células fusionadas deseadas (hibridomas). Como ejemplos de líneas celulares adecuadas para su uso en dichas fusiones se incluyen Sp-20, P3-X63/Ag8, P3-X63-Ag8.653, NSI/1.Ag 4 1, Sp210-Ag14, FO, NSO/U, MPC-11, MPC-L 1-X45-GTG 1.7 y S194/5XX0 Bul; como ejemplos de líneas celulares usadas en fusiones de rata se incluyen R210.RCY3, Y3-Ag 1.2.3, IR983F y 4B210. Otras líneas celulares útiles para fusiones celulares son U-266, GM1500-GRG2, LICR-LON-HMy2 y UC729-6.

Pueden combinarse células linfoides (por ejemplo, esplenocitos) y células de mieloma durante algunos minutos con un agente promotor de fusión de membranas, tal como polietilenglicol o un detergente no iónico, y después sembrarse en placa a baja densidad en un medio selectivo que mantenga el crecimiento de las células de hibridoma pero no el de las células de mieloma no fusionadas. Un medio de selección es HAT (hipoxantina, aminopterina, timidina). Después de un tiempo suficiente, normalmente alrededor de una a dos semanas, se observan colonias de células. Las colonias individuales se aíslan y los anticuerpos producidos por las células pueden someterse a ensayo con respecto a la actividad de unión al GCGR humano usando cualquiera de los diversos inmunoensayos conocidos en la técnica y descritos en el presente documento. Los hibridomas se clonan (por ejemplo, por clonación en dilución limitada o por aislamiento en placas con agar suave) y los clones positivos que producen un anticuerpo específico contra el GCGR humano se seleccionan y se cultivan. Los anticuerpos monoclonales procedentes de los cultivos de hibridoma pueden aislarse de los sobrenadantes de los cultivos de hibridoma.

Otro método para generar los anticuerpos humanos de la invención incluye la immortalización de células de sangre periférica humana por transformación con el VEB. Véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos N° 4.464.456. Dicha línea de células B immortalizada (o línea celular linfoblástico) que produce un anticuerpo monoclonal que se une específicamente al GCGR humano puede identificarse por métodos de inmunodetección como los proporcionados en el presente documento, por ejemplo, un ELISA, y después puede aislarse mediante

técnicas de clonación convencionales. La estabilidad de la línea celular linfoblastoide que produce un anticuerpo anti-GCGR puede mejorarse fusionando la línea celular transformada con un mieloma murino para producir una línea celular híbrida de ser humano-ratón de acuerdo con métodos conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Glasky et al., *Hybridoma* 8:377-89 (1989)). Aun otro método para generar anticuerpos monoclonales humanos es la

5 inmunización *in vitro*, que incluye el cebado de células B esplénicas humanas con GCGR humano, seguido de fusión de células B cebadas con un compañero de fusión heterohíbrido. Véase, por ejemplo, Boerner et al., 1991, *J. Immunol.* 147:86-95.

En determinadas realizaciones, se selecciona una célula B que es productora de un anticuerpo anti-GCGR humano

10 y las regiones variables de cadena ligera y cadena pesada se clonan a partir de la célula B de acuerdo con técnicas de biología molecular conocidas en la materia (documento WO 92/02551; patente de Estados Unidos 5.627.052; Babcook et al, *Proc Natl Acad Sci USA* 93:7843-48 (1996)) y descritas en el presente documento. Las células B de un animal inmunizado pueden aislarse de muestras de bazo, ganglios linfáticos o de sangre periférica seleccionando una célula que sea productora de un anticuerpo que se una específicamente al GCGR. Las células B también

15 pueden aislarse de seres humanos, por ejemplo, de una muestra de sangre periférica. En la técnica se conocen bien métodos para detectar células B individuales que sean productoras de un anticuerpo con la especificidad deseada, por ejemplo, formación de placas, separación de células activadas por fluorescencia, estimulación *in vitro* seguido de detección de anticuerpos específicos y similares. Como métodos para la selección de células B productoras de anticuerpos específicos se incluyen, por ejemplo, preparar una suspensión celular individual de células B en agar

20 suave que contenga GCGR humano. La unión al antígeno, del anticuerpo específico producido por la célula B, da lugar a la formación de un complejo, que puede observarse como un inmunoprecipitado. Después de seleccionar las células B productoras del anticuerpo deseado, los genes de los anticuerpos específicos pueden clonarse aislando y amplificando ADN o ARNm de acuerdo con métodos conocidos en la técnica y descritos en el presente documento.

25 Un método adicional para obtener los anticuerpos de la invención es por presentación de fagos. Véanse, por ejemplo, Winter et al., 1994 *Annu. Rev. Immunol.* 12:433-55; Burton et al, 1994 *Adv. Immunol.* 57:191-280. Pueden crearse genotecas combinatorias de la región variable de inmunoglobulina humana o murina en vectores de fagos que pueden explorarse para seleccionar fragmentos (Fab, Fv o sFv o multímeros de los mismos) de Ig que se unen específicamente a la proteína de unión TGF-beta o a una variante o a un fragmento de la misma. Véase, por

30 ejemplo, la patente de Estados Unidos N° 5.223.409; Huse et al, 1989 *Science* 246:1275-1281; Sasrry et al, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 86:5728-32 (1989); Altling-Mees et al, *Strategies in Molecular Biology* 3:1-9 (1990); Kang et al, 1991, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 88:4363-66; Hoogenboom et al, 1992 *J. Molec. Biol.* 227:381-388; Schlebusch et al, 1997 *Hybridoma* 16:47-52 y referencias citadas en los mismos. Por ejemplo, en el genoma de un bacteriófago filamentoso, tal como M13 o una variante del mismo, puede insertarse una biblioteca que contenga una

35 pluralidad de secuencias de polinucleótidos que codifiquen fragmentos de la región variable de Ig, en fase con la secuencia que codifica una proteína de cubierta de fago. Una proteína de fusión puede ser una fusión de la proteína de cubierta con el dominio de la región variable de cadena ligera y/o con el dominio de la región variable de cadena pesada. De acuerdo con determinadas realizaciones, los fragmentos Fab de inmunoglobulina también pueden presentarse en una partícula de fago (véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos N° 5.698.426).

40 También pueden prepararse bibliotecas de expresión de ADNc de inmunoglobulina de cadena pesada y ligera en el fago lambda, usando, por ejemplo, los vectores λ ImmunoZap™ (H) y λ ImmunoZap™ (L) (Stratagene, La Jolla, California). Resumiendo, se aísla ARNm de una población de células B, y se usa para crear bibliotecas de expresión de ADNc de inmunoglobulina de cadena pesada y ligera en los vectores λ ImmunoZap™ (H) y λ ImmunoZap™ (L).

45 Estos vectores pueden explorarse individualmente o co-expresarse para formar fragmentos Fab o anticuerpos (véase Huse et al., citado anteriormente; véase también Sastry et al, citado anteriormente). Posteriormente, las placas positivas pueden convertirse en un plásmido no lítico que permite un alto nivel de expresión de fragmentos de anticuerpos monoclonales a partir de *E. coli*.

50 En una realización, las regiones variables de un gen que expresa un anticuerpo monoclonal de interés se amplifican en un hibridoma usando cebadores nucleotídicos. Un experto habitual en la materia puede sintetizar estos cebadores, o pueden adquirirse en fuentes comercialmente disponibles (Véase, por ejemplo, Stratagene (La Jolla, California), que comercializa cebadores para regiones variables de ratón y de ser humano incluyendo, entre otros, cebadores para las regiones V_{Ha}, V_{Hb}, V_{Hc}, V_{Hd}, C_{HI}, V_L y C_L). Estos cebadores pueden usarse para amplificar

55 regiones variables de cadena pesada o ligera, que después pueden insertarse en vectores tales como ImmunoZAP™ H o ImmunoZAP™ L (Stratagene), respectivamente. Después, para la expresión, estos vectores pueden introducirse en sistemas basados en *E. coli*, levaduras o mamíferos. Usando estos métodos pueden producirse grandes cantidades de una proteína monocatenaria que contenga una fusión de los dominios V_H y V_L (véase Bird et al., *Science* 242:423-426, 1988).

60 Una vez que se han obtenido las células productoras de anticuerpos de acuerdo con la invención, usando cualquiera de las técnicas de inmunización descritas anteriormente y otras técnicas, los genes de anticuerpos específicos pueden clonarse aislando y amplificando ADN o ARNm de los mismos de acuerdo con procedimientos convencionales como se describe en el presente documento. Los anticuerpos producidos a partir de estos pueden

65 secuenciarse y las CDR pueden identificarse y el ADN que codifica las CDR puede tratarse como se ha descrito

anteriormente para generar otros anticuerpos de acuerdo con la invención.

Las proteínas de unión a antígeno de la presente invención modulan preferentemente la señalización de glucagón en el ensayo basado en células descrito en el presente documento y/o en el ensayo *in vivo* descrito en el presente documento y/o bloqueo cruzado de la unión de uno de los anticuerpos descritos en esta solicitud y/o bloqueo en cruzado de la unión de GCGR mediante uno de los anticuerpos descritos en esta solicitud. Por consiguiente dichos agentes de unión pueden identificarse usando los ensayos descritos en el presente documento.

En determinadas realizaciones, los anticuerpos se generan identificando en primer lugar anticuerpos que se unen a células que sobreexpresan los GCGR y/o se neutralizan en los ensayos *in vivo* y/o basados en células descritos en el presente documento y/o bloquean en cruzado los anticuerpos descritos en esta solicitud y/o se bloquean en cruzado a partir de la unión de los GCGR mediante uno de los anticuerpos descritos en esta solicitud.

Un experto en la materia entenderá que, algunas proteínas, tales como anticuerpos, pueden sufrir diversas modificaciones postraduccionales. El tipo y grado de estas modificaciones a menudo depende de la línea celular hospedadora utilizada para expresar la proteína, así como de las condiciones de cultivo. Dichas modificaciones pueden incluir variaciones en la glucosilación, oxidación de metionina, formación de dicetopiperazina, isomerización de aspartato y/o desamidación de asparagina. Una modificación frecuente es la pérdida de un resto básico carboxi-terminal (tal como lisina o arginina) debido a la acción de carboxipeptidasas (como se describe en Harris, R.J. Journal of Chromatography 705:129-134, 1995).

Un método alternativo para la producción de un anticuerpo monoclonal murino es inyectar las células de hibridoma en la cavidad peritoneal de un ratón singénico, por ejemplo, un ratón que se ha tratado (por ejemplo, sensibilizado con pristano) para promover la formación de líquido ascítico que contiene el anticuerpo monoclonal. Los anticuerpos monoclonales pueden aislarse y purificarse mediante diversas técnicas bien establecidas. Dichas técnicas de aislamiento incluyen cromatografía de afinidad con Proteína A Sepharose, cromatografía de exclusión por tamaño y cromatografía de intercambio iónico (véase, por ejemplo, Coligan en las páginas 2.7.1-2.7.12 y páginas 2.9.1-2.9.3; Baines et al., "Purification of Immunoglobulin G (IgG)", en Methods in Molecular Biology, vol. 10, páginas 79-104 (The Humana Press, Inc. 1992)). Los anticuerpos monoclonales pueden 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.). Como ejemplos de un ligando adecuado, inmovilizado sobre un soporte sólido, se incluyen Proteína A, proteína G, un anticuerpo anti-región constante (cadena ligera o cadena pesada), un anticuerpo anti-idiotipo, y una proteína de unión TGF-beta, o un fragmento o una variante de los mismos.

La evolución molecular de las regiones determinantes de la complementariedad (CDR) en el centro del sitio de unión del anticuerpo también se ha usado para aislar anticuerpos con afinidad aumentada, por ejemplo, anticuerpos que tienen afinidad aumentada por c-erbB-2, como describen Schier et al., 1996, J. Mol. Biol. 263:551. Por consiguiente, dichas técnicas son útiles en la preparación de anticuerpos contra el receptor de glucagón humano.

Las proteínas de unión a antígeno dirigidas contra el receptor de glucagón humano pueden usarse, por ejemplo, en ensayos para detectar la presencia del receptor de glucagón, *in vitro* o *in vivo*.

Aunque los anticuerpos humanos, parcialmente humanos, o humanizados serán adecuados en muchas aplicaciones, particularmente las que implican la administración del anticuerpo a un sujeto humano, otros tipos de proteínas de unión a antígeno serán adecuadas para determinadas aplicaciones. Los anticuerpos no humanos de la presente invención pueden derivar, por ejemplo, de cualquier de cualquier animal productor de anticuerpos, tal como ratón, rata, conejo, cabra, burro, o un primate no humano (por ejemplo, mono, tal como, mono cinomolgo o mono rhesus) o un simio (por ejemplo, chimpancé). Los anticuerpos no humanos de la invención pueden usarse, por ejemplo, en aplicaciones *in vitro* y en aplicaciones basadas en cultivos celulares, o en cualquier otra aplicación en la que no se produzca una respuesta inmunitaria contra el anticuerpo de la invención, que no sea significativa, que pueda prevenirse, que no sea un problema, o que se dese. El Ejemplo 2, más adelante, describe la generación de un anticuerpo de ratón. En una realización, un anticuerpo no humano de la invención se administra a un sujeto no humano. En otra realización, el anticuerpo no humano no provoca una respuesta inmunitaria en el sujeto no humano. En otra realización, el anticuerpo no humano es de la misma especie que la del sujeto no humano, por ejemplo, un anticuerpo de ratón de la invención se administra a un ratón. Un anticuerpo de una especie particular puede generarse, por ejemplo, inmunizando a un animal de esa especie con el inmunógeno deseado o usando el sistema artificial para generar anticuerpos de esa especie (por ejemplo, un sistema basado en bacterias o en presentación de fagos para la generación de anticuerpos de una especie particular), o convirtiendo un anticuerpo de una especie en un anticuerpo de otra especie reemplazando, por ejemplo, la región constante del anticuerpo con una región constante de la otra especie, o reemplazando uno o más restos de aminoácidos del anticuerpo de tal manera que se parezca más fielmente a la secuencia de un anticuerpo de la otra especie. En una realización, el anticuerpo es un anticuerpo quimérico que comprende secuencias de aminoácidos derivadas de anticuerpos de dos o más especies diferentes.

También pueden prepararse anticuerpos mediante cualquiera de las diversas técnicas convencionales. Por ejemplo, pueden purificarse de células que los expresan de forma natural (por ejemplo, un anticuerpo puede purificarse de un hibridoma que lo produzca), o pueden producirse en sistemas de expresión recombinante, usando cualquier técnica conocida en la materia. Véase, por ejemplo, *Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological* Analices, Kennet et al. (Eds.), Plenum Press, Nueva York (1980), y *Antibodies: A Laboratory Manual*, Harlow y Land (eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, (1988). Esto se comenta más adelante en el apartado *Ácidos Nucleicos*.

Mediante cualquiera de las diversas técnicas conocidas pueden prepararse proteínas de unión a antígeno, y explorarse con respecto a propiedades deseadas. Algunas de las técnicas implican el aislamiento de un ácido nucleico que codifica una cadena polipeptídica (o parte de la misma) de una proteína de unión a antígeno de interés (por ejemplo, un anticuerpo anti-receptor de glucagón) y el tratamiento del ácido nucleico a través de tecnología de ADN recombinante. El ácido nucleico puede fusionarse con otro ácido nucleico de interés, o modificarse (por ejemplo, por mutagénesis u otras técnicas convencionales) para añadir, delecionar o sustituir uno o más restos de aminoácidos, por ejemplo.

Cuando se desea mejorar la afinidad de los anticuerpos de acuerdo con la invención que contienen una o más de las CDR mencionadas anteriormente, puede obtenerse mediante diversos los protocolos de maduración por afinidad incluyendo el mantenimiento de las CDR (Yang et al., *J. Mol. Biol.*, 254, 392-403, 1995) redistribución de cadenas (Marks et al., *Bio/Technology*, 10, 779-783, 1992), uso de cepas de mutación de *E. coli*. (Low et al., *J. Mol. Biol.*, 250, 350-368, 1996), redistribución de ADN (Patten et al., *Curr. Opin. Biotechnol*, 8, 724-733, 1997), presentación de fagos (Thompson et al., *J. Mol. Biol.*, 256, 7-88, 1996) y técnicas de PCR adicionales (Cramer, et al., *Nature*, 391, 288-291, 1998). Vaughan et al. (*Nature Biotechnology*, 16, 535-539, 1998) analizan todos estos métodos de maduración por afinidad.

Fragmentos de anticuerpos

En otro aspecto, la presente invención proporciona fragmentos de un anticuerpo anti-receptor de glucagón de la invención. Dichos fragmentos pueden consistir completamente en secuencias derivadas de anticuerpos o pueden comprender secuencias adicionales. Como ejemplos de fragmentos de unión a antígeno se incluyen los fragmentos Fab, F(ab')₂, anticuerpos monocatenarios, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos y anticuerpos de dominio. En Lunde et al., 2002, *Biochem. Soc. Trans.* 30:500-06 se proporcionan otros ejemplos.

Pueden formarse anticuerpos monocatenarios por ligamiento de fragmentos (región Fv) de dominio variable de cadena pesada y ligera mediante un puente de aminoácidos (conector peptídico corto), dando como resultando una cadena polipeptídica sencilla. Dichos Fv monocatenarios (scFv, *single chain Fv*) se han preparado fusionando ADN que codifica un conector peptídico entre los ADN que codifican los dos polipéptidos de dominio variable (V_L y V_H). Los polipéptidos resultantes pueden volver a plegarse sobre ellos mismos para formar monómeros de unión a antígeno, o pueden formar multímeros (por ejemplo, dímeros, trímeros o tetrámeros), dependiendo de la longitud del conector flexible entre los dos dominios variables (Kortt et al., 1997, *Prot. Eng.* 10:423; Kortt et al, 2001, *Biomol Eng* 18:95-108). Combinando diferentes polipéptidos que comprendan V_L y V_H, pueden formarse los scFv multiméricos que se unen a diferentes epítomos (Kriangkum et al, 2001, *Biomol Eng* 18:31-40). Como técnicas desarrolladas para la producción de anticuerpos monocatenarios se incluyen las descritas en la Patente de Estados Unidos N° 4.946.778; Bird, 1988, *Science* 242:423; Huston et al, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 85:5879, Ward et al, 1989, *Nature* 334:544, de Graaf et al, 2002, *Methods Mol Biol.* 178:379-87. Los anticuerpos monocatenarios derivados de anticuerpos proporcionados en el presente documento incluyen, pero sin limitación, los scFv que comprenden las combinaciones de dominio variable L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22, y L23H23.

También pueden obtenerse fragmentos de unión a antígeno derivados de un anticuerpo, por ejemplo, por hidrólisis proteolítica del anticuerpo, por ejemplo, digestión con pepsina o papaína de anticuerpos completos de acuerdo con métodos convencionales. Como ejemplo, pueden producirse fragmentos de anticuerpos por escisión enzimática de los anticuerpos con pepsina para proporcionar un fragmento 5S denominado F(ab')₂. Este fragmento puede escindirse adicionalmente usando un agente reductor tiol para producir fragmentos 3.5S Fab' monovalentes. Opcionalmente, la reacción de escisión puede realizarse usando un grupo bloqueante para los grupos sulfhidrilo que resultan de la escisión de enlaces disulfuro. Como una alternativa, una escisión enzimática usando papaína produce directamente dos fragmentos Fab monovalentes y un fragmento Fc. Estos métodos los describe, por ejemplo, Goldenberg, Patente de Estados Unidos N° 4.331.647, Nisonoff et al., *Arch. Biochem. Biophys.* 89:230, 1960; Porter, *Biochem. J.* 73:119, 1959; Edelman et al, en *Methods in Enzymology* 1: 422 (Academic Press 1967) y por Andrews, S.M. y Titus, J.A. en *Current Protocols in Immunology*, (Coligan J.E., et al, eds) John Wiley & Sons, Nueva York (2003), páginas 2.8.1-2.8.10 y 2.10A.1-2.10A.5. También pueden usarse otros métodos para la escisión de anticuerpos, tales como separación de cadenas pesadas para formar fragmentos de cadena pesada-ligera monovalentes (Fd), escisión de fragmentos adicionales, u otras técnicas enzimáticas, químicas o genéticas, siempre que los fragmentos se unan al antígeno que reconoce el anticuerpo intacto.

Otra forma de un fragmento de anticuerpo es un péptido que comprende una o más regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de un anticuerpo. Las CDR pueden obtenerse construyendo polinucleótidos que codifican la CDR de interés. Dichos polinucleótidos se preparan, por ejemplo, usando la reacción en cadena de la polimerasa para sintetizar la región variable usando, como molde, ARNm de células productoras de anticuerpos (véase, por ejemplo, Larrick et al., *Methods: A Companion to Methods in Enzymology* 2:106, 1991; Courtenay-Luck, "Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies," in *Monoclonal Antibodies: Production, Engineering and Clinical Application*, Ritter et al. (eds.), pág. 166 (Cambridge University Press 1995); y Ward et al., "Genetic Manipulation and Expression of Antibodies," in *Monoclonal Antibodies: Principles and Applications*, Birch et al. (eds.), pág. 137 (Wiley-Liss, Inc. 1995)). Adicionalmente, el fragmento de anticuerpo puede comprender al menos un dominio de región variable de un anticuerpo descrito en el presente documento. Por tanto, por ejemplo, el dominio de la región V puede ser monomérico y ser un dominio V_H o V_L , que es capaz de unirse independientemente al receptor de glucagón humano con una afinidad al menos igual a 1×10^{-7} M o menor como se describe más adelante.

El dominio de región variable puede ser cualquier dominio variable de origen natural o una versión del mismo modificada por ingeniería genética. Por versión modificada por ingeniería genética se entiende un dominio de región variable que se ha creado usando técnicas de modificación por ingeniería genética de ADN recombinante. Dichas versiones modificadas por ingeniería genética incluyen las creadas, por ejemplo, a partir de una región variable de anticuerpo específica por inserciones, deleciones o cambios en o para las secuencias de aminoácidos del anticuerpo específico. Como ejemplos particulares se incluyen dominios de región variable modificados por ingeniería genética que contienen al menos una CDR y opcionalmente uno o más aminoácidos armazón de un primer anticuerpo y el restante dominio de región variable de un segundo anticuerpo.

El dominio de región variable puede unirse por enlace covalente en un aminoácido C-terminal con al menos otro dominio de anticuerpo o un fragmento del mismo. Por tanto, por ejemplo, un dominio V_H que está presente en el dominio de región variable puede unirse a un dominio $CH1$ de inmunoglobulina, o a un fragmento del mismo. De manera similar un dominio V_L puede unirse a un dominio C_K o a un fragmento del mismo. De esta manera, por ejemplo, el anticuerpo puede ser un fragmento Fab en el cual el dominio de unión a antígeno contiene dominios V_H y V_L asociados, unidos por enlace covalente, en su extremo C a un dominio $CH1$ y C_K , respectivamente. El dominio $CH1$ puede extenderse con aminoácidos adicionales, por ejemplo, para proporcionar una región bisagra o una parte de un dominio de región bisagra como se encuentra en un fragmento Fab', o para proporcionar dominios adicionales, tales como dominios $CH2$ y $CH3$ de anticuerpo.

Derivados y variantes de proteínas de unión a antígeno

Las secuencias de nucleótidos de L1-L23 y H1-H23, que codifican las secuencias de aminoácidos correspondientes de A1-A23, pueden modificarse, por ejemplo, por mutagénesis al azar o por mutagénesis dirigida a sitio (por ejemplo, mutagénesis específica de sitio dirigida por oligonucleótidos) para crear un polinucleótido modificado que comprenda una o más sustituciones, deleciones o inserciones de nucleótidos particulares en comparación con el polinucleótido no mutado. En Walder et al, 1986, *Gene* 42:133; Bauer et al. 1985, *Gene* 37:73; Craik, *BioTechniques*, enero de 1985, 12-19; Smith et al, 1981, *Genetic Engineering: Principles and Methods*, Plenum Press, y en las patentes de Estados Unidos Nos 4.518.584 y 4.737.462 se describen ejemplos de técnicas para realizar dichas modificaciones. Estos métodos, y otros, pueden usarse para preparar, por ejemplo, derivados de anticuerpos anti-receptores de glucagón que tengan una propiedad deseada, por ejemplo, afinidad, avidez, o especificidad aumentadas por el receptor de glucagón, actividad o estabilidad aumentadas *in vivo* o *in vitro* o efectos secundarios *in vivo* reducidos en comparación con el anticuerpo no derivatizado.

Otros derivados de anticuerpos anti-receptor de glucagón dentro del ámbito de la presente invención incluyen conjugados covalentes o agregados de anticuerpos anti-receptor de glucagón, o fragmentos de los mismos, con otras proteínas o polipéptidos, tales como por expresión de proteínas de fusión recombinantes que comprenden polipéptidos heterólogos fusionados con los extremos N o C de un polipéptido de anticuerpo anti-receptor de glucagón. Por ejemplo, el péptido conjugado puede ser un polipéptido señal (o líder) heterólogo, por ejemplo, el líder del factor alfa de levaduras, o un péptido tal como una etiqueta epitópica. Las proteínas de fusión que contienen proteínas de unión a antígeno pueden comprender péptidos añadidos para facilitar la purificación o identificación de la proteína de unión a antígeno (por ejemplo, poli-His). Una proteína de unión a antígeno también puede estar ligada al péptido FLAG, como se describe en Hopp et al., *Bio/Technology* 6:1204, 1988, y en la patente de Estados Unidos 5.011.912. El péptido FLAG es muy antigénico y proporciona un epítipo unido reversiblemente por un anticuerpo monoclonal específico (mAb), que permite realizar ensayos rápidos y facilitar la purificación de la proteína recombinante expresada. Los reactivos útiles para preparar las proteínas de fusión en las que el péptido FLAG se fusiona con un péptido determinado se encuentran disponibles en el comercio (Sigma, St. Louis, MO). En otra realización, como antagonistas del receptor de glucagón pueden emplearse oligómeros que contienen una o más proteínas de unión a antígeno. Los oligómeros pueden estar en forma de dímeros, trímeros u oligómeros superiores unidos por enlace covalente o no covalente. Los oligómeros que comprenden dos o más proteínas de unión a antígeno se contemplan para su uso, siendo un ejemplo un homodímero. Otros oligómeros incluyen heterodímeros, homotrímeros, heterotrímeros, homotetrámeros, heterotetrámeros, etc.

Una realización se refiere a oligómeros que comprenden proteínas de unión a antígeno múltiples unidas mediante interacciones covalentes o no covalentes entre restos peptídicos fusionados con las proteínas de unión a antígeno. Dichos péptidos pueden ser conectores (espaciadores) peptídicos, o péptidos que tienen la propiedad de promover la oligomerización. Las cremalleras de leucina y determinados polipéptidos derivados de anticuerpos se encuentran entre los péptidos que pueden promover la oligomerización de las proteínas de unión a antígeno en relación con esto, como se describe más adelante con más detalle.

En realizaciones particulares, los oligómeros comprenden de dos a cuatro proteínas de unión a antígeno. Las proteínas de unión a antígeno del oligómero pueden tener cualquier forma, tal como cualquiera de las formas descritas anteriormente, por ejemplo, variantes o fragmentos. Preferentemente, los oligómeros comprenden proteínas de unión a antígeno que tienen actividad de unión al receptor de glucagón.

En una realización, se prepara un oligómero usando polipéptidos derivados de inmunoglobulinas. Por ejemplo, en Ashkenazi et al, 1991, PNAS USA 88:10535; Byrn et al, 1990, Nature 344:677; y en Hollenbaugh et al, 1992 "Construction of Immunoglobulin Fusion Proteins", en Current Protocols in Immunology, Suppl. 4, páginas 10.19.1 - 19.10.11 se ha descrito la preparación de proteínas de fusión que comprenden determinados polipéptidos heterólogos fusionados con diversas partes de polipéptidos derivados de anticuerpos (incluyendo el dominio Fc). Una realización de la presente invención se refiere a un dímero que comprende dos proteínas de fusión creadas fusionando un fragmento de unión al receptor de glucagón de un anticuerpo anti-receptor de glucagón con la región Fc de un anticuerpo. El dímero puede prepararse, por ejemplo, insertando, en un vector de expresión apropiado, una fusión génica que codifica la proteína de fusión, expresando la fusión génica en células hospedadoras transformadas con el vector de expresión recombinante y dejando que la proteína de fusión expresada se ensamble al igual que moléculas de anticuerpo, después de lo cual se forman enlaces disulfuro intercatenarios entre los restos Fc para producir el dímero.

La expresión "polipéptido Fc", como se usa en el presente documento, incluye formas nativas y muteínas de polipéptidos derivados de la región Fc de un anticuerpo. También se incluyen formas truncadas de dichos polipéptidos que contienen la región bisagra que promueve la dimerización. Las proteínas de fusión que comprenden restos Fc (y oligómeros formados a partir de los mismos) ofrecen la ventaja de purificación fácil por cromatografía de afinidad sobre columnas de Proteína A o Proteína G.

Un polipéptido Fc adecuado, descrito en la solicitud PCT WO 93/10151, es un polipéptido monocatenario que se extiende desde la región bisagra N-terminal hasta el extremo C nativo de la región Fc de un anticuerpo de IgG1 humano. Otro polipéptido Fc útil es la muteína de Fc descrita en la Patente de Estados Unidos 5.457.035 y en Baum et al., 1994, EMBO J. 13:3992-4001. La secuencia de aminoácidos de esta muteína es idéntica a la de la secuencia de Fc nativa presentada en el documento WO 93/10151, con la excepción de que el aminoácido 19 se ha reemplazado de Leu a Ala, el aminoácido 20 se ha reemplazado de Leu a Glu y el aminoácido 22 se ha reemplazado de Gly a Ala. La muteína presenta afinidad reducida por receptores de Fc. En otras realizaciones, la parte variable de las cadenas pesada y/o ligera de un anticuerpo anti-receptor de glucagón puede sustituirse por la parte variable de una cadena pesada y/o ligera de un anticuerpo

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

Otro método para la preparación de proteínas de unión a antígeno oligoméricas implica el uso de una cremallera de leucina. Los dominios de cremallera de leucina son péptidos que promueven la oligomerización de las proteínas en las que se encuentran. Las cremalleras de leucina se identificaron originalmente en diversas proteínas de unión a ADN (Landschulz et al., 1988, Science 240:1759), y desde entonces se han encontrado en diversas proteínas diferentes. Entre las cremalleras de leucina conocidas se encuentran los péptidos de origen natural y derivados de los mismos que forman dímeros o trímeros. Se describen ejemplos de dominios de cremallera de leucina adecuados para la producción de proteínas oligoméricas solubles en la solicitud PCT WO 94/10308, y la cremallera de leucina derivada de la proteína D tensioactiva pulmonar (SPD) descrita en Hoppe et al, 1994, FEBS Letters 344: 191. El uso de una cremallera de leucina modificada que permite la trimerización estable de una proteína heteróloga fusionada con la misma se describe en Fanslow et al., 1994, Semin. Immunol. 6: 267-78. En una estrategia, proteínas de fusión recombinantes que comprenden un fragmento de anticuerpo anti-receptor de glucagón o un derivado fusionado con un péptido de cremallera de leucina se expresan en células hospedadoras adecuadas, y los fragmentos o derivados de anticuerpo anti-receptor de glucagón oligoméricos solubles se recuperan del sobrenadante del cultivo.

En otra realización, los derivados de anticuerpo pueden comprender al menos una de las CDR descritas en el presente documento. Por ejemplo, en regiones marco conservadas de anticuerpos conocidos (IgG1, IgG2, etc.) puede incorporarse una o más CDR, o conjugarse con un vehículo adecuado para potenciar su semivida. Los vehículos adecuados incluyen, aunque sin limitarse a Fc, albúmina, transferrina y similar. En la técnica se conocen estos y otros vehículos adecuados. Dichos péptidos conjugados con CDR pueden estar en forma monomérica, dimérica, tetramérica u otra forma. En una realización, uno o más polímeros solubles en agua están unidos a una o

más posiciones específicas, por ejemplo, en el extremo amino, de un agente aglutinante. En un ejemplo, un derivado de anticuerpo comprende una o más uniones de polímeros solubles en agua, incluyendo, aunque sin limitación, polietilenglicol, polioxietilenglicol o propilenglicol. Véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos Nos: 4.640.835, 4.496.689, 4.301.144, 4.670.417, 4.791.192 y 4.179.337. En determinadas realizaciones, un derivado
5 comprende uno o más de monometoxi-polietilenglicol, dextrano, glucosa u otros polímeros basados en carbohidratos, poli-(N-vinilpirrolidona)-polietilenglicol, homopolímeros de propilenglicol, un copolímero de óxido de polipropileno/óxido de etileno, polioles polioxietilados (por ejemplo, glicerol) y alcohol polivinílico, así como mezclas de dichos polímeros. En determinadas realizaciones, uno o más polímeros solubles en agua están unidos al azar a una o más cadenas laterales. En determinadas realizaciones, el PEG puede actuar para mejorar la capacidad
10 terapéutica de un agente aglutinante, tal como un anticuerpo. Algunos de estos métodos se comentan, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos N° 6.133.426.

Se apreciará que un anticuerpo de la presente invención puede tener al menos una sustitución de aminoácido, siempre que el anticuerpo conserve especificidad de unión. Por lo tanto, las modificaciones de las estructuras de los
15 anticuerpos se incluyen dentro del ámbito de la invención. Estas pueden incluir sustituciones de aminoácidos, que pueden ser conservativas o no conservativas, que no destruyan la capacidad de unión de un anticuerpo al receptor de glucagón humano. Las sustituciones de aminoácidos conservativas pueden incluir restos de aminoácidos de origen no natural, que típicamente se incorporan por síntesis química peptídica en lugar de por síntesis en sistemas biológicos. Estas incluyen peptidomiméticos y otras formas inversas o invertidas de restos de aminoácidos. Una
20 sustitución de aminoácido conservativa también puede implicar una sustitución de un resto de aminoácido nativo con un resto normativo, de tal manera que en esa posición hay escaso o ningún efecto sobre la polaridad o carga del resto de aminoácido. Las sustituciones no conservativas pueden implicar el intercambio de un miembro de una clase de aminoácido o mimético de aminoácido por un miembro de otra clase con propiedades físicas diferentes (por ejemplo, tamaño, polaridad, hidrofobicidad, carga). Dichos restos sustituidos pueden introducirse en regiones del
25 anticuerpo humano que son homólogas a las de anticuerpos no humanos, o en las regiones no homólogas de la molécula.

Por otra parte, un experto en la materia puede generar variantes de ensayo que contengan una sola sustitución de aminoácido en cada resto de aminoácido deseado. Después, las variantes pueden explorarse usando ensayos de
30 actividad conocidos por los expertos en la materia. Dichas variantes podrían usarse para recopilar información sobre variantes adecuadas. Por ejemplo, si se descubre que un cambio de un resto de aminoácido particular da como resultado una actividad destruida, reducida indeseablemente o inadecuada, pueden evitarse variantes con dicho cambio. En otras palabras, en base a la información recopilada de dichos experimentos rutinarios, un experto en la materia puede determinar fácilmente los aminoácidos en los que deben impedirse sustituciones adicionales, tanto en
35 solitario como en combinación, con otras mutaciones.

Un experto en la materia podrá determinar variantes adecuadas del polipéptido, como se expone en el presente documento, usando técnicas bien conocidas. En determinadas realizaciones, un experto en la materia puede identificar áreas adecuadas de la molécula que pueden cambiarse sin destruir la actividad por regiones diana que se
40 piensa que no son importantes para la actividad. En determinadas realizaciones, pueden identificarse restos y partes de las moléculas que están conservados entre polipéptidos similares. En determinadas realizaciones, incluso áreas que pueden ser importantes para la actividad biológica o para la estructura pueden someterse a sustituciones de aminoácidos conservativas sin destruir la actividad biológica o sin afectar de modo adverso a la estructura del polipéptido. Adicionalmente, un experto en la materia puede revisar estudios de función-estructura identificando
45 restos en polipéptidos similares que son importantes para la actividad o estructura. A la vista de dicha comparación, se puede predecir la importancia de los restos de aminoácidos en una proteína que se corresponde con restos de aminoácidos que son importantes para la actividad o estructura en proteínas similares. Un experto en la materia puede optar por realizar sustituciones de aminoácidos químicamente similares para dichos restos de aminoácidos importantes previstos.

50 Un experto en la materia también puede analizar la estructura tridimensional y la secuencia de aminoácidos en relación con la estructura en polipéptidos similares. A la vista de dicha información, un experto en la materia puede predecir el alineamiento de restos de aminoácidos de un anticuerpo con respecto a su estructura tridimensional. En determinadas realizaciones, un experto en la materia puede decidir no efectuar cambios radicales en restos de
55 aminoácidos previstos que están en la superficie de la proteína, dado que dichos restos pueden estar implicados en interacciones importantes con otras moléculas. Se han dedicado diversas publicaciones científicas con respecto a la predicción de estructuras secundarias. Véanse Moulton J., Curr. Op. in Biotech, 7 (4): 422-427 (1996), Chou et al, Biochemistry, 13 (2):222-245 (1974); Chou et al, Biochemistry, 113 (2):211-222 (1974); Chou et al, Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol., 47:45-148 (1978); Chou et al, Ann. Rev. Biochem., 47:251-276 y Chou et al.,
60 Biophys. J., 26:367-384 (1979). Además, actualmente se dispone de programas informáticos que ayudan a predecir estructuras secundarias. Un método para predecir estructuras secundarias se basa en la realización de modelos de homología. Por ejemplo, dos polipéptidos o proteínas que tienen una identidad de secuencia mayor del 30 %, o una similitud mayor del 40 %, a menudo tienen topologías estructurales similares. El reciente desarrollo de las bases de
65 datos estructurales de las proteínas (PDB) ha proporcionado la posibilidad de predecir mejor la estructura secundaria, incluyendo el posible número de plegamientos dentro de una estructura polipeptídica o proteica. Véase

Holm et al., Nucl. Acid. Res, 27 (1): 244-247 (1999). Se ha sugerido (Brenner et al., Curr. Op. Struct. Biol., 7 (3): 369-376 (1997)) que en un polipéptido o en una proteína determinado(a), hay un número limitado de plegamientos y que una vez que se han resuelto diversas estructuras críticas, la predicción estructural llegará a ser enormemente más exacta.

- 5 Como métodos adicionales de predicción de la estructura secundaria se incluyen "encadenamiento" (Jones, D., Curr Opin Struct Biol., 7 (3): 377-87 (1997); Sippl et al, Structure, 4 (1): 15 -19 (1996)), "análisis de perfiles" (Bowie et al, Science, 253:164-170 (1991.); Gribskov et al, Meth Enzym, 183:146-159 (1990); Gribskov et al., Proc. Nat. Acad. Sci., 84 (13):4355-4358 (1987)), y "ligamiento evolutivo" (Véase Holm, citado anteriormente (1999), y Brenner, citado
- 10 anteriormente (1997)). En determinadas realizaciones, las variantes de anticuerpos incluyen variantes de glucosilación en las cuales el número y/o tipo de sitio de glucosilación se ha modificado en comparación con las secuencias de aminoácidos de un polipéptido parental. En determinadas realizaciones, las variantes comprenden un mayor o un menor número de sitios de N-glucosilación en comparación con la proteína nativa. Alternativamente, sustituciones que eliminan esta secuencia retirarán una cadena existente de carbohidratos unida a N. También se
- 15 proporciona un reordenamiento de cadenas de carbohidrato unidas a N en las que uno o más sitios de glucosilación unidos a N (típicamente los que son de origen natural) están eliminados y en las que se crean uno o más sitios nuevos unidos a N. Las variantes de anticuerpo adicionales preferidas incluyen variantes de cisteína en las que uno o más restos de cisteína están delecionados de o sustituidos por otro aminoácido (por ejemplo, serina) en comparación con la secuencia de aminoácidos parental. Las variantes de cisteína pueden ser útiles cuando los
- 20 anticuerpos deben replegarse en una conformación biológicamente activa, tal como después del aislamiento de cuerpos de inclusión insolubles. Las variantes de cisteína generalmente tienen menos restos de cisteína que la proteína nativa y típicamente tienen un número constante para minimizar interacciones resultantes de cisteínas no emparejadas.
- 25 Los expertos en la materia pueden determinar sustituciones de aminoácidos deseadas (tanto conservativas como no conservativas) en el momento en que dichas sustituciones se deseen. En determinadas realizaciones, las sustituciones de aminoácidos pueden usarse para identificar restos relevantes de anticuerpos contra el receptor de glucagón humano, o para aumentar o disminuir la afinidad de los anticuerpos contra el receptor de glucagón humano descrito en el presente documento.
- 30 De acuerdo con determinadas realizaciones, las sustituciones de aminoácidos preferidas son aquellas que: (1) reducen la susceptibilidad a la proteólisis, (2) reducen la susceptibilidad a la oxidación, (3) alteran la afinidad de unión para formar complejos de proteína, (4) alteran las afinidades de unión y/o (5) confieren o modifican otras propiedades fisicoquímicas o funcionales sobre dichos polipéptidos. De acuerdo con determinadas realizaciones, las
- 35 sustituciones de aminoácidos sencillas o múltiples (en determinadas realizaciones sustituciones de aminoácidos conservativas) pueden realizarse en la secuencia de origen natural (en determinadas realizaciones, en la parte del polipéptido fuera del dominio (o dominios) que forman contactos intermoleculares). En determinadas realizaciones, típicamente, una sustitución de aminoácido conservativa no puede cambiar sustancialmente las características estructurales de la secuencia parental (por ejemplo, un reemplazo de aminoácido no debe tender a romper una
- 40 hélice que se produce en la secuencia parental o a desestabilizar otros tipos de estructura secundaria que caracteriza la secuencia parental). En Proteins, Structures and Molecular Principles (Creighton, Ed., WH Freeman and Company, Nueva York (1984).); Introduction to Protein Structure (C. Branden y J. Tooze, eds, Garland Publishing, Nueva York, NY (1991)); y Thornton et al. Nature 354: 105 (1991) se describen ejemplos de estructuras secundarias y terciarias de polipéptidos reconocidas en la técnica.
- 45 En determinadas realizaciones, los anticuerpos de la invención pueden unirse químicamente con polímeros, lípidos u otros grupos.
- 50 Los agentes de unión a antígeno pueden comprender al menos una de las CDR descritas en el presente documento incorporadas en una estructura armazón biocompatible. En un ejemplo, la estructura armazón biocompatible comprende un polipéptido, o una parte del mismo, que es suficiente para formar un soporte estructural, o armazón o esqueleto, conformacionalmente estable, que puede presentar una o más secuencias de aminoácidos que se unen a un antígeno (por ejemplo, las CDR, una región variable, etc.) en una región localizada en la superficie. Dichas
- 55 estructuras pueden ser un polipéptido de origen natural o un polipéptido "plegado" (un motivo estructural), o pueden tener una o más modificaciones, tales como adiciones, delecciones o sustituciones de aminoácidos, con respecto a un polipéptido de origen natural o plegado. Estas estructuras pueden derivar de un polipéptido de cualquier especie (o de más de una especie), tal como de un ser humano, otro mamífero, otro vertebrado, invertebrado, planta, bacteria o virus.
- 60 Típicamente las estructuras armazón biocompatibles están basadas en estructuras o esqueletos de proteína que no son dominios de inmunoglobulina. Por ejemplo, pueden usarse las que se basan en fibronectina, anquirina, lipocalina, neocaricostatina, citocromo b, dedo de cinc CP1 PST1, superenrollamiento, LACI-D1, dominio Z y dominios de Tendamistat (Véase, por ejemplo, Nygren y Uhlen, 1997, Current Opinion in Structural Biology, 7, 463-469).

Adicionalmente, un experto en la materia reconocerá que los agentes de unión adecuados incluyen partes de estos anticuerpos, tales como una o más de las CDR1, CDR2, CDR3 de cadena pesada, CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena ligera, como se describe específicamente en el presente documento. Al menos una de las regiones CDR1, CDR2, CDR3 de cadena pesada y CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena ligera puede tener al menos una sustitución de aminoácidos, siempre que el anticuerpo conserve la especificidad de unión de la CDR no sustituida. La parte no CDR del anticuerpo puede ser una molécula no proteica, en la cual el agente de unión bloquea en cruzado la unión de un anticuerpo descrito en el presente documento con el GCGR humano y/o inhibe la actividad de la señalización de glucagón a través del receptor. La parte no CDR del anticuerpo puede ser una molécula no proteica en la cual el anticuerpo presenta un modelo de unión similar con los péptidos del GCGR humano en un ensayo de unión competitiva, como se muestra en al menos uno de los anticuerpos A1-A23, y/o neutraliza la actividad del glucagón. La parte no CDR del anticuerpo puede estar compuesta por aminoácidos, en la cual el anticuerpo es una proteína de unión recombinante o un péptido sintético, y la proteína de unión recombinante bloquea en cruzado la unión de un anticuerpo descrito en el presente documento con el GCGR humano y/o neutraliza la actividad de glucagón *in vitro* o *in vivo*. La parte no CDR del anticuerpo puede estar compuesta por aminoácidos, en la cual el anticuerpo es un anticuerpo recombinante, y el anticuerpo recombinante presenta un modelo de unión similar con los péptidos del GCGR humano en un ensayo de unión competitiva como se muestra en al menos uno de los anticuerpos A1-A23, y/o neutraliza la señalización del glucagón.

Ácidos nucleicos

En un aspecto, la presente invención proporciona moléculas aisladas de ácido nucleico. Los ácidos nucleicos comprenden, por ejemplo, polinucleótidos que codifican toda o parte de una proteína de unión a antígeno, por ejemplo, una o las dos cadenas de un anticuerpo de la invención, o un fragmento, derivado, muteína, o variante de los mismos, polinucleótidos suficientes para su uso como sondas de hibridación, cebadores PCR o cebadores de secuenciación para identificar, analizar, mutar o amplificar un polinucleótido que codifica un polipéptido, ácidos nucleicos antisentido para inhibir la expresión de un polinucleótido y secuencias complementarias de lo anterior. Los ácidos nucleicos pueden tener cualquier longitud. Pueden tener, por ejemplo, una longitud de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 750, 1000, 1500, 3000, 5000 o más nucleótidos y/o pueden comprender una o más secuencias adicionales, por ejemplo, secuencias reguladoras y/o formar parte de un ácido nucleico más grande, por ejemplo, un vector. Los ácidos nucleicos pueden ser mono- o bi-catenarios y pueden comprender nucleótidos de ARN y/o ADN, y variantes artificiales de los mismos (por ejemplo, ácidos nucleicos péptidos).

Los ácidos nucleicos que codifican polipéptidos de anticuerpos (por ejemplo, cadena pesada o ligera, sólo dominios variables, o de longitud completa) pueden aislarse de células B de ratones que se han inmunizado con el antígeno GCGR. El ácido nucleico puede aislarse por procedimientos convencionales tales como reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Las secuencias de ácidos nucleicos que codifican las regiones variables de la cadena pesada y cadena ligera se han mostrado anteriormente. Los expertos en la materia apreciarán que, debido a la degeneración del código genético, cada una de las secuencias polipeptídicas descritas en el presente documento está codificada por una gran cantidad de secuencias distintas de ácidos nucleicos. La presente invención proporciona cada secuencia de nucleótidos degenerada que codifica cada proteína de unión a antígeno de la invención.

La invención proporciona adicionalmente ácidos nucleicos que se hibridan con otros ácidos nucleicos (por ejemplo, ácidos nucleicos que comprenden una secuencia de nucleótidos de cualquiera de A1-A14) en condiciones de hibridación particulares. En la técnica se conocen bien métodos de hibridación de ácidos nucleicos. Véase, por ejemplo, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N. Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. Como se define en el presente documento, por ejemplo, una condición de hibridación moderadamente rigurosa utiliza una solución de prelavado que contiene cloruro de sodio/citrato de sodio (SSC) 5X, SDS al 0,5 %, EDTA 1,0 mM (pH 8,0), tampón de hibridación de formamida al 50 % aproximadamente, SSC 6X, y una temperatura de hibridación de 55 °C (u otras soluciones de hibridación similares, tal como una que contiene formamida al 50 % aproximadamente, con una temperatura de hibridación de 42 °C) y condiciones de lavado de 60 °C, en SSC 0,5X, SDS al 0,1 %. Una condición de hibridación rigurosa hibrida en SSC 6X a 45 °C, seguido de uno o más lavados en SSC 0,1 X, SDS al 0,2 % a 68 °C. Adicionalmente, un experto en la materia puede controlar las condiciones de hibridación y/o de lavado para aumentar o disminuir la rigurosidad de la hibridación de tal manera que los ácidos nucleicos que comprenden secuencias de nucleótidos que tienen entre sí al menos una identidad de 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98 o 99 % típicamente permanecen hibridadas entre sí. Los parámetros básicos que influyen en la elección de las condiciones de hibridación y una orientación para diseñar condiciones adecuadas se exponen, por ejemplo, en Sambrook, Fritsch, y Maniatis (1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y., capítulos 9 y 11; y en Current Protocols in Molecular Biology, 1995, Ausubel et al, eds, John Wiley & Sons, Inc., apartados 2.10 y 6.3 a 6.4), y los expertos habituales en la materia pueden determinarlas fácilmente basándose, por ejemplo, en la longitud y/o composición de bases del ADN. Pueden introducirse cambios por mutación en un ácido nucleico, conduciendo por lo tanto a cambios en la secuencia de aminoácidos de un polipéptido (por ejemplo, una proteína de unión a antígeno) que ésta codifica. Pueden introducirse mutaciones

usando cualquier técnica conocida en la materia. En una realización, uno o más restos de aminoácidos particulares se cambian usando, por ejemplo, un protocolo de mutagénesis dirigida a sitio. En otra realización, se cambian uno o más restos seleccionados al azar, usando, por ejemplo, un protocolo de mutagénesis al azar. Sin embargo, aunque se haga esto, para determinar una propiedad deseada puede expresarse y explorarse un polipéptido mutante.

5 En un ácido nucleico pueden introducirse mutaciones sin alterar significativamente la actividad biológica de un polipéptido que codifica. Por ejemplo, pueden realizarse sustituciones de nucleótidos que conducen a sustituciones de aminoácidos en restos de aminoácidos no esenciales. En una realización, una secuencia de nucleótidos proporcionada en el presente documento para L-1-L-23 y H-1 a H-23, o un fragmento, variante o derivado deseado
10 del mismo, está mutado de tal manera que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende una o más delecciones o sustituciones de restos de aminoácidos, mostrados en el presente documento para L-1 a L-23 y H-1 a H-23 con respecto a restos en los que dos o más secuencias son diferentes. En otra realización, la mutagénesis inserta un aminoácido adyacente en uno o más restos de aminoácidos mostrados en el presente documento para L-1 a L-23 y H-1 a H-23 con respecto a restos en los que dos o más secuencias son diferentes. Alternativamente en un
15 ácido nucleico pueden introducirse una o más mutaciones que cambian, de manera selectiva, la actividad biológica (por ejemplo, la unión al GCGR) de un polipéptido que codifica. Por ejemplo, la mutación puede cambiar cuantitativa o cualitativamente la actividad biológica. Son ejemplos de cambios cuantitativos los que incluyen aumentar, reducir o eliminar la actividad. Son ejemplos de cambios cualitativos los que incluyen cambiar la especificidad antigénica de una proteína de unión a antígeno.

20 También se describen moléculas de ácido nucleico que son adecuadas para uso como cebadores o sondas de hibridación para la detección de secuencias de ácido nucleico de la invención. Una molécula de ácido nucleico de la invención puede comprender solo una parte de una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido de longitud completa de la invención, por ejemplo, un fragmento que puede usarse como una sonda o un cebador o un
25 fragmento que codifica una parte activa (por ejemplo, una parte de unión a GCGR) de un polipéptido de la invención.

Pueden usarse sondas basadas en la secuencia de un ácido nucleico de la invención para detectar el ácido nucleico o los ácidos nucleicos similares, por ejemplo, transcritos que codifican un polipéptido de la invención. La sonda puede comprender un grupo marcador, por ejemplo, un radioisótopo, un compuesto fluorescente, una enzima, o un
30 cofactor enzimático. Dichas sondas pueden usarse para identificar una célula que exprese el polipéptido.

En otro aspecto, la presente invención proporciona vectores que comprenden un ácido nucleico que codifica un polipéptido de la invención o una parte del mismo. Ejemplos de vectores incluyen, pero sin limitación, plásmidos, vectores virales, vectores de mamífero no episomales y vectores de expresión, por ejemplo, vectores de expresión
35 recombinantes.

Los vectores de expresión recombinantes de la invención pueden comprender un ácido nucleico de la invención en una forma adecuada para la expresión de un ácido nucleico en una célula hospedadora. Los vectores de expresión recombinantes incluyen una o más secuencias reguladoras, seleccionadas en base a las células hospedadoras a
40 usar para la expresión, que están unidas operativamente a la secuencia de ácido nucleico a expresar. Las moléculas reguladoras incluyen aquellas que dirigen la expresión constitutiva de una secuencia de nucleótidos en muchos tipos de células hospedadoras (por ejemplo, el potenciador del gen temprano del SV40, el promotor del virus de sarcoma de Rous y el promotor de citomegalovirus), aquellas que dirigen la expresión de la secuencia de nucleótidos sólo en determinadas células hospedadoras (por ejemplo, secuencias reguladoras específicas de tejido, véase Voss et al,
45 1986, Trends Biochem Sci. 11:287, Maniatis et al, 1987, Science 236: 1237), y aquellas que dirigen la expresión inducible de una secuencia de nucleótidos en respuesta a un tratamiento o afección particular (por ejemplo, el promotor de metalotionina en células de mamífero y el promotor sensible a estreptomycin y/o sensible a tet en sistemas tanto procariotas como eucariotas (véase id.)). Los expertos en la materia apreciarán que el diseño del vector de expresión puede depender de factores tales como la elección de la célula hospedadora a transformar, el
50 nivel de expresión de proteína deseado, etc. Los vectores de expresión de la invención pueden introducirse en células hospedadoras para producir de esta manera proteínas o péptidos, que incluyen proteínas o péptidos de fusión, codificados por ácidos nucleicos como se describe en el presente documento.

En otro aspecto, la presente invención proporciona células hospedadoras en las que se ha introducido un vector de expresión recombinante de la invención. Una célula hospedadora puede ser cualquier célula procariota o
55 eucariota. Las células hospedadoras procariotas incluyen organismos gram negativos o gram positivos, por ejemplo *E. coli* o bacilos. Las células eucariotas superiores incluyen células de insecto, células de levadura, y líneas celulares establecidas de origen mamífero. Como ejemplos de líneas celulares hospedadoras de mamífero se incluyen células de ovario de hámster chino (CHO) o sus derivados, tales como, CHO de Veggie y líneas celulares relacionadas, que crecen en medios aséricos (véase Rasmussen et al., 1998, Cytotechnology 28:31) o la cepa DXB-
60 11 de CHO, que carece de DHFR (véase Urlaub et al., 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 77:4216-20). Líneas celulares CHO adicionales incluyen CHO-K1 (ATCC N° CCL-61), EM9 (ATCC N° CRL-1861) y UV20 (ATCC N° CRL-1862). Células hospedadoras adicionales incluyen la línea COS-7 de células renales de mono (ATCC CRL 1651) (véase Gluzman et al., 1981, Cell 23:175), células L, células C127, células 3T3 (ATCC CCL 163), células AM-1/D
65 (descritas en la Patente de Estados Unidos N° 6.210.924), células HeLa, líneas celulares BHK (ATCC CRL 10), la

línea celular CV1/EBNA derivada de la línea celular renal de mono verde africano CV1 (ATCC CCL 70) (véase McMahan et al., 1991, EMBO J. 10:2821), células renales embrionarias humanas tales como 293, 293 EBNA o MSR 293, células A431 epidérmicas humanas, células Colo205 humanas, otras líneas celulares de primate transformadas, células diploides normales, cepas de células derivadas de cultivo *in vitro* de tejido primario, 5 explantes primarios, células HL-60, U937, HaK o Jurkat. Pouwels et al. (Cloning Vectors: A Laboratory Manual, Elsevier, Nueva York, 1985) describen vectores de clonación y de expresión apropiados para su uso con hospedadores celulares de bacterias, hongos, levaduras y mamíferos.

Puede introducirse ADN vectorial en células procariotas o eucariotas mediante técnicas de transformación o de 10 transfección convencionales. Para la transfección estable de células de mamífero, se sabe que, dependiendo del vector de expresión y de la técnica de transfección utilizados, sólo una pequeña fracción de células puede integrar en su genoma el ADN extraño. Para identificar y seleccionar estos integrantes, generalmente se introduce un gen que codifica un marcador de selección (por ejemplo, de resistencia a antibióticos) en las células hospedadoras junto con el gen de interés. Los marcadores de selección preferidos incluyen aquellos que confieren resistencia a 15 fármacos, tales como G418, higromicina y metotrexato. Entre otros métodos, pueden identificarse células transfectadas de manera estable con el ácido nucleico introducido por selección con fármacos (por ejemplo, las células que tienen incorporado el gen marcador de selección sobrevivirán, mientras que las otras células morirán).

Las células transformadas pueden cultivarse en condiciones que promuevan la expresión del polipéptido, y el 20 polipéptido puede recuperarse por procedimientos convencionales de purificación de proteínas. Un procedimiento de purificación de este tipo se describe más adelante en los Ejemplos. Los polipéptidos contemplados para su uso en el presente documento incluyen sustancialmente polipéptidos de anticuerpos anti-receptor de glucagón recombinantes homogéneos sustancialmente libres de materiales endógenos contaminantes.

25 Actividad de las proteínas de unión a antígeno

En un aspecto, la presente invención proporciona proteínas de unión a antígeno, en particular, anticuerpos humanos, humanizados o quiméricos, que se unen específicamente al receptor de glucagón humano. Dichos anticuerpos incluyen anticuerpos antagonistas o neutralizantes capaces de reducir o neutralizar la señalización del 30 glucagón, como se determina, por ejemplo, mediante el ensayo funcional basado en células descrito en el Ejemplo 4. En una realización, las proteínas de unión a antígeno, tales como los anticuerpos humanos de la presente invención, tienen un valor de CI50 de 90 nM o menor, en otra realización tienen un valor de CI50 de 80 nM o menor, en otra realización el valor es de 70 nM o menor, en otra realización es de 60 nM o menor, en otra realización es de 50 nM o menor, en otra realización es de 40 nM o menor, en otra realización el valor es de 30 nM o menor, en otra 35 realización de 25 nM o menor. En otra realización, las proteínas de unión de antígeno, tales como los anticuerpos humanos de la presente invención, pueden unirse específicamente al receptor de glucagón humano, y tienen un valor de CI50 que es sustancialmente similar al de un anticuerpo de referencia. En otra realización, las proteínas de unión a antígeno tienen una Kb (o Kd), medida por el ensayo descrito en los Ejemplos más adelante (o ensayos similares), que es sustancialmente similar a la de un anticuerpo de referencia. Como se usa en el presente 40 documento, la expresión "sustancialmente similar" significa comparable a, o aproximadamente 100 %, 99 %, 98 %, 97 %, 95 %, 90 %, 85 %, 80 %, 75 %, 70 %, 65 % o 50 % idéntica al valor de CI50 o Kb (o Kd) del anticuerpo de referencia. Como anticuerpos de referencia se incluyen, por ejemplo, anticuerpos que tienen una combinación de cadena pesada y cadena ligera L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L11H11, L12H12, L13H13, L15H15, L21H21 y L22H22. En una realización, los anticuerpos de referencia incluyen A-1, A-2, A-3, A-4, 45 A-5, A-6, A-7, A-8, A-9, A-10, A-12, A-13, A-15, A-21 y A-22. En otra realización, las proteínas de unión a antígeno, tales como los anticuerpos humanos de la presente invención, pueden unirse específicamente al receptor de glucagón humano, y disminuir la glucosa en sangre en un modelo animal. En una realización, la glucosa en sangre disminuye un 2% en comparación con animales no tratados, en otra realización la glucosa en sangre disminuye un 5 % en comparación con animales no tratados, en otra realización, la glucosa en sangre disminuye un 10 % en 50 comparación con animales no tratados, en otra realización, la glucosa en sangre disminuye un 15 %, en otra realización un 20 %, en otra realización un 25 % o más, en comparación con animales no tratados. La cantidad de reducción de glucosa en sangre se controla por dosificación. Una dosificación terapéuticamente eficaz es la dosificación necesaria para reducir la glucosa en sangre dentro de un intervalo normal para el paciente humano o animal. Un modelo animal ejemplar es el ratón ob/ob, como se describe, en el Ejemplo 6 más adelante. En otra 55 realización, los anticuerpos humanos de la presente invención pueden unirse específicamente al receptor de glucagón humano y mejorar la eliminación de glucosa en un modelo animal. Un modelo animal ejemplar es el mono cinomolgo, como se describe en el Ejemplo 7 más adelante. Una mejora de la eliminación de glucosa se refiere a la cantidad de tiempo que tarda en reducirse la glucosa en sangre después de una exposición a glucosa oral proporcionada al paciente humano o al animal, y es una medición de la tolerancia a la glucosa. Esto se mide 60 mediante ensayos convencionales, tales como el ensayo de tolerancia a la glucosa oral (ETGO), como se describe en el ejemplo más adelante. Las proteínas de unión a antígeno de la presente invención puede mejorar la tolerancia a la glucosa en un modelo animal. Además, las proteínas de unión a antígeno pueden mejorar otros indicadores *in vivo* asociados con la diabetes de tipo 2 y la hiperglucemia, incluyendo, pero sin limitación, tolerancia alterada a glucosa, dislipidemia y síndrome metabólico.

Unión al receptor de glucagón humano

En una realización, la presente invención proporciona proteínas de unión a antígeno que compiten en cruzado por la unión con un anticuerpo de referencia, en el que el anticuerpo de referencia comprende una combinación de 5 secuencias de dominio variable de cadena ligera y cadena pesada seleccionadas del grupo que consiste en L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L11H11, L12H12, L13H13, L15H15, L17H17, L21H21 y L22H22. En otra realización, la presente invención proporciona anticuerpos humanos que compiten en cruzado por la unión con un anticuerpo de referencia, en el que el anticuerpo de referencia es A-1, A-2, A-3, A-4, A-5, A-6, A-7, A-8, A-9, A-11I, A-12, A-13, A-15, A-21 y A-22. En otro aspecto, la presente invención proporciona anticuerpos 10 humanos que se unen a la región de Ser80 a Ser119 del receptor de glucagón humano. En otra realización, la presente invención proporciona anticuerpos humanos que compiten en cruzado por la unión con un anticuerpo de referencia, en el que el anticuerpo de referencia se une a la región de Ser80 a Ser119 del receptor de glucagón humano. En otra realización, la presente invención proporciona anticuerpos humanos que se unen a la región de Ser80 a Ser119 del receptor de glucagón y que tienen un valor de CI_{50} de 90 nM o menor, en otra realización de 80 15 nM o menor, en otra realización de 70 nM o menor, en otra realización de 60 nM o menor, en otra realización de 50 nM o menor, en otra realización de 40 nM o menor, en otra realización de 30 nM o menor, en otra realización de 25 nM o menor, como se determina, por ejemplo, en el ensayo indicado en el Ejemplo 4. En otra realización, la presente invención proporciona anticuerpos humanos que compiten en cruzado por la unión al receptor de glucagón humano con un anticuerpo de referencia, siendo A-3 el anticuerpo de referencia.

20 En una realización adicional, cuando las proteínas de unión a antígeno se unen al receptor de glucagón humano, se unen al receptor de glucagón humano sustancialmente con la misma K_d que la de un anticuerpo de referencia; inhiben la estimulación de glucagón del receptor de glucagón humano sustancialmente con la misma CI_{50} que la de dicho anticuerpo de referencia; y/o compiten en cruzado por la unión con dicho anticuerpo de referencia sobre el receptor de glucagón humano, en el cual dicho anticuerpo de referencia comprende una combinación de secuencias 25 de dominio variable de cadena ligera y cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L11H11, L12H12, L13H13, L15H15, L21H21 y L22H22.

En una realización adicional, se proporciona un anticuerpo humano aislado que, cuando se une al receptor de glucagón humano: se une al receptor de glucagón humano sustancialmente con la misma K_d que la del anticuerpo 30 de referencia; inhibe la estimulación de glucagón del receptor de glucagón humano sustancialmente con la misma CI_{50} que la de dicho anticuerpo de referencia; y/o compete en cruzado por la unión con dicho anticuerpo de referencia sobre el receptor de glucagón humano, en el cual dicho anticuerpo de referencia se selecciona del grupo que consiste en A-1, A-2, A-3, A-4, A-5, A-6, A-7, A-8, A-9, A-11, A-12, A-13, A-15, A-21 y A-22.

35 En una realización adicional, se proporciona un anticuerpo humano aislado que, cuando se une al receptor de glucagón humano: a. se une específicamente a la parte del aminoácido Ser80 a Ser119 del receptor de glucagón humano; b. reduce la señalización de glucagón con un valor CI_{50} de 90 nM o menor; c. disminuye la glucosa en sangre en un modelo animal; o (a) y (b), o (a), (b) y (c).

40 La capacidad para competir en cruzado con un anticuerpo se determina de la siguiente manera. El Ejemplo 8, más adelante, describe un ensayo de unión competitiva ejemplar usando A-3 como el anticuerpo de referencia. Los anticuerpos ensayados eran anticuerpos superables, que podían competir por la unión con A-3, parcialmente superables, que podían competir solo parcialmente para la unión con A-3, y anticuerpos no superables, que no podían competir por la unión con A-3. Los resultados se muestran en las Figuras 4-6.

45 Además, el sitio de unión del anticuerpo A-3 humano y de otros anticuerpos humanos se determinó por la construcción de receptores quiméricos de GCGR humano y receptores de GLP-1 humanos, como se describe en el Ejemplo 9 a continuación. Usando los receptores quiméricos, como se describe más adelante, y como se muestra en la Figura 7, se determinó que para el anticuerpo A-3, la región de los aminoácidos Ser80 a Ser117 del receptor de glucagón humano era necesaria y suficiente para la unión. Además, el GCGR humano contiene 3 pares de 50 cisteínas. Para la unión del anticuerpo A-3, fueron necesarios el segundo y tercer pares de cisteínas, pero no el primer par. Esto contrastaba con los anticuerpos A-18, A-21 y A-10, que solo se unían cuando estaban intactos los 3 pares de cisteínas.

55 Indicaciones

La diabetes, en particular la diabetes de tipo 2, y sus complicaciones, son un problema cada vez mayor en la población mundial. Generalmente, esta enfermedad es el resultado de una producción de insulina alterada de las 60 células β pancreáticas. En la diabetes de tipo 2, la forma más común de la enfermedad, se piensa que una combinación de factores genéticos y ambientales produce insuficiencia de las células β , dando como resultado una secreción y actividad de insulina alterada, y en muchos individuos resistencia a insulina. La obesidad es una afección que se piensa que contribuye a aumentar la diabetes de tipo 2 en adultos e incluso en niños. También se sabe que la dislipidemia, o HDL (lipoproteína de alta densidad) anómala y la LDL (lipoproteína de baja densidad) están relacionadas con la diabetes de tipo 2.

65

La diabetes tipo 2 se caracteriza por la insuficiencia de los músculos y otros órganos a responder a concentraciones normales de insulina en circulación. A esto le sigue un aumento en la secreción de insulina de las células beta pancreáticas, una afección conocida como hiperinsulinemia. Finalmente, las células beta ya no pueden equilibrarse, lo que conduce a tolerancia alterada a glucosa, a niveles alterados de glucosa en ayunas, a hiperglucemia crónica y a daño tisular. Además, se sabe que la pre-diabetes de tipo 2 está relacionada con dislipidemia, o HDL (lipoproteína de alta densidad) anómala, y LDL (lipoproteína de baja densidad). Tanto la dislipidemia como la hiperglucemia están presentes en pacientes que padecen síndrome metabólico.

La presente invención proporciona proteínas de unión a antígeno, en particular, anticuerpos humanos que pueden unirse al receptor de glucagón *in vivo* y reducen los niveles de glucemia en modelos animales. Las proteínas de unión a antígeno también pueden mejorar la tolerancia a la glucosa. En una realización, la presente invención proporciona anticuerpos completamente humanos que tienen eficacia *in vivo*. El efecto de una sola inyección de anticuerpos en ratones ob/ob, por ejemplo, disminuye la glucosa en sangre varios días después de la inyección, proporcionando un tratamiento eficaz, de larga duración, para la hiperglucemia, diabetes de tipo 2 y trastornos relacionados. Una sola inyección de anticuerpos también mejora la eliminación de la glucosa (tolerancia a glucosa mejorada) de la sangre en ensayos de tolerancia a glucosa (ETG) realizados en monos cinomolgos como se describe más adelante. Las proteínas de unión a antígeno, y en particular los anticuerpos humanos de la presente invención, son útiles para disminuir la glucosa en sangre o suero, mejorar la tolerancia alterada a glucosa, mejorar los niveles de glucosa en ayunas y mejorar la dislipidemia. Por tanto, las proteínas de unión a antígeno, en particular los anticuerpos humanos de la presente invención, son útiles para el tratamiento de hiperglucemia, diabetes de tipo 2, síndrome metabólico y otras afecciones relacionadas, incluyendo dislipidemia. Además, se ha observado que la disminución de glucosa en sangre es útil en algunas circunstancias en la prevención y tratamiento de determinados cánceres, tales como cánceres colorrectales, como se indica en Richardson et al, *Nature Clin Pract Oncol* 2: 48-53 (2005), Giovannucci et al. *Gastroenterology* 132: 2208-2225 (2007), Krone et al, *Integrative Cancer Ther* 4 (1): 25-31 (2005), Chang et al, *Diabetologia* 46 (5): 595-607 (2003), Jee et al, *Yonsei Med. J* 46 (4): 449-55 (2005).

Métodos de tratamiento

En otro aspecto, se proporciona un método de tratamiento de un sujeto, que comprende administrar una dosificación terapéutica de las proteínas de unión a antígeno de la presente invención. En una realización, las proteínas de unión a antígeno son anticuerpos humanos. Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" se refiere a un mamífero, incluyendo seres humanos, y se usa indistintamente con el término "paciente". Los anticuerpos humanos, pueden usarse para tratar, controlar o prevenir un trastorno o una afección que se caracteriza por niveles excesivos de glucagón y/o glucosa en sangre en un sujeto, y mejorar la tolerancia a la glucosa. Estos trastornos incluyen hiperglucemia, síndrome metabólico y diabetes de tipo 2. El término "tratamiento" incluye el alivio o la prevención de al menos un síntoma u otro aspecto de un trastorno, o la reducción de la gravedad de una enfermedad y similar. No es necesario que una proteína de unión a antígeno, en particular un anticuerpo humano de acuerdo con la presente invención, efectúe una curación completa, o erradique cada síntoma o manifestación de una enfermedad, para constituir un agente terapéutico viable. Como se reconoce en el campo en cuestión, los fármacos empleados como agentes terapéuticos pueden reducir la gravedad de una patología determinada, pero no necesariamente anular cada manifestación de la enfermedad para considerarse como agentes terapéuticos útiles. De manera similar, un tratamiento administrado profilácticamente no necesita ser completamente eficaz en la prevención de la aparición de una afección para constituir un agente profiláctico viable. Simplemente basta con reducir el impacto de una enfermedad (por ejemplo, reduciendo el número o la gravedad de sus síntomas, o aumentando la eficacia de otro tratamiento, o produciendo otro efecto beneficioso), o reducir la probabilidad de que se produzca la enfermedad o el empeoramiento en un sujeto. Una realización de la invención se refiere a un método que comprende administrar a un paciente una proteína de unión a antígeno, tal como un anticuerpo humano, en una cantidad y durante un tiempo suficiente para inducir una mejora prolongada sobre la línea basal de un indicador que refleja la gravedad del trastorno particular.

Como se entiende en el campo en cuestión, las composiciones farmacéuticas que comprenden las proteínas de unión a antígeno de la invención se administran a un sujeto de una manera apropiada a la indicación. En una realización, las composiciones farmacéuticas comprenden los anticuerpos humanos de la presente invención. Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse mediante cualquier técnica adecuada, incluyendo, pero sin limitación, la vía parenteral, tópica o por inhalación. Si se inyecta, la composición farmacéutica puede administrarse, por ejemplo, por vía intraarticular, intravenosa, intramuscular, intralesional, intraperitoneal o subcutánea, por inyección en embolada, o infusión continua. Se contempla la administración localizada, por ejemplo, en un lugar de enfermedad o lesión, al igual que la administración transdérmica y la liberación sostenida de implantes. La administración por inhalación incluye, por ejemplo, inhalación oral o nasal, el uso de un nebulizador, inhalación de la proteína de unión a antígeno en forma de aerosol y similar. Otras alternativas incluyen preparaciones orales que incluyen píldoras, jarabes o pastillas para chupar.

Ventajosamente, las proteínas de unión a antígeno de la invención, se administran en forma de una composición que comprende uno o más componentes adicionales tales como un vehículo, excipiente o diluyente fisiológicamente aceptable. Opcionalmente, la composición comprende adicionalmente uno o más agentes fisiológicamente activos,

por ejemplo, como se describe más adelante. En diversas realizaciones particulares, la composición comprende uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis agentes fisiológicamente activos además de una o más proteínas de unión a antígeno (por ejemplo, anticuerpos humanos) de la presente invención.

5 En una realización, la composición farmacéutica comprende un anticuerpo humano de la invención junto con una o más sustancias seleccionadas del grupo que consiste en un tampón adecuado para anticuerpos a un pH adecuado, un antioxidante, tal como ácido ascórbico, un polipéptido de bajo peso molecular (como aquellos que tienen menos de 10 aminoácidos), una proteína, un aminoácido, un carbohidrato tal como dextrina, un agente quelante tal como EDTA, glutatión, un estabilizante, y un excipiente. De acuerdo con normas de industria apropiadas, también pueden
10 añadirse conservantes. La composición puede formularse como un liofilizado usando soluciones de excipientes apropiadas como diluyentes. Los componentes adecuados son no tóxicos para los receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas. Ejemplos adicionales de componentes que pueden emplearse en formulaciones farmacéuticas se presentan en Remington's Pharmaceutical Sciences de, 16ª Ed. (1980) y 20ª Ed. (2000), Mack Publishing Company, Easton, PA.

15 Se proporcionan kits para el uso de expertos médicos que incluyen una o más proteínas de unión a antígeno de la invención y una etiqueta u otras instrucciones para su uso en el tratamiento de cualquiera de las afecciones comentadas en el presente documento. En una realización, el kit incluye una preparación estéril de uno o más anticuerpos humanos, que pueden estar en forma de una composición como se ha descrito anteriormente, y puede
20 estar en uno o más viales.

Las dosificaciones y la frecuencia de la administración pueden variar de acuerdo con factores tales como la vía de administración, los anticuerpos particulares empleados, la naturaleza y gravedad de la enfermedad a tratar, de si la afección es aguda o crónica, y la estatura y el estado general del sujeto. Las dosificaciones apropiadas pueden
25 determinarse mediante procedimientos conocidos en la técnica en cuestión, por ejemplo, en pruebas clínicas que pueden implicar estudios de aumento escalonado de la dosis.

Una proteína de unión a antígeno, en particular, los anticuerpos humanos de la invención, puede administrarse, por ejemplo, una o más veces, por ejemplo, a intervalos regulares durante un período de tiempo. En realizaciones
30 particulares, un anticuerpo humano se administra durante un período de al menos una vez al mes o más, por ejemplo, durante uno, dos, o tres meses o incluso indefinidamente. Para el tratamiento de afecciones crónicas, el tratamiento prolongado es generalmente el más eficaz. Sin embargo, para el tratamiento de afecciones agudas, la administración durante períodos más cortos, por ejemplo de una a seis semanas, puede ser suficiente. En general, el anticuerpo humano se administra hasta que el paciente manifieste un grado de mejoría médicamente importante
35 sobre la línea basal del indicador o indicadores seleccionados.

Un ejemplo de regímenes terapéuticos proporcionado en el presente documento comprende inyección subcutánea de una proteína de unión a antígeno, tal como un anticuerpo humano, una vez a la semana, a una dosis apropiada, para tratar una afección en la que los niveles de glucosa en sangre desempeñan una función. En el presente
40 documento se proporcionan ejemplos de dichas afecciones e incluyen, por ejemplo, hiperglucemia, diabetes de tipo 2, tolerancia alterada a glucosa en ayunas, tolerancia alterada a glucosa y dislipidemia. La administración semanal o mensual de la proteína de unión a antígeno puede continuar hasta que se consiga un resultado deseado, por ejemplo, disminuir los síntomas del sujeto. Si fuera necesario, el tratamiento se puede reanudar, o, alternativamente, pueden administrarse dosis de mantenimiento.

45 Los niveles de glucosa en sangre de un sujeto pueden controlarse antes, durante y/o después del tratamiento con una proteína de unión a antígeno, tal como un anticuerpo humano, para detectar cambios, si hubiese, en sus niveles. Para algunos trastornos, la frecuencia elevada de glucosa en sangre puede variar de acuerdo con factores tales como la fase de la enfermedad. Para medir los niveles de glucosa pueden emplearse técnicas conocidas. Los
50 niveles de glucagón también pueden medirse en la sangre del paciente usando técnicas conocidas, por ejemplo, ELISA.

Realizaciones particulares de la invención implican el uso de una proteína de unión a antígeno, tal como un anticuerpo humano y uno o más antagonistas de glucagón, por ejemplo, dos o más proteínas de unión a antígeno de
55 la invención, o una proteína de unión a antígeno de la invención y uno o más antagonistas de glucagón distintos. En realizaciones adicionales, la proteína de unión a antígeno se administra en solitario o en combinación con otros agentes útiles para el tratamiento de la afección que padece el paciente. Como ejemplos de dichos agentes se incluyen fármacos proteináceos y no proteináceos. Cuando se administran agentes terapéuticos múltiples, las dosificaciones pueden ajustarse de manera consecuente, como se reconoce en la técnica en cuestión. La
60 "coadministración" y terapia de combinación no se limitan a la administración simultánea, sino que también incluyen regímenes de tratamiento en los que una proteína de unión a antígeno se administra al menos una vez durante el tratamiento, lo que implica administrar al paciente al menos otro agente terapéutico.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método de preparación de un medicamento para el
65 tratamiento de la diabetes de tipo 2, hiperglucemia, síndrome metabólico, dislipidemia y trastornos relacionados, que

comprende una mezcla de una proteína de unión a antígeno de la presente invención, por ejemplo, un anticuerpo humano, en un excipiente farmacéuticamente aceptable, para el tratamiento de la diabetes de tipo 2 y trastornos relacionados. Anteriormente se han descrito métodos de preparación de medicamentos.

5 Terapias de combinación

En otro aspecto, en el presente documento se describe un método de tratamiento de un sujeto para la diabetes con una proteína de unión a antígeno terapéutica de la presente invención, tal como los anticuerpos terapéuticos completamente humanos, junto con uno o más tratamientos distintos.

10

En una realización, dicha terapia de combinación consigue un efecto sinérgico. Las proteínas de unión a antígeno pueden estar en combinación con uno o más de los siguientes tratamientos actualmente disponibles para la diabetes de tipo 2. Estos incluyen biguanida (metformina) y sulfonilureas (tales como gliburida, glipizida). Tratamientos

15

adicionales dirigidos al mantenimiento de la homeostasis de la glucosa incluyen antagonistas de PPAR gamma (pioglitazona, rosiglitazona); e inhibidores de alfa glucosidasa (acarbosa, voglibosa). Tratamientos adicionales incluyen tratamientos inyectables tales como Exenatide® (péptido similar a glucagón), y Symlin® (pramlintida).

Habiendo descrito la invención, se ofrecen los siguientes ejemplos a modo ilustrativo y no limitativo.

20 **Ejemplos**

Ejemplo 1: preparación de antígeno

El ADNc del GCGR humano que codifica el receptor de glucagón de longitud completa de 477 aminoácidos (SEC ID N°: 2) se subclonó en el vector de expresión pDC312 y se transfectó en células AM1D. Después de la selección y clonación de células sencillas, se seleccionó un solo clon (clon 1004) para caracterización posterior en base a la expresión del receptor en la superficie. El nivel de expresión del receptor (B_{max}), determinado por análisis de unión de saturación, fue de 11,4 pmol de receptor de glucagón/mg de proteína de membrana.

Adicionalmente, una secuencia de ADNc que codificaba un GCGR N-terminal (del aminoácido 1 al 142 de la SEC ID N°: 2) se fusionó en fase con el ADNc del Fc de la IgG1 humana y se subclonó en el vector pDsRa21 (descrito en el documento US 2005/0118643). Después de la transfección en células AM1D se seleccionó un conjunto estable de células. El Fc N-terminal del GCGR se purificó del medio acondicionado concentrado mediante una columna Fast flow de Proteína A recombinante (GE Healthcare) y después mediante una columna de intercambio aniónico Source 30Q (GE Healthcare).

35

Ejemplo 2: Generación de hibridomas anti-ser humano de ratón

Como antígeno, se usaron fracciones de membrana celular en crudo del clon 1004, como se ha descrito anteriormente, para inmunización convencional e IRMSI (Inmunización Rápida con Múltiples Sitios de Inyección) de ratones C57BL/6 o DBFI (Jackson Laboratories, Bar Harbor, Maine). Después de diversas rondas de inmunización, los linfocitos se liberaron de los ganglios linfáticos (inmunización IRMSI) o del bazo (inmunización convencional) y se fusionaron con células de mieloma de ratón, Sp2/0-Ag14 (ATCC) por electrofusión. Las células fusionadas se sembraron en placas de 96 pocillos a la densidad de 2×10^4 células/pocillo en 100 μ l de medio BD complementado con SBF al 10 %, Factor de Clonación de Origen al 5 % (BioVeris™), Penicilina-Estreptomicina-Glutamina 1x (Gibco) y OPI (oxaloacetato, piruvato e insulina, Sigma) 1x. Después de 24 horas en cultivo, a cada pocillo se añadieron 100 μ l de HAT (hipoxantina 0,1 mM, timidina 0,16 mM, aminopterina 4 mM, Sigma) 2x. El medio se cambió a los 7 y 10 días posteriores a la fusión, respectivamente y los medios acondicionados se recogieron dos días después del cambio del 2º medio y se envió para exploración primaria como se describe más adelante.

50

Los sobrenadantes de hibridoma se sometieron a ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas) basado en células o a FMAT (Tecnología de Ensayo por Microvolumen Fluorométrico) con células 1004 y en paralelo con células AM1D parentales. Los clones de hibridoma que contenían anticuerpos específicos contra GCGR se seleccionaron en base a la unión específica a las células 1004 pero no a las células AM1D.

55

Los anticuerpos monoclonales se purificaron parcialmente de los cultivos de hibridoma expandidos, como se describe más adelante, y se ensayaron usando ambos ensayos de unión basados en células y funcional (ELISA o FMAT) para la neutralización de la producción de AMPc inducido por glucagón, como se describe más adelante. Los clones positivos se expandieron, se clonaron células sencillas y adicionalmente se confirmaron por ensayos múltiples

60

Ejemplo 3: Generación de anticuerpos completamente humanos

La línea celular 1004, que expresa el GCGR humano en altas cantidades, derivada de preparaciones de membrana celular cruda se usó como el antígeno para inmunizar IgG2 e IgG4 de XenoMouse® (Abgenix, ahora Amgen, Inc.) de

65

acuerdo con protocolos descritos, por ejemplo, en los documentos US 05/0118643, WO 05/694879, WO 98/24838, WO 00/76310 y en la patente de Estados Unidos N° 7.064.244. Se realizó un total de dos campañas. Después de la inmunización inicial, se administraron rondas de inmunizaciones de refuerzo posteriores hasta conseguir la titulación de anticuerpos deseada. Se identificaron los animales que presentaban una titulación adecuada y los linfocitos se obtuvieron por drenaje de los ganglios linfáticos y, en caso de ser necesario, se agruparon para cada cohorte. En algunos casos, los linfocitos se disociaron del tejido linfoide triturando con un medio adecuado (por ejemplo, DMEM, Invitrogen, Carlsbad, CA) para liberar las células del tejido. Se seleccionaron células B y se fusionaron con compañeros de fusión adecuados, tales como, por ejemplo, células no secretoras de mieloma P3X63Ag8.653 (Colección Americana de Cultivos Tipo CRL 1580, Kerney et al, J. Immunol. 123, 1548-1550 (1979)), como se describe en las referencias anteriores. Otros compañeros de fusión adecuados incluyen células Sp2/0-Ag14 (ATCC). Las células fusionadas se sedimentaron y se resuspendieron en medios de selección (típicamente, DMEM que contenía azaserina e hipozantina y otros materiales complementarios), se incubaron durante 20-30 minutos y después se resuspendieron en medio de selección y se cultivaron antes de realizar siembra en placa. Después, las células se distribuyeron en pocillos para maximizar la clonalidad y se cultivaron usando técnicas convencionales. Después del cultivo, los sobrenadantes de hibridoma se exploraron frente al clon celular del receptor de glucagón enriquecido 1004 y las líneas celulares parentales AM1D usando FMAT. Los aglutinantes específicos de GCGR se confirmaron posteriormente por análisis FACS con anticuerpo anti-IgG humana marcado con FITC (conjugado con isotiocianato de fluoresceína). Los clones de hibridoma que contenían los anticuerpos monoclonales específicos de receptores se expandieron de acuerdo con los protocolos descritos en el documento US 2005/0118643 y otras referencias indicadas anteriormente. Los sobrenadantes se ensayaron para determinar la inhibición de la producción de AMPc inducida por glucagón como se describe más adelante. Los clones de hibridoma que contenían el anticuerpo antagonista se clonaron en células sencillas y se expandieron para ensayo posterior. Después, los anticuerpos se purificaron como se describe más adelante y los anticuerpos purificados de estos clones sencillos se ensayaron de nuevo después para determinar la actividad neutralizante.

Los anticuerpos se purificaron de los medios de los hibridomas acondicionados usando resina Mab Select (GE Healthcare). Se añadieron 100 µl de una suspensión de resina Mab Select 1:2 equilibrada en PBS a entre 7 y 10 ml de medio acondicionado (MA). Los tubos se colocaron en rotadores a 4-8 °C durante una noche. Los tubos se centrifugaron a 1.000 Xg durante 5 minutos y la fracción no unida se decantó. La resina se lavó con 5 ml de PBS, se centrifugó y se decantó, como se ha indicado anteriormente. La resina se transfirió después a un tubo SPIN-X, 0,45 µm, 2 ml. La resina se lavó dos veces más con 0,5 ml de PBS y se centrifugó. Los anticuerpos monoclonales se eluyeron con 0,2 ml de ácido acético 0,1 M incubando a temperatura ambiente con mezclado ocasional durante 10 minutos. Los tubos se centrifugaron y al eluato se añadieron 30 µl de tampón Tris 1 M, pH 8,0. Los anticuerpos purificados se conservaron a 4-8 °C.

Ejemplo 4: Caracterización *in vitro* de anticuerpos

Ensayos de unión de anticuerpo/receptor: ELISA basado en células completas

Células CHO que sobreexpresaban GCGR (clon 1004) y células parentales (AM1D) se sembraron en microplacas hasta una confluencia del 90 %. Las células se bloquearon con BSA y se incubaron con los sobrenadantes de hibridomas a 4 °C durante 90 minutos. Después de un lavado intensivo, las células se incubaron con anticuerpo de detección anti-Fc de IgG murino de cabra conjugado con HRP (Pierce) y se lavaron tres veces. Se añadieron 50 µl/pocillo de sustrato TMB (KPL) y se dejó incubar a TA durante 5-10 minutos. La reacción se detuvo con la adición de 50 µl de H₂SO₄ 0,5 N y la placa se leyó a 450 nm en un Spectramax (Molecular Devices). Los sueros de ratones inmunizados con membranas GCGR se usaron como controles positivos y los medios en solitario como control de fondo.

Ensayos de unión anticuerpo/receptor: FMAT

Células CHO que sobreexpresaban GCGR (clon 1 004) se sembraron en micoplacas de 96 pocillos, de paredes negras y fondo transparente (Applied Biosystems) a una densidad de sub-confluencia (50-60 %) y se incubaron con los sobrenadantes de hibridoma a temperatura ambiente durante 60 minutos. Se registraron las imágenes celulares y las cantidades de fluorescencia de unión a células después de incubación con anticuerpo secundario marcado con azul FMAT (anti-IgG humana de cabra, Applied Biosystems) usando el sistema de detección celular 8200 (Applied Biosystems).

Ensayo funcional basado en células

Los anticuerpos anti-receptor de glucagón se ensayaron para determinar su actividad neutralizante en un ensayo funcional basado en células usando líneas celulares funcionales estables. Se transfectaron construcciones de expresión (pcDNA3.1, Invitrogen) que contenían los ADNc de GCGR de ser humano, ratón, rata, mono cinomolgo o rata (los ADNc que codifican las SEC ID Nos: 2, 4, 6, 8 respectivamente) en células CHO K1 respectivamente estableciendo líneas celulares estables. Las líneas celulares funcionales finales que expresaban GCGR de las

especies anteriormente mencionadas eran células sencillas clonadas de los grupos transfectados y se ensayaron para determinar la producción de AMPc estimulada por glucagón. Basándose en la CE_{50} de cada línea individual, se seleccionaron líneas celulares de ensayo final y se depositaron en un banco para usos futuros.

- 5 Se usó el siguiente protocolo para determinar la K_b , o la constante de disociación de la unión de anticuerpo, calculada mediante análisis de Schild en base al cambio de una curva de respuesta a la dosis en presencia de un antagonista, en un ensayo de unión competitiva. El uso del análisis de Schild se describe por Lazaño et al, Br. J. Pharmacol. 109 (4): L 110-9 (1993). Este ensayo está adaptado a partir del uso de pequeñas moléculas para usar con anticuerpos en el presente documento. Tanto el sobrenadante de hibridoma como los anticuerpos purificados se
10 ensayaron usando el siguiente protocolo.

- Se usó el kit HTRF (Fluorescencia Homogénea Resuelta en Tiempo)-AMPc Dinamic de Cisbio para el ensayo funcional. Primero se exploraron los sobrenadantes de hibridoma de los clones que mostraban unión específica al GCGR humano en el ensayo de unión usando un ensayo funcional. Después los anticuerpos se purificaron del
15 medio acondicionado con hibridoma y volvieron a ensayarse para determinar los valores K_b y CI_{50} . Los anticuerpos que eran antagonistas de glucagón, capaces de inhibir la producción de AMPc después de la estimulación con glucagón podían identificarse usando este proceso.

- La línea celular funcional estable seleccionada como se ha descrito anteriormente se sembró en placas de 96 semi-pocillos. El anticuerpo GCGR se añadió en los pocillos y se incubó a 37 °C durante 20 minutos seguido por la adición de glucagón (Calbiochem) e incubación a 37 °C durante 15 minutos más. Después de añadir el conjugado-AMPc en
20 tampón de lisis y después anti-AMPc-criptato (anticuerpo contra AMPc conjugado con criptato) en los pocillos, la placa se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora antes de leer con RubyStar (lector de microplaca fluorescente de BMG Labtech).

- 25 Los anticuerpos purificados se ensayaron inicialmente a una concentración de 2 μ M con la línea celular GCGR humana funcional. Las células se estimularon con glucagón 50 pM y los anticuerpos que mostraron fuerte actividad inhibitoria se seleccionaron para la determinación de CI_{50} , que se define como la concentración de anticuerpo necesaria para inhibir la mitad de la respuesta máxima sobre la línea basal. Los anticuerpos se ensayaron a partir de
30 una concentración 1 μ M y seguido de una dilución secuencial en serie secuencial con factor 2. La curva de respuesta a la dosis se representó gráficamente y la CI_{50} se determinó usando el programa informático GraphPad Prism. Se seleccionaron anticuerpos con el valor de CI_{50} bajo para el GCGR humano y adicionalmente se ensayaron para determinar actividades de receptores de especies cruzadas usando las líneas celulares apropiadas.

- 35 CI_{50} de anticuerpos humanos en ensayos funcionales

CI_{50} (nM)				
Anticuerpo	Ser humano	Mono cinomolgo	Murino	Rata
A-3	9,1	22,5	4,9	13,5
A-4	18,1	52,1	10,1	17,2
A-9	7,4	26,6	4,1	9,9

- Para determinar la fuerza relativa de los anticuerpos anti-GCGR humanos través de diferentes especies, se realizó análisis de Schild para cada uno de los anticuerpos seleccionados. Resumiendo, los anticuerpos se ensayaron a
40 diferentes concentraciones, de 100 nM a 10 fM, en presencia de una dilución en serie de glucagones. Las curvas de respuesta a la dosis de glucagón a diferentes concentraciones de anticuerpos se representaron gráficamente usando el programa informático GraphPad Prism. Se calculó el valor de pA2, que es el logaritmo negativo de la concentración de anticuerpo necesaria para producir un desplazamiento a la derecha de 2 veces de la curva de respuesta a la dosis de glucagón, para el anticuerpo. Cuando la pendiente de Schild equivale a 1, pA2 equivale a
45 pKb, la constante de disociación del anticuerpo de unión. Entonces, K_b derivaba del anti-log de pKb y puede usarse directamente para comparar la fuerza relativa de los anticuerpos individuales a través de las especies.

Se ensayaron anticuerpos adicionales para determinar su actividad contra el GCGR humano.

Anticuerpo	CI_{50} (nM)
A-1	15,0
A-2	10,1
A-5	13,3

Anticuerpo	Cl ₅₀ (nM)
A-6	32,2
A-7	8,8
A-8	10,4
A-10	Sin actividad
A-11	16,7
A-12	21,3
A-13	72,6
A-14	457,5
A-15	11,3
A-16	Sin actividad
A-17	Sin actividad
A-18	203,7
A-19	Sin actividad
A-20	Sin actividad
A-21	47,2
A-22	7,2
A-23	Sin actividad

Valores Kb determinados por análisis Schild

	Kb (nM)			
	Ser humano	Mono cinomolgo	Murino	Rata
A-3	1,6	5,0	0,5	3,2
A-4	1,76	5,7	0,88	ND

5 Ejemplo 5: Expresión recombinante y purificación de anticuerpos

Desarrollo de anticuerpos que expresan líneas celulares estables

- Se diseñaron cebadores PCR para capturar la pauta abierta de lectura de la cadena ligera completa y el péptido señal y la región variable de la pauta abierta de lectura de la cadena pesada basándose en las secuencias de ADN de cada anticuerpo proporcionado por Abgenix. La cadena ligera completa y el péptido de señal de cadena pesada y la región variable más la región constante de IgG2 humana se ligaron en los vectores de expresión pDC323 y pDC324 respectivamente.
- 15 Como ejemplo de los grupos de cebadores de la PCR; el cebador de la cadena ligera de A-9 en posición 5' fue 4337-12 (5'-AAG CTC GAG GTC GAC TAG ACC ACC ATG ATG GAC AGG GTC CCC GCT CAG CTC CTG-3') (SEC ID N°: 313) que contiene el sitio de restricción enzimática Sall, un codón de terminación en fase, la secuencia Kozak y codifica los aminoácidos MDMRVPAQLL (SEC ID N°: 314) y el cebador en posición 3' 3250-80 (5'-AAC CGT TTA AAC GCG CCG TCG CAA CAC TCT CCC CTG TTG AA-3') (SEC ID N°: 315) que contiene el sitio de restricción enzimática NotI, el codón de terminación y codifica los aminoácidos FNRGEC (SEC ID N°: 316). El
- 20 cebador de la cadena pesada de A-9 en posición 5' fue 3444-34 (5'-AAG CTC GAG GTC GAC TAG ACC ACC ATG GAG TTT GGG CTG CAG TGG GTT TTC-3') (SEC ID N°: 317) que contiene el sitio de restricción enzimática Sall, un codón de terminación en fase, la secuencia Kozak y codifica los aminoácidos MEFGLSWVF (SEC ID N°: 318), el
- 25 cebador del punto de unión de la región variable de cadena pesada de A-9/cadena IgG2 (+) 4341-29 (5'-GAC CAC CAC CGT GGT CTC CTC AGC CTC CAC CAA CCC GGG ATC GGT CTT-3') (SEC ID N°: 319) y su cebador de cadena complementaria (-) 4341-30 (5'-AAG ACC GAT GGG CCC TTG GTG GAG GCT GAG GAG ACG GTG ACC GTG GTC-3') (SEC ID N°: 320) que codifica los aminoácidos GTTVTVSSASTKGPSVF (SEC ID N°: 321) y el
- 30 cebador en posición 3' 3250-79 (5'-AAC CGT TTA AAC GCG CCG TCG CAT TTA CCC GGA GAC AGG GA-3') (SEC ID N°: 322) que contiene el sitio de restricción enzimática NotI, el codón de terminación y codifica los aminoácidos SLSPGK (SEC ID N°: 323).

Las células hospedadoras CHO usadas para la transfección del plásmido (o plásmidos) de expresión anti-GCGR son una línea celular CHO derivada de células DXB-11 (Urlaub et al, PNAS US 77:4126-4220, (1980)) mediante adaptación a medio asérico (Rasmussen et al, Cytotechnology 28:31-42, 1998).

- 5 Se crearon líneas celulares anti-GCGR transfectando células hospedadoras con los plásmidos de expresión pDC323-anti-GCGR kappa y pDC324-[anti-GCGR-IgG2] usando un procedimiento de electroporación convencional. Después de la transfección de la línea celular hospedadora con los plásmidos de expresión las células se cultivaron en medio de selección (sin GHT) que contenía suero bovino fetal dializado al 4 % (ds o dfFBS) durante 2-3 semanas para permitir la selección del plásmido y recuperar las células. Después se retiró el suero del medio y las células se
- 10 cultivaron en medio selectivo con GHT hasta conseguir una viabilidad > 85 %. Este grupo de células transfectadas se cultivó después en medio que contenía 150 nM de MTX.

Clonación de línea celular

- 15 Se preparó un banco de células de clones seleccionados de acuerdo con el siguiente procedimiento. La etapa de clonación garantizó que las poblaciones clonales y los bancos celulares se generasen permitiendo un rendimiento reproducible en la elaboración comercial. Un grupo amplificado de células que expresaban anticuerpos se sembró a dilución limitante en placas de 96 pocillos, y en estudios realizados a pequeña escala se evaluó el crecimiento y el rendimiento productivo de los clones candidatos.

20 Ejemplo 6: Actividad *in vivo* en ratones ob/ob

- Ratones ob/ob macho de 12 semanas de vida (Jackson Laboratories, Bar Harbor, Maine) recibieron una inyección IP de tampón o de anticuerpo 3 o 4 a la dosis de 1 o 3 mg/kg (n = 8-10/grupo). La glucosa en sangre se midió al
- 25 momento 0 y 24, 48, 72, 96, 120, 144, 192 y 240 horas después de una sola inyección de anticuerpo. La glucosa en sangre disminuyó con el anticuerpo 3 durante 8 días a una dosis de 3 mg/kg de anticuerpo como se muestra en la Figura 1.

- De manera similar, ratones ob/ob macho 12 semanas de vida (Jackson Laboratories, Bar Harbor, Maine) recibieron
- 30 una inyección IP de tampón o de anticuerpo 3 o 9 a la dosis de 1 o 3 mg/kg (n = 8-10/grupo). La glucosa en sangre se midió el momento 0 y 24, 72, 120, 192 y 240 horas después de una sola inyección de anticuerpo. La glucosa en sangre disminuyó con el anticuerpo 3 y 9 durante 8 días a una dosis de 3 mg/kg de anticuerpo como se muestra en la Figura 2.

35 Ejemplo 7: Eficacia *in vivo* en monos cinomolgo macho normales

- Se evaluó la eficacia de una sola dosis subcutánea (SC) del anticuerpo A-9 en monos cinomolgo macho en el Yunnan Primate Center (Yunnan, China). Se realizaron ensayos de tolerancia a glucosa (GTT, *Glucose Tolerance Test*) en los monos ensayando la eliminación de glucosa de la sangre después de exponerlos a una dosis de
- 40 glucosa oral. Como se observa en la Figura 3, los datos GTT se presentan como ABC (área bajo la curva), representando la eliminación de la glucosa midiendo la cantidad de glucosa en sangre a los 0, 30 y 90 minutos después de la exposición. Como se muestra en la Figura 3, la dosis previa GTT1 se administró de manera escalonada comenzando 24 días antes de la administración del anticuerpo, la dosis previa GTT2 se administró de manera escalonada comenzando 17 días antes de una sola dosis. El anticuerpo se administró a 30 monos
- 45 cinomolgo macho en forma de una sola inyección subcutánea (SC) de un total de 3 o 30 mg/kg de anticuerpo A-9 o un control. GTT3 se administró a los monos 3 días después de la inyección, GTT4 se administró 8 días después de la inyección, y GTT5 se administró 17 días después de la inyección. Los resultados, mostrados en la Figura 3, fueron que, una sola inyección SC de 3 o 30 mg/kg del anticuerpo 9 mejoraba la eliminación de glucosa durante un ensayo de tolerancia a glucosa.

50 Ejemplo 8: Ensayos de unión competitiva

- Varios de los anticuerpos de la presente invención se clasificaron usando un ensayo de unión competitiva para determinar cuáles eran los anticuerpos que competían en cruzado por la unión con un anticuerpo anti-GCGR de
- 55 referencia marcado. Como un rastreador, el anticuerpo A-3 se marcó con colorante fluorescente Alexa (Molecular Probes/Invitrogen, Carlsbad, CA) preparado siguiendo las instrucciones del fabricante. Cada anticuerpo se ensayó a través de un intervalo de dosis para determinar su capacidad de competir con el anticuerpo A-3 marcado, fijado a una concentración 1 nM, por la unión al receptor GCGR humano expresado en células CHO (como se ha descrito anteriormente). La intensidad de fluorescencia se midió por FMAT, como se describe en el Ejemplo 4, y se calculó el
- 60 grado de inhibición de unión de A-3, marcado con Alexa, al receptor. En base a estos análisis se establecieron tres categorías de grupos de anticuerpos: anticuerpos superables, parcialmente superables y no superables, cuando competían con A-3 marcado con Alexa. Los anticuerpos superables podían competir por la unión con A-3, mientras que los anticuerpos no superables no podían competir en cruzado y parecían tener diferentes sitios de unión en el GCGR humano. Los anticuerpos parcialmente superables tenían cierto solapamiento del sitio de unión con A-3. Esto
- 65 se muestra en las Figuras 4-6. Los anticuerpos ensayados y que se encontró que podían competir por la unión con

A-3 marcado con Alexa (superables) fueron A-11, A-2, A-7, A-12, A-17, A-6, A-8, A- 15 y A-5. Los anticuerpos ensayados y que se encontró que solo podían competir parcialmente por la unión con A-3 marcado con Alexa (parcialmente superables) fueron A-16, A-14, A-20 y A-23. Los anticuerpos ensayados y que se encontró que no podían competir por la unión con A-3 marcado con Alexa fueron A-19 y A-10. Se observó que todos o la mayor parte de los anticuerpos superables mostraban actividad inhibitora en el ensayo basado en células (CI50) mientras que los anticuerpos parcialmente superables y no superables no mostraban actividad usando este ensayo.

Ejemplo 9: Construcción de receptores quiméricos

El GCGR humano es más homólogo al receptor de GLP-1 humano y ambos pertenecen a la familia B de GPCR (receptores acoplados a proteína G) con 3 pares de cisteínas en la sección N terminal de los receptores. Para determinar la región o el sitio sobre el GCGR humano al cual se unirán los anticuerpos humanos sometidos a ensayo y determinar la importancia de conformación mantenida por los tres pares de cisteínas que forman enlaces disulfuro entre sí, se generaron construcciones de receptores quiméricos múltiples entre el GCGR humano y el GLP-1R humano (GLP-1R, número de registro NP_002053) y se expresaron en células. Esto se muestra en la Figura 7. Las secuencias de la quimera del GCGR humano se indican en la Figura 7. Por ejemplo, en la quimera 4 mostrada en la parte superior de la figura, los aminoácidos 1-142 son del GCGR humano y los restantes del receptor de GLP-1. La quimera 4 contiene los tres pares de cisteínas intactos. En la quimera 4 se introdujeron mutaciones puntuales en cisteínas emparejadas (Cys 1-3, Cys 2-5 o Cys 4-6) de tal manera que cada una de las tres quimeras posteriores, quimera-4 1CA, 3CA; 4 2CA, 5CA, y 4 4CA, 6CA tenía uno de los pares de cisteína alterado. La quimera 7 tiene los aminoácidos 1-79 del GCGR humano; la quimera 8 tiene los aminoácidos 80-477 del GCGR humano; la quimera 10 tiene los aminoácidos 80-142 del GCGR humano; la quimera 15 tiene los aminoácidos 80-119 del GCGR humano; la quimera 19 tiene los aminoácidos 1-119 y 143-477 del GCGR humano. La expresión de receptor de superficie celular se controló mediante fusión C terminal en fase de la proteína fluorescente. La unión del anticuerpo con el receptor quimérico específico se midió directamente por FMAT con el anticuerpo A-3 de referencia marcado con Alexa. Como se muestra en la Figura 7, todos los anticuerpos ensayados en el presente documento requieren el extremo N del GCGR humano (aminoácido 1-142) para la unión. Los anticuerpos A-18, A-21 y A-10 se comportan de manera similar ya que solo presentan unión en la quimera 4 con los tres pares de cisteínas intactos. Esto indica un epítipo conformacional para estos anticuerpos. Para el anticuerpo A-3, la secuencia de los aminoácidos 80 a 119 del GCGR humano, es necesaria y lo bastante suficiente para la unión de anticuerpos. Además, se demostró que los aminoácidos 120-142 del GCGR humano no eran necesarios para la unión de A-3. Por otro lado, para el anticuerpo A-3, la conformación se mantenía por el 2º y 3º par (Cys 2-5, Cys 4-6), pero no por el 1º par de cisteínas. Por lo tanto, el área del receptor con la que el anticuerpo A-3, y todos los anticuerpos que reaccionan en cruzado con A-3, se une al GCGR humano, está dentro de los aminoácidos Ser80 a Ser119 del GCGR humano.

El ámbito de la presente invención no debe limitarse a las realizaciones específicas descritas en el presente documento, que solo pretenden ser ilustraciones de aspectos individuales de la invención e incluir métodos funcionalmente equivalentes y componentes de la invención. De hecho, diversas modificaciones de la invención, además de las mostradas y descritas en el presente documento, serán obvias para los expertos en la materia a partir de la anterior descripción y dibujos acompañantes. Dichas modificaciones pretenden incluirse dentro del ámbito de las reivindicaciones adjuntas.

LISTADO DE SECUENCIAS

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

<120> COMPOSICIONES Y MÉTODOS RELACIONADOS CON ANTICUERPOS DEL RECEPTOR DE GLUCAGÓN

<130> A-1133-WO-PCT

<140> A asignar

<141> 19-09-2007

<150> 60/846.202

<151> 20-09-2006

<150> 60/968.977

<151> 30-08-2007

<160> 324

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

5 <211> 1519

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 1

```

gtgcagcccc tgccagatgt gggaggcagc tagctgcca gaggcattgcc cccctgccag      60
ccacagcgac cccctgctgct gttgctgctg ctgctggcct gccagccaca ggtcccctcc      120
gctcaggtga tggacttcct gtttgagaag tggaagctct acggtgacca gtgtcaccac      180
aacctgagcc tgctgcccc tccacaggag ctggtgtgca acagaacctt cgacaagtat      240
tctgctggc cggacacccc cgccaatacc acggccaaca tctcctgcc ctggtacctg      300
ccttggcacc acaaagtgc acaccgcttc gtgttcaaga gatgcggggc cgacgggtcag      360
tggtgtcgtg gaccccgagg gcagccttgg cgtgatgcct cccagtgcc gatggatggc      420
gaggagattg aggtccagaa ggaggtggcc aagatgtaca gcagcttcca ggtgatgtac      480
acagtgggct acagcctgtc cctggggggc ctgctcctcg ccttggccat cctggggggc      540
ctcagcaagc tgactgcac ccgcaatgcc atccacgca atctgtttgc gtccttcgtg      600
ctgaaagcca gtcctgtgct ggtcattgat gggctgctca ggaccgcta cagccagaaa      660
attggcgacg acctcagtgt cagcacctgg ctcatgtatg gagcgggtggc tggtgcccgt      720
gtggccgagg tggtcatgca atatggcatc gtggccaact actgctggct gctgggtggag      780
ggcctgtacc tgcacaacct gctgggcctg gccaccctcc ccgagaggag cttcttcagc      840
ctctacctgg gcatcggtg gggtgcccc atgctgttcg tctccctg ggcagtggtc      900
aagtgtctgt tcgagaacgt ccagtgtggt accagcaatg acaacatggg cttctgggtg      960
10 atcctgcggg tccccgtctt cctggccatc ctgatcaact tcttcattt cgtccgcac      1020
gttcagctgc tctgtggcaa gctgcgggca cggcagatgc accacacaga ctacaagttc      1080
cggctggcca agtccacgt gaccctcatc cctctgctgg gctccacga agtggctctc      1140
gccttcgtga cggacgagca cggccagggc accctgcgct ccgccaagct cttcttcgac      1200
ctcttcctca gtccttcca gggcctgctg gtggctgtcc tctactgctt cctcaacaag      1260
gagggtgcagt cggagctgcg gcggcggttg caccgctggc gctgggcaa agtgctatgg      1320
gaggagcgga acaccagcaa ccacagggcc tcactcttgc ccggccacgg cctcccagc      1380
aaggagctgc agtttgggag ggggtgggtg agccaggatt catctgcgga gaccccttg      1440
gctgggtggc tccctagatt ggctgagagc ccttctgaa cctgctggg accccagcta      1500
gggctggact ctggcacc      1519

```

<210> 2

<211> 477

15 <212> PRT

ES 2 444 012 T3

<213> Homo sapiens

<400> 2

```

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Tyr  Thr  Val  Gly  Tyr  Ser  Leu  Ser  Leu  Gly  Ala  Leu  Leu  Leu  Ala  Leu

```

ES 2 444 012 T3

145		150		155		160
Ala Ile Leu Gly Gly Leu Ser Lys Leu His Cys Thr Arg Asn Ala Ile	165		170		175	
His Ala Asn Leu Phe Ala Ser Phe Val Leu Lys Ala Ser Ser Val Leu	180		185		190	
Val Ile Asp Gly Leu Leu Arg Thr Arg Tyr Ser Gln Lys Ile Gly Asp	195		200		205	
Asp Leu Ser Val Ser Thr Trp Leu Ser Asp Gly Ala Val Ala Gly Cys	210		215		220	
Arg Val Ala Ala Val Phe Met Gln Tyr Gly Ile Val Ala Asn Tyr Cys	225		230		235	240
Trp Leu Leu Val Glu Gly Leu Tyr Leu His Asn Leu Leu Gly Leu Ala	245		250		255	
Thr Leu Pro Glu Arg Ser Phe Phe Ser Leu Tyr Leu Gly Ile Gly Trp	260		265		270	
Gly Ala Pro Met Leu Phe Val Val Pro Trp Ala Val Val Lys Cys Leu	275		280		285	
Phe Glu Asn Val Gln Cys Trp Thr Ser Asn Asp Asn Met Gly Phe Trp	290		295		300	
Trp Ile Leu Arg Phe Pro Val Phe Leu Ala Ile Leu Ile Asn Phe Phe	305		310		315	320
Ile Phe Val Arg Ile Val Gln Leu Leu Val Ala Lys Leu Arg Ala Arg	325		330		335	
Gln Met His His Thr Asp Tyr Lys Phe Arg Leu Ala Lys Ser Thr Leu	340		345		350	
Thr Leu Ile Pro Leu Leu Gly Val His Glu Val Val Phe Ala Phe Val	355		360		365	
Thr Asp Glu His Ala Gln Gly Thr Leu Arg Ser Ala Lys Leu Phe Phe	370		375		380	
Asp Leu Phe Leu Ser Ser Phe Gln Gly Leu Leu Val Ala Val Leu Tyr	385		390		395	400
Cys Phe Leu Asn Lys Glu Val Gln Ser Glu Leu Arg Arg Arg Trp His						

405

410

415

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

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

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

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

<210> 3

<211> 1880

5 <212> ADN

<213> Mus musculus

<400> 3

cgcgaggagc gcagccctag ccccggcgac tgagcacacc tgaggagagg tgcacacact	60
ctgaggacct aggtgtgcaa cctctgccag atgtggggcg tggctaccca gaggcattgcc	120
cctcaccacag ctccactgtc cccacctgct gctgctgctg ttggtgctgt catgtctgcc	180
agaggcacc cctgcccagg taatggactt ttgttttgag aagtggaagc tctatagtga	240
ccaatgccac cacaacctaa gcctgctgcc cccacctact gagctggctc gtaacagaac	300
cttcgacaag tactcctgct ggcttgacac cctcccaac accactgcca acatttcctg	360
cccctggtac ctaccttggt accacaaagt gcagcaccgc ctagtggtca agagggtgtg	420
gcccgatggg cagtgggttc gagggccacg ggggcagccg tggcgcaacg cctcccaatg	480
tcagttggat gatgaagaga tcgaggtcca gaagggggtg gccaatgatg atagcagcca	540
gcaggtgatg tacaccgtgg gctacagtct gtccctgggg gccttgctcc ttgcgctggt	600
catcctgctg ggccctcagga agctgcactg caccggaaac tacatccatg ggaacctgtt	660
tgcgtccttt gtgctcaagg ctggctctgt gttggtcatc gattggctgc tgaagacacg	720
gtacagccag aagattggcg atgacctcag tgtgagcgtc tggctcagtg acggggcgat	780
ggccggctgc agagtggcca cagtgatcat gcagtaaggc atcatagcca actattgctg	840
gttgctggta gagggcgtgt acctgtacag cctgctgagc cttgccacct tctctgagag	900
gagcttcttt tccctctacc tgggcattgg ctgggggtgc cccctgctgt ttgtcatccc	960
ctgggtggtg gtcaagtgtc tgtttgagaa tgttcagtgc tggaccagca atgacaacat	1020
gggattctgg tggatcctgc gtattcctgt ctccctggcc ttactgatca atttttcat	1080
ctttgtccac atcattcacc ttcttgtggc caagctgcgt gccatcaga tgcaactatgc	1140
tgactataag ttccggctgg ccagggtccac gctgaccctc atccctctgc tgggggtcca	1200

cgagggtggtc tttgcctttg tgactgacga gcatgcccaa ggcaccctgc gctccaccaa 1260
gctctttttt gacctgttcc tcagctcctt ccagggtctg ctgggtggctg ttctctactg 1320
tttctcaac aaggagggtgc aggagagct gatgcggcgt tggaggcaat ggcaagaagg 1380
caaagctctt caggaggaaa ggttgccag cagccatggc agccacatgg cccagcagg 1440
gccttgtcat ggtgatccct gtgagaaact tcagcttatg agtgcaggca gcagcagtgg 1500
gactggctgt gtgccctcta tggagacctc gctggccagt agtctcccaa ggttggtga 1560
cagccccacc tgaatctcca ctggagccta gccaggctgc gttcagaaag ggcctcagag 1620
gacaaccag agccagatgc ccggccaagg ctgaagagac aaagcagcaa gacagcagct 1680
tgtactgtgc aactccct aacctgtcct agcctggcac aggccacagt gacagagtag 1740
gggttgata tgatggagaa gccatgttat ctatgaactc tgagtgttcc catgtgtgtt 1800
gacatggctc ctgtaccag atatgtcctt cagtaaaaag ctcgagtggg agctgtgca 1860
caaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1880

<210> 4

<211> 485

5 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 4

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

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

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

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

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

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

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

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

ES 2 444 012 T3

Ile Glu Val Gln Lys Gly Val Ala Lys Met Tyr Ser Ser Gln Gln Val
 130 135 140
 Met Tyr Thr Val Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Gly Ala Leu Leu Leu Ala
 145 150 155 160
 Leu Val Ile Leu Leu Gly Leu Arg Lys Leu His Cys Thr Arg Asn Tyr
 165 170 175
 Ile His Gly Asn Leu Phe Ala Ser Phe Val Leu Lys Ala Gly Ser Val
 180 185 190
 Leu Val Ile Asp Trp Leu Leu Lys Thr Arg Tyr Ser Gln Lys Ile Gly
 195 200 205
 Asp Asp Leu Ser Val Ser Val Trp Leu Ser Asp Gly Ala Met Ala Gly
 210 215 220
 Cys Arg Val Ala Thr Val Ile Met Gln Tyr Gly Ile Ile Ala Asn Tyr
 225 230 235 240
 Cys Trp Leu Leu Val Glu Gly Val Tyr Leu Tyr Ser Leu Leu Ser Leu
 245 250 255
 Ala Thr Phe Ser Glu Arg Ser Phe Phe Ser Leu Tyr Leu Gly Ile Gly
 260 265 270
 Trp Gly Ala Pro Leu Leu Phe Val Ile Pro Trp Val Val Val Lys Cys
 275 280 285
 Leu Phe Glu Asn Val Gln Cys Trp Thr Ser Asn Asp Asn Met Gly Phe
 290 295 300
 Trp Trp Ile Leu Arg Ile Pro Val Phe Leu Ala Leu Leu Ile Asn Phe
 305 310 315 320
 Phe Ile Phe Val His Ile Ile His Leu Leu Val Ala Lys Leu Arg Ala
 325 330 335
 His Gln Met His Tyr Ala Asp Tyr Lys Phe Arg Leu Ala Arg Ser Thr
 340 345 350
 Leu Thr Leu Ile Pro Leu Leu Gly Val His Glu Val Val Phe Ala Phe
 355 360 365
 Val Thr Asp Glu His Ala Gln Gly Thr Leu Arg Ser Thr Lys Leu Phe
 370 375 380

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

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

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

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

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

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

Ala Asp Ser Pro Thr
485

<210> 5

<211> 1875

5 <212> ADN

<213> Rattus norvegicus

<400> 5

gaattcgcgg ccgccgcgg gcccagatc ccagtgcgcg aggagcccag tcctagaccc	60
agcaacctga ggagaggtgc acacaccccc aaggaccag gcaccaacc tctgccagat	120
gtgggggggt ggctaccag aggcattgct ctcaccagc tccactgtcc ctacctgtg	180
ctgctgctgg tgggtgctgc atgtctgcca aaggcaccct ctgccaggt aatggacttt	240
ttgtttgaga agtggaaagt ctatagtgc cagtgccacc acaacctaa cctgctgccc	300
ccacctactg agctggctgc caacagaact ttgcacaagt actcctgctg gcctgacacc	360
cctcccaaca ccaactgcaa catttcctgc ccctgggtacc taccttggtg ccacaaagt	420
cagcaccgcc tagtggtcaa gaggtgtggg cctgatgggc agtgggttcg agggccacgg	480
gggcagtcac ggccgcacgc ctcccaatgt cagatggatg atgacgagat cgaggtccag	540
aagggggtag ccaagatgta tagcagctac caggtgatgt aactgtggg ctacagtctg	600
tcctggggg ccttgctcct ggccgtgggc atcctgctgg gcctcaggaa gctgcaactgc	660
accgggaact acatccacgg gaacctgttc gcgtccttcg tgctcaaggc tggctctgtg	720
ctggtcattg attggctgct caagacacgc tatagccaga agattggaga tgacctcagt	780
gtgagcgtct ggctcagtga tggggcggtg gctggctgca gactggccac agtgatcatg	840
cagtacggca tcatagccaa ctactgctgg ttgctgggtg aggggtgtga cctgtacagc	900

ctgctgagca tcaccacctt ctgggagaag agcttcttct ccctctatct gtgcatcggc 960
 tggggatctc ccotgctgtt tgtcatcccc tgggtggtgg tcaagtgtct gtttgagaat 1020
 gtccagtgtc ggaccagcaa tgacaatatg ggattctggt ggatcctgcy tatccctgta 1080
 ctccctggcca tactgatcaa ttttttcac tttgtccgca tcattcatct tcttgtggcc 1140
 aagctgcgtg cccatcagat gcactatgct gattacaagt tccggctagc cagggtccacg 1200
 ctgaccctca ttccctctgtc gggagtccac gaagtgggtc ttgcctttgt gactgatgag 1260
 catgcccagg gcaccctgcy ctccaccaag ctcttttttg acctgttctt cagctccttt 1320
 caggggtctgc tgggtggtgt tctctactgt ttctcaaca aggaggtgca ggcagagcta 1380
 ctgcccgcgtt ggaggcgatg gcaagaaggc aaagctcttc aggaggaaag gatggccagc 1440
 agccatggca gccacatggc cccagcaggg acttgtcatg gtgatccctg tgagaaactt 1500
 cagcttatga gtgcaggcag cagcagtggg actggctgtg agccctctgc gaagacctca 1560
 ttggccagta gtctcccaag gctggctgac agccccacct gaatctccac tggactccag 1620
 ccaagttgga ttcagaaaag gcctcacaag acaaccaga aacagatgcc tggccaaggc 1680
 tgaagaggca aagcagcaag acagcagctt gtactatcca cactccccta acctgtcctg 1740
 gccgggtaca ggccacattg atggagtagg ggctggatat gatggagtag ccattgctatg 1800
 aactatgggt gtcccatga gtgttgccat gtccatgca cacagatatg accttcagta 1860
 aagagctccc gtagg 1875

<210> 6

<211> 485

5 <212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 6

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala Asp Ser Pro Thr
 485

<210> 7

<211> 1434

5 <212> ADN

<213> Macaca fascicularis

<400> 7

atgccccct gtcagccacg togaccctg ctactgttgc tgctgctgct ggccctgccag	60
ccacaggccc cctccgctca ggtgatggac ttctgtttg agaagtggaa actctacggt	120
gaccagtgtc accacaacct gagcctgctg cccccccca cggagctggt ctgtaacaga	180
accttogaca agtattcctg ctggccagac acccccgcca ataccacagc caacatctcc	240
tgccccctggt acctgccttg gcaccacaaa gtgcaacacc gcttcgtgtt caagagatgc	300
gggcccgatg gtcagtgggt gcgtggaccc cgggggcagc cttggcgtga cgctctcag	360
tgccagatgg acggcgagga gcttgaggtc cagaaggagg tggctaagat gtacagcagc	420
ttccagggtga tgtacacggt gggctacagc ctgtccctgg gggccctgct cctcgccctg	480
gccatcctgg ggggcatcag caagctgcac tgcaccgca acgccatcca cgcgaacctg	540
tttgtgtcct tcgtgctgaa ggccagctcc gtgctgggtc tcgatgggct gctcaggacc	600
cgtacagcc agaagattgg cgacgacctc agtgtcagca tctggctcag tgatggagcg	660

gtggccggct gccgtgtggc cgcgggtgtc atgcaatatg gcgtcgtggc caactactgc 720
 tggctgtctg tggagggcct gtacctgcac aacctgctgg gcctggccac cctccctgag 780
 aggagcttct tcagcctcta cctgggcata ggctgggggtg ccccatgct gttcatcatc 840
 ccctgggtgg tggtcagggt tctgttcgag aacatccagt gctggaccag caatgacaac 900
 atgggcttct ggtggatcct gcggttcccc gtcttcctgg ccatcctgat caacttcttc 960
 atcttcatcc gcattgttca cctgcttgtg gccaagctgc gggcgcgga gatgcaccac 1020
 acagactaca agttccgact ggccaagtcc aactgaccc tcacccccct gctgggtgtc 1080
 cacgaagtga tcttcgcctt cgtgacggac gagcacgcc agggcaccc ggccttcgcc 1140
 aagctcttct tcgacctctt cctcagctcc ttccagggcc tgctgggtggc tgcctctac 1200
 tgcttctca acaaggaggt gcagtcggaa ctccggcggc attggcaccg ctggcgctg 1260
 ggcaaagtgc tgcaggagga gcggggcacc agcaaccaca agaccccatc tgcgcctggc 1320
 caaggccttc ctggcaagaa gctgcagtct gggaggggtg gtggcagcca ggactcatct 1380
 gcggagatcc ccttggctgg tggcctccct aggttggctg agagcccctt ctga 1434

<210> 8

<211> 477

5 <212> PRT

<213> Macaca fascicularis

<400> 8

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Val Gln Lys Glu Val Ala Lys Met Tyr Ser Ser Phe Gln Val Met
 130 135 140
 Tyr Thr Val Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Gly Ala Leu Leu Leu Ala Leu
 145 150 155 160
 Ala Ile Leu Gly Gly Ile Ser Lys Leu His Cys Thr Arg Asn Ala Ile
 165 170 175
 His Ala Asn Leu Phe Val Ser Phe Val Leu Lys Ala Ser Ser Val Leu
 180 185 190
 Val Ile Asp Gly Leu Leu Arg Thr Arg Tyr Ser Gln Lys Ile Gly Asp
 195 200 205
 Asp Leu Ser Val Ser Ile Trp Leu Ser Asp Gly Ala Val Ala Gly Cys
 210 215 220
 Arg Val Ala Ala Val Phe Met Gln Tyr Gly Val Val Ala Asn Tyr Cys
 225 230 235 240
 Trp Leu Leu Val Glu Gly Leu Tyr Leu His Asn Leu Leu Gly Leu Ala
 245 250 255
 Thr Leu Pro Glu Arg Ser Phe Phe Ser Leu Tyr Leu Gly Ile Gly Trp
 260 265 270
 Gly Ala Pro Met Leu Phe Ile Ile Pro Trp Val Val Val Arg Cys Leu
 275 280 285
 Phe Glu Asn Ile Gln Cys Trp Thr Ser Asn Asp Asn Met Gly Phe Trp
 290 295 300
 Trp Ile Leu Arg Phe Pro Val Phe Leu Ala Ile Leu Ile Asn Phe Phe
 305 310 315 320
 Ile Phe Ile Arg Ile Val His Leu Leu Val Ala Lys Leu Arg Ala Arg
 325 330 335
 Glu Met His His Thr Asp Tyr Lys Phe Arg Leu Ala Lys Ser Thr Leu
 340 345 350
 Thr Leu Ile Pro Leu Leu Gly Val His Glu Val Ile Phe Ala Phe Val
 355 360 365
 Thr Asp Glu His Ala Gln Gly Thr Leu Arg Phe Ala Lys Leu Phe Phe
 370 375 380

ES 2 444 012 T3

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

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

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

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

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

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

<210> 9

<211> 51

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 9

aggtctagtc agagcctctt gtagatagat gatggagaca cctatttga c 51

10

<210> 10

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 10

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

Asp

<210> 11

20 <211> 51

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 11

25 aggtctagtc agagcctctt gtagatgtct gatggagaca cctatttga c 51

<210> 12

<211> 17

<212> PRT

30 <213> Homo sapiens

<400> 12

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Ala Asp Gly Asp Thr Tyr Leu
1 5 10 15

Asp

35

<210> 13-
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 13
 cgggcaagtc agggcattag aaatgattta ggc 33
 <210> 14
 10 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 14
 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly
 1 5 10
 15 <210> 15
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 20 <400> 15
 agggccagtc agagtgttag cagcaactac ttagcc 36
 <210> 16
 25 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 16
 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn Tyr Leu Ala
 1 5 10
 30 <210> 17
 <211> 33
 <212> ADN
 35 <213> Homo sapiens
 <400> 17
 cgggcaagtc aggcattag aaatgatttt ggc 33
 40 <210> 18
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45 <400> 18
 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Asp Phe Gly
 1 5 10
 <210> 19
 <211> 51
 50 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 <400> 19
 gggctctact agagcctctt ggatagtgat gatggagaca cctatttga c 51
 55 <210> 20
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 60

<400> 20

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

Asp

<210> 21

5 <211> 33

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 21

10 caggcgagtc aggacattag taagtattta aat 33

<210> 22

<211> 11

<212> PRT

15 <213> Homo sapiens

<400> 22

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn
1 5 10

20 <210> 23

<211> 33

<212> ADN

<213> Homo sapiens

25 <400> 23

tctggagata aattggggga taaatatgtt tgc

33

<210> 24

<211> 11

30 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

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

35

<210> 25

<211> 33

<212> ADN

<213> Homo sapiens

40

<400> 25

tctggagata aattggggga taaatatgct tgc

33

<210> 26

45 <211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

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

50

<210> 27

<211> 39

<212> ADN

55 <213> Homo sapiens

ES 2 444 012 T3

<400> 27
 acccgagca gtggcagcat tgtcagcaac ttgtgcaa 39
 <210> 28
 5 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 28
 Thr Arg Ser Ser Gly Ser Ile Val Ser Asn Phe Val Gln
 1 5 10
 10
 <210> 29
 <211> 39
 <212> ADN
 15 <213> Homo sapiens
 <400> 29
 actggaatca cctccaacat cggaagcaat actgtacac 39
 20 <210> 30
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25 <400> 30
 Thr Gly Ile Thr Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val His
 1 5 10
 <210> 31
 <211> 39
 30 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 <400> 31
 tctggaagca ggtccaacat cggaagtaat tatgtatac 39
 35
 <210> 32
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40
 <400> 32
 Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr Val Tyr
 1 5 10
 <210> 33
 45 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 <400> 33
 50 actgggagca gctccaacat cggggcaggt tatgctgtac ac 42
 <210> 34
 <211> 14
 <212> PRT
 55 <213> Homo sapiens
 <400> 34
 Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Ala Val His
 1 5 10

<210> 35
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 35
 aagtctagtc agagcctcct gcatagtgat ggaaagaact attgttt 48
 <210> 36
 10 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 36
 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asp Gly Lys Asn Tyr Leu Phe
 1 5 10 15
 15
 <210> 37
 <211> 48
 <212> ADN
 20 <213> Homo sapiens
 <400> 37
 aggtctagtc agagcctcct gcatagtaat ggatacaact attggat 48
 25 <210> 38
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30 <400> 38
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15
 <210> 39
 35 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 <400> 39
 40 cgggcaagtc agggcattag aaatgattta ggc 33
 <210> 40
 <211> 33
 <212> ADN
 45 <213> Homo sapiens
 <400> 40
 cgggcgagtc aggtattag cagctggta gcc 33
 50 <210> 41
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 55 <400> 41
 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
 1 5 10
 <210> 42
 <211> 21
 60 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 42
acgctttcct atcgggcctc t 21

<210> 43
5 <211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 43
Thr Leu Ser Tyr Arg Ala Ser
1 5
10

<210> 44
<211> 21
<212> ADN
15 <213> Homo sapiens

<400> 44
gctgcatcca gttgcaaag t 21

20 <210> 45
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

25 <400> 45
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 46
<211> 21
30 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 46
gctgcctcca gttgcaaag t 21

35 <210> 47
<211> 21
<212> ADN
<213> Homo sapiens

40 <400> 47
ggtgcatcca gcagggccac t 21

<210> 48
45 <211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 48
Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5
50

<210> 49
<211> 21
<212> ADN
55 <213> Homo sapiens

<400> 49
gctgcatcca gttggaaag t 21

60 <210> 50
<211> 7

<212> PRT
 <213> Homo sapiens

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

 <210> 51
 <211> 21
 <212> ADN
 10 <213> Homo sapiens

 <400> 51
 gatgcatcca attggaaac a 21

 15 <210> 52
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 20 <400> 52
 Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr
 1 5

 <210> 53
 <211> 21
 25 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 53
 caaacttcca agcggccctc a 21
 30
 <210> 54
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35
 <400> 54
 Gln Thr Ser Lys Arg Pro Ser
 1 5

 <210> 55
 40 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 55
 45 caatctacca agcggccctc a 21

 <210> 56
 <211> 7
 <212> PRT
 50 <213> Homo sapiens

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

 55 <210> 57
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 57
gaggataacc aaagaccctc t 21

<210> 58
5 <211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 58
Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser
10 1 5
<210> 59
<211> 21
<212> ADN
15 <213> Homo sapiens

<400> 59
agtaataatc agcgccctc a 21

20 <210> 60
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

25 <400> 60
Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser
1 5
<210> 61
<211> 21
30 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 61
aggaataatc agcgccctc a 21

35 <210> 62
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

40 <400> 62
Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser
1 5
<210> 63
45 <211> 21
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 63
50 gataacaaca atcgccctc a 21

<210> 64
<211> 6
<212> PRT
55 <213> Homo sapiens

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

60 <210> 65

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

5 <400> 65
 gaagttcct accggtctc t 21

<210> 66
 <211> 7
 10 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

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

15 <210> 67
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

20 <400> 67
 ttgggtcta atcgggcctc c 21

<210> 68
 25 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

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

30 <210> 69
 <211> 21
 <212> ADN
 35 <213> Homo sapiens

<400> 69
 actgcatcca cttgcaaag t 21

40 <210> 70
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

45 <400> 70
 Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser
 1 5

<210> 71
 <211> 27
 50 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 71
 atgcaacgta tagagttcc attcact 27

55 <210> 72
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

60

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

<210> 73
5 <211> 27
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 73
10 ctacagcata atagtaaccc tctcact 27

<210> 74
<211> 9
<212> PRT
15 <213> Homo sapiens

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

20
<210> 75
<211> 27
<212> ADN
<213> Homo sapiens

25
<400> 75
ctacagcata atagtgaccc gtcacc 27

<210> 76
30 <211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 76
Leu Gln His Asn Ser Asp Pro Leu Thr
35 1 5

<210> 77
<211> 27
<212> ADN
40 <213> Homo sapiens

<400> 77
caacaatatg gtaactcacc attcact 27

45 <210> 78
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

50 <400> 78
Gln Gln Tyr Gly Asn Ser Pro Phe Thr
1 5

<210> 79
<211> 27
55 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 79
ctacagcaaa atagttaccc gtcact 27

60

<210> 80
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 80
 Leu Gln Gln Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
 1 5

 <210> 81
 10 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 81
 15 caggcgtggg acagcagcac tgtgga 27

 <210> 82
 <211> 27
 <212> ADN
 20 <213> Homo sapiens

 <400> 82
 cagtcttatg ataccagcaa tcaggta 27

 25 <210> 83
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 30 <400> 83
 Gln Ser Tyr Asp Thr Ser Asn Gln Val
 1 5

 <210> 84
 <211> 33
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 84
 gcagcatggg atgacagcct gaatgtccg gta 33
 40
 <210> 85
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45
 <400> 85
 Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Pro Val
 1 5 10

 <210> 86
 50 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 86
 55 gcagcatggg atgacagcct gagtaggccg gta 33

 <210> 87
 <211> 11
 <212> PRT
 60 <213> Homo sapiens

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

<210> 88
5 <211> 30
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 88
10 cagtctatg acagcagcct gtagtctata 30

<210> 89
<211> 10
<212> PRT
15 <213> Homo sapiens

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

20 <210> 90
<211> 27
<212> ADN
<213> Homo sapiens

25 <400> 90
atgcaaata tacagcctcc tctcacc 27

<210> 91
<211> 9
30 <212> PRT
<213> Homo sapiens

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

35 <210> 92
<211> 27
<212> ADN
<213> Homo sapiens

40 <400> 92
atggaagctc ttcaaactat gtgcagt 27

45 <210> 93
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

50 <400> 93
Met Glu Ala Leu Gln Thr Met Cys Ser
1 5

<210> 94
55 <211> 27
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 94

ctacagcata atagttaccc tcgcagt 27

<210> 95
<211> 9
5 <212> PRT
<213> Homo sapiens

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

10
<210> 96
<211> 27
<212> ADN
<213> Homo sapiens

15
<400> 96
caacaggcta acagttccc gctcact 27

<210> 97
20 <211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

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

25
<210> 98
<211> 28
<212> ADN
30 <213> Homo sapiens

<400> 98
atgcaacgta tagagttcc attcact 28

35 <210> 99
<211> 27
<212> ADN
<213> Homo sapiens

40 <400> 99
caacagtcta acagttccc gctcact 27

<210> 100
<211> 9
45 <212> PRT
<213> Homo sapiens

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

50 <210> 101
<211> 15
<212> ADN
<213> Homo sapiens

55 <400> 101
agctatggca tgcac 15

<210> 102
<211> 5
60 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 102
 Ser Tyr Gly Met His
 1 5

5
 <210> 103
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

10
 <400> 103
 acctatggga tgcac 15

<210> 104
 15 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 104
 Thr Tyr Gly Met His
 1 5

20
 <210> 105
 <211> 15
 <212> ADN
 25 <213> Homo sapiens

<400> 105
 agctatggca tgcac 15

30 <210> 106
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

35 <400> 106
 Ser Tyr Asp Met His
 1 5

<210> 107
 <211> 21
 40 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 107
 agcaactatg ctgcttgaa c 21

45
 <210> 108
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

50
 <400> 108
 Ser Asn Tyr Ala Ala Trp Asn
 1 5

<210> 109
 55 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 109

	agctatgaca tgcac	15
	<210> 110	
	<211> 15	
5	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 110	
	aactatggca tgcac	15
10	<210> 111	
	<211> 5	
	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
15	<400> 111	
	Asn Tyr Gly Met His	
	1 5	
	<210> 112	
20	<211> 15	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 112	
25	ggctactatt tgcac	15
	<210> 113	
	<211> 5	
	<212> PRT	
30	<213> Homo sapiens	
	<400> 113	
	Gly Tyr Tyr Leu His	
	1 5	
35	<210> 114	
	<211> 15	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
40	<400> 114	
	agctatggta tcagt	15
	<210> 115	
	<211> 5	
45	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 115	
	Ser Tyr Gly Ile Ser	
	1 5	
50	<210> 116	
	<211> 48	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
55	<400> 116	
	aagtctagtc agagcctcct gcatagtgat ggaaagaact atttggtt	48
	<210> 117	
60	<211> 16	
	<212> PRT	

<213> Homo sapiens

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

5

<210> 118
 <211> 5
 <212> PRT
 10 <213> Homo sapiens

<400> 118
 Gly Tyr Thr Leu Asn
 1 5

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

20 <400> 119
 agctatgccca tgaac 15

<210> 120
 <211> 5
 25 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 120
 Ser Tyr Ala Met Asn
 1 5

30 <210> 121
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

35 <400> 121
 agatatgccca tgaac 15

<210> 122
 40 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 122
 Arg Tyr Ala Met Asn
 1 5

45 <210> 123
 <211> 51
 <212> ADN
 50 <213> Homo sapiens

<400> 123
 tctatatggt atgatggaag taataaatat tatgtagact ccgtgaaggg c 51

55 <210> 124
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

60 <400> 124

ES 2 444 012 T3

Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 125

<211> 51

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 125

tttatatggt atgatggaag tgaaaaatat tatgtagact ccgtgaaggg c

51

10

<210> 126

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 126

Phe Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 127

20 <211> 51

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 127

25 gttatgtggt atgatggaag taataaagac tatgtagact ccgtgaaggg c

51

<210> 128

<211> 17

<212> PRT

30 <213> Homo sapiens

<400> 128

Val Met Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Asp Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

35 <210> 129

<211> 51

<212> ADN

<213> Homo sapiens

40 <400> 129

gttatatcag atgatggaag tcataaatac tctgcagact ccgtgaaggg c

51

<210> 130

<211> 17

45 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 130

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

Gly

<210> 131

<211> 51

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 131

gaaatatgga atgatggaag taataaatac tatgcagact ccgtgaaggg c

51

10

<210> 132

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 132

Glu Ile Trp Asn Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 133

20 <211> 51

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 133

25 gtgatatac atgatggaag tgataaatac tatgcagact ccgtgaaggg c

51

<210> 134

<211> 17

<212> PRT

30 <213> Homo sapiens

<400> 134

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

Gly

35 <210> 135

<211> 51

<212> ADN

<213> Homo sapiens

40 <400> 135

ggtatatggt atgatggaag gaataaatac tatgtagact ccgtgaaggg c

51

<210> 136

<211> 17

45 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 136

ES 2 444 012 T3

Gly Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 137

<211> 54

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 137

aggacatact acaggtccaa gtgtataat gattatgcag tatctgtgag aagt

54

10

<210> 138

<211> 18

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 138

Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala Val Ser Val
1 5 10 15

Arg Ser

20 <210> 139

<211> 51

<212> ADN

<213> Homo sapiens

25 <400> 139

tttatcag atgatggaag taataaatac tatggagact ccgtgaaggg c

51

<210> 140

<211> 17

30 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 140

Phe Ile Ser Asp Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

35 Gly

<210> 141

<211> 51

<212> ADN

40 <213> Homo sapiens

<400> 141

tttatcag atgatggaag taataaatat tatggagact ccgtgaaggg c

51

45 <210> 142

<211> 51

<212> ADN

<213> Homo sapiens

50 <400> 142

gttatatcat atgatggaag taataaatac tatggagact ccgtgaaggg c

51

<210> 143

<211> 17

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 143

Val	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Gly	Asp	Ser	Val	Lys
1				5				10						15	

10 Gly

<210> 144

<211> 51

<212> ADN

15 <213> Homo sapiens

<400> 144

gttatatggt atgatggaag taataaatac tatgcagact ccgtgaaggg c

51

20 <210> 145

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

25 <400> 145

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

Gly

<210> 146

<211> 51

30 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 146

cttatatcat ttgatggaag taataaatac tatgcagact ccgtgaaggg c

51

35

<210> 147

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

40

<400> 147

Leu	Ile	Ser	Phe	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5				10						15	

Gly

<210> 148

45 <211> 51

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 148

50 tggatcatcc ctgacagtgg tggcacaag tatgcacaga agtttcaggg c

51

ES 2 444 012 T3

<210> 149
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5
 <400> 149
 Trp Ile Ile Pro Asp Ser Gly Gly Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 150
 <211> 51
 10 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 150
 tggatcggcg ttacaatgg tcacacaaaa tatgcacaga agttccaggg c 51

15
 <210> 151
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20
 <400> 151
 Trp Ile Gly Val Tyr Asn Gly His Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 152
 25 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 152
 30 gaagttcct accggttctc t 21

<210> 153
 <211> 17
 <212> PRT
 35 <213> Homo sapiens

<400> 153
 Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser His Lys Tyr Tyr Glu Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

40
 <210> 154
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

45
 <400> 154
 attatattggt ctgatggaat taacaaatac tatgcagact ccgtgaaggg c 51

<210> 155
 50 <211> 17
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 155

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

Gly

5

<210> 156

<211> 51

<212> ADN

<213> Homo sapiens

10

<400> 156

aacattaata gtaggagtag tctcatatac tacacagact ctgtgaaggg c

51

<210> 157

15

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 157

Asn Ile Asn Ser Arg Ser Ser Leu Ile Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

20

Gly

<210> 158

<211> 51

<212> ADN

25

<213> Homo sapiens

<400> 158

tacattggta gtagtagtag tgccatatac tacggagact ctgtgaaggg c

51

30

<210> 159

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

35

<400> 159

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

Gly

<210> 160

40

<211> 51

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 160

45 tctatatggt atgatggaag taataaatat tatgtagact ccgtgaaggg c

51

<210> 161

<211> 17

<212> PRT

50

<213> Homo sapiens

<400> 161

Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 162

<211> 51

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 162

tacattggta gtagtagtag tgccatatac tacgcagact ctgtgaaggg c

51

10

<210> 163

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 163

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

Gly

20 <210> 164

<211> 21

<212> ADN

<213> Homo sapiens

25 <400> 164

ctgggtggtg gtttgacta c

21

<210> 165

<211> 7

30 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 165

Leu Gly Gly Gly Phe Asp Tyr
1 5

35

<210> 166

<211> 21

<212> ADN

<213> Homo sapiens

40

<400> 166

atgggaggcg gcttgacta c

21

<210> 167

45 <211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 167

Met Gly Gly Gly Phe Asp Tyr
1 5

50

<210> 168

ES 2 444 012 T3

<211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5 <400> 168
 gaaaaagatc attacgacat ttgactggt tataactact actacggtct ggacgtc 57

<210> 169
 <211> 19

10 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 169
 Glu Lys Asp His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Asn Tyr Tyr Tyr Gly
 1 5 10 15

Leu Asp Val

15
 <210> 170
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

20
 <400> 170
 gagagacgt attacgatatt ttgactggc tatcatcact actacggtat ggacgtc 57

<210> 171
 25 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 171
 Glu Glu Thr Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr His His Tyr Tyr Gly
 1 5 10 15

30 Met Asp Val

<210> 172
 <211> 57
 <212> ADN
 35 <213> Homo sapiens

<400> 172
 gagcctcagt attacgatatt ttgactggt tatgataact actacggtat ggacgtc 57

40 <210> 173
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

45 <400> 173
 Glu Pro Gln Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Asp Asn Tyr Tyr Gly
 1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 174
 <211> 57
 50 <212> ADN

ES 2 444 012 T3

<213> Homo sapiens

<400> 174
gaaaaaccgt attacgatat ttgactggt tattctact actatggat ggacgtc 57

5 <210> 175
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10 <400> 175
Glu Lys Pro Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Phe Tyr Tyr Tyr Gly
1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 176
15 <211> 21
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 176
20 ttagcagtg ccttgacta c 21

<210> 177
<211> 7
<212> PRT
25 <213> Homo sapiens

<400> 177
Leu Ala Val Ala Phe Asp Tyr
1 5

30 <210> 178
<211> 36
<212> ADN
<213> Homo sapiens

35 <400> 178
gaagatggca gtggtggta cggcgcttt gacatc 36

<210> 179
<211> 12
40 <212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 179
Glu Asp Gly Ser Gly Trp Tyr Gly Ala Phe Asp Ile
1 5 10

45 <210> 180
<211> 48
<212> ADN
<213> Homo sapiens

50 <400> 180
gatcaatag atatttgac tggttattct tctgatgctt ttgatatc 48

<210> 181
55 <211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 181
 Asp Gln Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Ser Ser Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5 10 15

<210> 182
 5 <211> 60
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 182
 10 gcctattacg atatttgac tgattacccc cagtatgact actactacgg tatggacgtc 60

<210> 183
 <211> 20
 <212> PRT
 15 <213> Homo sapiens

<400> 183
 Ala Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Tyr Pro Gln Tyr Asp Tyr Tyr Tyr
 1 5 10 15

Gly Met Asp Val
 20

20
 <210> 184
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25
 <400> 184
 gatgggtatt acgatatatt gactgggtat gaggatgatg ctttgatat c 51

<210> 185
 30 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 185
 Asp Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Glu Asp Asp Ala Phe Asp
 1 5 10 15

35 Ile

<210> 186
 <211> 60
 <212> ADN
 40 <213> Homo sapiens

<400> 186
 gaagggtttc attacgatat ttgactggt tctacttct actactacgg tatggacgtc 60

45 <210> 187
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

50 <400> 187

ES 2 444 012 T3

Glu Gly Phe His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Ser Tyr Phe Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Gly Met Asp Val
20

<210> 188

<211> 30

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 188

agggtagcag tggctgggta cttgactac

30

10

<210> 189

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 189

Arg Val Ala Val Ala Gly Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 190

20 <211> 27

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 190

25 atgcaaaata tacagcctcc tctcacc

27

<210> 191

<211> 18

<212> PRT

30 <213> Homo sapiens

<400> 191

Val Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Tyr Glu Tyr Tyr Tyr His Tyr Gly Met
1 5 10 15

Asp Val

35 <210> 192

<211> 57

<212> ADN

<213> Homo sapiens

40 <400> 192

gagagaggcc tctacgatat ttgactggt tattataact actacgggat tgacgtc

51

<210> 193

<211> 19

45 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 193

Glu Arg Gly Leu Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Asn Tyr Tyr Gly
1 5 10 15

Ile Asp Val

<210> 194

<211> 39'

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 194

gatcagtata actggaacta ctactacggt atggacgtc

39

<210> 195

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 195

Asp Gln Tyr Asn Trp Asn Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 196

<211> 33

20 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 196

tatagaagtg gctgggtcccc cctctttgac ttc

33

<210> 197'

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 197

Tyr Arg Ser Gly Trp Ser Pro Leu Phe Asp Phe

1 5 10

<210> 198

35 <211> 33

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 198

40 tatagcagtg gctgggtcccc cctctttgac tac

33

<210> 199

<211> 11

<212> PRT

45 <213> Homo sapiens

<400> 199

Tyr Ser Ser Gly Trp Ser Pro Leu Phe Asp Tyr

1 5 10

50 <210> 200

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

55 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Secuencia consenso sintética

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Ser o Thr
 5
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> Arg o Ser
 10
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> Asp o Ala
 15
 <400> 200

 Arg Ser Xaa Gln Ser Leu Leu Asp Xaa Xaa Asp Gly Thr Tyr Thr Leu
 1 5 10 15

 Asp
 20 <210> 201
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Secuencia consenso sintética

 <220> '
 <221> MOD_RES
 30 <222> (5)..(5)
 <223> Gly o Asp

 <220>
 <221> MOD_RES
 35 <222> (10)..(10)
 <223> Leu o Phe

 <400> 201
 Arg Ala Ser Gln Xaa Ile Arg Asn Asp Xaa Gly
 1 5 10
 40
 <210> 202
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 45
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Secuencia consenso sintética

 <220>
 50 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> Val o Ala

 <400> 202
 55
 Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Xaa Cys
 1 5 10

<210> 203
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Secuencia consenso sintética
 <220>
 10 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Ser o Thr
 <220>
 15 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Gly o Asp
 <400> 203
 Xaa Tyr Xaa Met His
 1 5
 20
 <210> 204
 <211> 7
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Secuencia consenso sintética
 30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Glu o Gin
 35 <400> 204
 Ala Ala Ser Ser Leu Xaa Ser
 1 5
 <210> 205
 <211> 7
 40 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Secuencia consenso sintética
 45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Ser o Thr
 50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Thr o Ser
 55 <400> 205
 Gln Xaa Xaa Lys Arg Pro Ser
 1 5
 <210> 206
 60 <211> 17

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

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

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

10 <223> Ser, Phe, Val o Gln

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

15 <223> Tyr o Asn

<220>

<221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

20 <223> Asn o Gln

<220>

<221> MOD_RES

<222> (12)..(12)

25 <223> Val o Ala

<400> 206

Xaa	Ile	Trp	Xaa	Asp	Gly	Ser	Xaa	Lys	Tyr	Tyr	Xaa	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

30 <210> 207

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Secuencia consenso sintética

<220>

<221> MOD_RES

40 <222> (1)..(1)

<223> Val o Phe

<220>

<221> MOD_RES

45 <222> (4)..(4)

<223> His, Asp o Tyr

<220>

<221> MOD_RES

50 <222> (8)..(8)

<223> Asp, Asn o His

<220>

<221> MOD_RES

55 <222> (11)..(11)

<223> Tyr o Ser

<220>

<221> MOD_RES

60 <222> (12)..(12)

<223> Ala o Gly

<400> 207
 Xaa Ile Ser Xaa Asp Gly Ser Xaa Lys Tyr Xaa Xaa Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

- <210> 208
 5 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- <220>
 10 <223> Descripción de secuencia artificial: Secuencia consenso sintética
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 15 <223> His o Gin
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 20 <223> Asn, Asp o Tyr

<400> 208
 Leu Gln Xaa Asn Ser Xaa Pro Leu Thr
 1 5

- 25 <210> 209
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 30 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Secuencia consenso sintética
- <220>
 <221> MOD_RES
 35 <222> (6) .. (6)
 <223> Asn o Ser
- <220>
 <221> MOD_RES
 40 <222> (9) .. (9)
 <223> He o Val

<400> 209
 Gln Ala Trp Asp Ser Xaa Thr Val Xaa
 1 5

- 45 <210> 210
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 50 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Secuencia consenso sintética
- <220>
 55 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Lys, Glu o Pro

```

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> Asp, Thr, Gin o Pro
5
<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> His o Tyr
10
<220>
<221> MOD_RES
<222> (12)..(12)
<223> Asn, His, Asp o Phe
15
<220>
<221> MOD_RES
<222> (13)..(13)
<223> Tyr, His o Asn
20
<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> Leu o Met
25
<400> 210
Glu Xaa Xaa Xaa Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Xaa Xaa Tyr Tyr Gly
1          5          10          15

Xaa Asp Val

<210> 211
30 <211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
35 <223> Descripción de secuencia artificial: Secuencia consenso sintética

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
40 <223> Leu o Met

<400> 211
Xaa Gly Gly Gly Phe Asp Tyr
1          5

.

45 <210> 212
<211> 339
<212> ADN
<213> Homo sapiens

50 <400> 212

```

ES 2 444 012 T3

```

gatattgtgc tgaccacagac tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc      60
atctcctgca ggtctagtca gagcctcttg gatagagatg atggagacac ctatttggac      120
tggtacctgc agaagccagg gcagtcctcca cagctcctga tctatacgct ttctatcggt      180
gcctctggag tcccagacag gttcagtggc agtgggtcag gcactgattt ctcactgaaa      240
atcagcaggg tggaggctga ggatgttgga gtttattact gcattgcaacg tataagattt      300
ccattcactt tcggccctgg gaccaaagtg gatatcaaa      339

```

<210> 213

<211> 113

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 213

```

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

```

```

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Arg
          20           25           30

```

```

Asp Asp Gly Asp Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
35           40           45

```

```

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Thr Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val
50           55           60

```

```

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Lys
65           70           75           80

```

```

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln
85           90           95

```

```

Arg Ile Glu Phe Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
100          105          110

```

Lys

10

<210> 214

<211> 323

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

<400> 214

```

agactccact ctccctgccc gtcacccctg gagagccggc ctccatctcc tgcaggtcta      60
gtcagagcct cttggatagt gctgatggag acacctatct ggactgggtac ctgcagaagc      120
cagggcagtc tccacagctc ctgatctata cgctttccta tcgggcctct ggagtcaccag      180
acagggttcag tggcagtggg tcagacactg atttctcact gaaaatcagc aggggtggagg      240
ctgaggatgt tggagtttat tactgcatgc aacgtataga gtttccattc actttcggcc      300
ctgggaccaaa agtggatatc aaa                                              323

```

<210> 215

<211> 113

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 215

```

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

```

```

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
              20              25              30

```

```

Ala Asp Gly Asp Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
35              40              45

```

```

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Thr Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val
50              55              60

```

```

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Asp Phe Ser Leu Lys
65              70              75              80

```

```

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln
85              90              95

```

```

Arg Ile Glu Phe Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
100             105             110

```

Lys

10

<210> 216

<211> 321

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

<400> 216

```

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60

```

```

atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctgggtatca gcagaaacca      120

```

```

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca      180

```

```

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttactctca caatcagcag tgtgcagcct      240

```


gaagattttg taacttatta ctgtctacag cataatagta accctctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 217
<211> 107
5 <212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 217
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Val Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Asn Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

10 <210> 218
<211> 321
<212> ADN
<213> Homo sapiens

15 <400> 218
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagcgcc gatctatgct geatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag tctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagta accctctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

20 <210> 219
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

25 <400> 219

ES 2 444 012 T3

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Asn Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 220

<211> 321

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 220

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ttgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagcgctt gctctatgct gcctccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtgggtc tgggtcagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtg acccgctcac cttcggccaa 300

gggacacgac tggagattaa a 321

10

<210> 221

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 221

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Phe Val Gly
1 5 10 15

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

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

ES 2 444 012 T3

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

Ser Gly Ser Gly Ser Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Asp Pro Leu
85 90 95

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

<210> 222

<211> 324

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 222

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ttccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagggttagc agcaactact tagcctggta ccagcagaaa 120

tctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtggt gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgtt ttactgtcaa caatatggta actcaccatt cactttcggc 300

cctgggacca atgtggatat caaa 324

10

<210> 223

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 223

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

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

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

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Asn Ser Pro

85

90

95

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Asn Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 224

<211> 321

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 224

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
gtcacttgcc gggcaagtca ggacattaga aatgattttg gctggtatca gcaaaaacca 120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tacaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtctacag caaaatagtt acccgctcac tttcggggga 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

10

<210> 225

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 225

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Asp
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Gln Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 226

20 <211> 339

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 226

ES 2 444 012 T3

```

gatattgtga tgaccacagac tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc      60
atctcctgca ggtctactca gagcctcttg gatagtgatg atggagacac ctatttggac      120
tggtagctgc agaagccggg gcagtctcca cagctcctga tctatacgtt ttcctatcgg      180
gcctctggag tcccagacag gttcagtgga agtgggtcag gcactgattt cacactgaaa      240
atcagcaggg tggaggctga ggatggttga gtttattact gcatgcaacg tatagagttt      300
ccattcactt tcggccctgg gaccaaagtg gatatacaaa      339

```

<210> 227

<211> 113

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 227

```

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Thr Gln Ser Leu Leu Asp Ser
                20              25              30

Asp Asp Gly Asp Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
35              40              45

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Thr Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val
50              55              60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
65              70              75              80

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln
85              90              95

Arg Ile Glu Phe Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
100            105            110

```

Lys

10

<210> 228

<211> 321

<212> ADN

15 <213> Homo sapiens

<400> 228

```

gacatccaga tgaccacagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggatatca gcagaaacca      120
gggaaagccc ctaagcgctt gatctatgct gcatccagtt tggaaagtgg ggtcccatca      180

```

ES 2 444 012 T3

```

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag tgtgcagcct 240
gaagattttg taacttatta ctgtctacag cataatagta accctctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

```

<210> 229
 <211> 107
 5 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

```

<400> 229
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1          5          10          15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
          20          25          30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
          35          40          45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
          50          55          60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Pro
65          70          75          80
Glu Asp Phe Val Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Asn Pro Leu
          85          90          95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
          100          105

```

10 <210> 230
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

```

15 <400> 230
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggcgagtc ggacattagt aagtatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct catctacgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180
aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatggtaatc tcccgatcac cttcggccaa 300
gggacacgac tggagagtaa a 321

```

20 <210> 231
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 231

ES 2 444 012 T3

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Asn Leu Pro Ile
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ser Lys
100 105

<210> 232

<211> 318

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 232

tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc 60

acctgctctg gagataaatt gggggataaa tatgtttgct ggtatcagca gaagccaggc 120

cagtccccctg tgctgggtcat ctatcaaact tccaagcggc cctcagggat ccctgagcgg 180

ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actctgacca tcagcgggac ccaggctatg 240

gatgaggctg actattactg tcaggcgtgg gacagcaaca ctgtgatttt cggcggaggg 300

accaagctga ccgtccta 318

10

<210> 233

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 233

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

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

ES 2 444 012 T3

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

Gln Thr Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 234

<211> 318

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 234

tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc 60

acctgctctg gagataaatt gggggataaa tatgtttgct ggtatcagca gaagccaggc 120

cagtccccctg tgctgggtcat ctatcaaact tccaagcggc cctcagggat ccttgagcgg 180

ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actctgacca tcagcgggac ccaggetatg 240

gatgaggctg actattactg tcaggcgtgg gacagcagca ctgtggtttt cggcggaggg 300

accaagctga ccgtccta 318

10

<210> 235

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 235

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

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

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

Gln Thr Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 236

<211> 318

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 236

tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc 60

acctgctctg gagataaatt gggggataaa tatgcttgct ggtatcagca gaagccaggc 120

cagtcccttg tactggatcat ctatcaatct accaagcggc cctcagggat ccctgagcgt 180

ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actctgacca tcagcgggac ccaggctatg 240

gatgaggctg actattactg tcaggcgtgg gacagcagca ctgtgggtatt cggcggaggg 300

accaagctga ccgtccta 318

10

<210> 237

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 237

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

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

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

Gln Ser Thr Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 238

20 <211> 330

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 238

aattttatgc tgactcagcc ccactctgtg tcggagtctc cggggaagac ggtaaccatc 60
 tcctgcaccc gcagcagtgg cagcattgtc agcaactttg tgcaatggta ccagcagcgc 120
 ccgggcagtt cccccaccac tgtgatctat gaggataacc aaagaccctc tgggggtccct 180
 gatcggttct ctggctccat cgacagctcc tccaactctg cctccctcac catctctgga 240
 ctgaagactg aggacgaggc tgactactac tgtcagtctt atgataccag caatcaggtg 300
 ttcgggcgag ggaccaagct gaccgtcctg 330

<210> 239

<211> 110

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 239

Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys
 1 5 10 15

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

Phe Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ser Pro Thr Thr Val
 35 40 45

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

Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly
 65 70 75 80

Leu Lys Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Thr
 85 90 95

Ser Asn Gln Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

10

<210> 240

<211> 330

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

<400> 240

cagtctgtcc tgactcagcc acccccagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60

tctgtgtactg gaatcacctc caacatcgga agcaatactg tacactggta ccagcagttc 120

ccaggaacgg cccccaaact cctcatctat agtaataatc agcggccctc aggggtccct 180

gaccgattct ctgggtccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggtccag 240

tctgaggatg aggctgatta ttactgtgca gcatgggatg acagcctgaa tgggtccggtg 300

ttcgggcgag ggaccaagct gaccgtccta 330

<210> 241
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 241
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Pro Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ile Thr Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val His Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
 85 90 95
 Asn Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 242
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

10

<400> 242
 cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60
 tcttggtctg gaagcaggtc caacatcgga agtaattatg tatactggta ccaacagctc 120
 ccaggaacgg cccccaaact cctcatctat aggaataatc agcggccctc aggggtccct 180
 gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccgg 240
 tccgaggatg aggctgatta ttactgtgca gcatgggatg acagcctgag taggcccggta 300
 ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta 330

15

<210> 243
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 243

ES 2 444 012 T3

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

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

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

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

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Arg Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 244

<211> 330

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 244

cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
tcttgcaactg ggagcagctc caacatcggg gcagggttatg ctgtacactg gtaccagcag 120
cttccaggaa cagcccccaa actcctcatc tatgataaca acaatcggcc ctcagggggtc 180
cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactggggtc 240
caggctgagg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtgtctata 300
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta 330

10 <210> 245

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15 <400> 245

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

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

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

Leu Ile Tyr Asp Asn Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
85 90 95

Leu Ser Ala Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 246

<211> 336

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 246

aatattgtga tgaccagac tccactctct ctgtccgtca cccctggaca gccggcctcc 60
atctcctgca agtctagtca gagcctcctg catagtgatg gaaagaacta ttgtttttgg 120
tacctacaga agccaggcca gtctccacag ctctgatct atgaagtttc ctaccggttc 180
tctggagtgc cagataggtt cagtggcagc gggtcaggga cagatttctc attgaaaatc 240
agccgggtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgca tgcaaaatat acagcctcct 300
ctcaccttcg gccaaaggac acgactggag attaaa 336

10

<210> 247

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 247

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asp Gly Lys Asn Tyr Leu Phe Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Glu Val Ser Tyr Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Asn

ES 2 444 012 T3

85

90

95

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

<210> 248

<211> 336

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 248

gggtattgtgc tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccttgaggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg catagtaatg gatacaacta tttggattgg 120
tacttgcaga agccagggca gtctccgcag ctctgatct atttgggttc taatcggggcc 180
tccgggggtcc ctgacagggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgca tggaagctct tcaaactatg 300
tgcagttttg gccaggggac caagctggag atcaag 336

10

<210> 249

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 249

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Leu Gln Thr Met Cys Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 250

20 <211> 321

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 250
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagcgctt gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatct 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcaa cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt accctcgag ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 251
5 <211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 251
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95
Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
10 100 105

<210> 252
<211> 321
<212> ADN
15 <213> Homo sapiens

<400> 252
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca gggatttagc agctggtttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct aatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
cggttcagcg gcagtgggtc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

20

ES 2 444 012 T3

<210> 253
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 253
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 254
 <211> 339
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

10

<400> 254
 gatattgtgc tgaccagac tccactctcc ctgccgtca ccctggaga gccggcctcc 60
 atctcctgca ggtctagtca gagcctcttg gatagagatg atggagacac ctatttggac 120
 tggtagctgc agaagccagg gcagtctcca cagctcctga tctatacgct ttcctatcgg 180
 gcctctggag tccagacag gttcagtggc agtgggtcag gactgattt ctactgaaa 240
 atcagcaggg tggaggctga ggatgttga gtttattact gcatgcaacg tatagagttt 300
 ccattcactt tcggccctgg gaccaaagtg gatatcaaa 339

15

<210> 255
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 255
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

ES 2 444 012 T3

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Arg
20 25 30

Asp Asp Gly Asp Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Thr Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Lys
65 70 75 80

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln
85 90 95

Arg Ile Glu Phe Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
100 105 110

Lys

<210> 256

<211> 321

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 256

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcgt ctgtagggga cagagtcacc 60

atcaattgtc gggcgagtc ggggtattagc agctggtag cctggatatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatact gcatccactt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggtac tgggacagat ttcaactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag tctaacagtt tcccgctcac ttccggcgga 300

10 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 257

<211> 107

<212> PRT

15 <213> Homo sapiens

<400> 257

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

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

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 258

<211> 348

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 258

caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60
tccgtgtgcag cgtctggaat cacccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcatct atatgggtatg atggaagtaa taaatattat 180
gtagactccg tgaagggccg attcaccatc ttcagagaca attccaagaa aacgctgtat 240
ctgcaaataa acaggctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagacttggt 300
ggtgggttttg actactgggg ccagggaacc ctgggtcaccg tctcctca 348

10

<210> 259

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 259

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Leu Gly Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 260

<211> 348

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 260

cagggtgcaac tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60

tctgtgtcag cgtctggaat caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccagggt 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atatggtatg atggaagtga aaaatattat 180

gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaataa acagtctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaatggga 300

ggcggttttg actactgggg ccagggaacc ctgggtcaccg tctcctca 348

10

<210> 261

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 261

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

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

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

Ala Phe Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 262

<211> 384

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 262

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cgtctggatt caccctcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct	120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atgtggtatg atggaagtaa taaagactat	180
gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cagcgtgtat	240
ctgcaaataa accgcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaaaaa	300
gatcattacg acattttgac tggttataac tactactacg gtctggacgt ctggggccaa	360
gggaccacgg tcaccgtctc ctca	384

10

<210> 263

<211> 128

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 263

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Lys Asp His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Asn Tyr Tyr	
100 105 110	

Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser	
115 120 125	

<210> 264

20 <211> 467

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 264

```

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct      120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atgtgggtatg atggaagtaa taaagactat      180
gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240
ctgcaaatga accgcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaaaaa      300
gatcattacg acattttgac tggttataac tactactacg gtctggacgt ctggggccaa      360
gggaccacgg tcaccgtctc ctcagcctcc accaagggcc catcggtctt cccctggcg      420
ccctgctcca ggagcacctc cgagagcaca gcggccctgg gctgcct      467

```

5

<210> 265

<211> 128

<212> PRT

<213> Homo sapiens

10

<400> 265

```

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Lys Asp His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Asn Tyr Tyr
          100          105          110

Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
          115          120          125

```

15

<210> 266

<211> 384

<212> ADN

<213> Homo sapiens

20

<400> 266

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc . 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt acctatggga tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg gtctggagtg ggtggcagtt atatcagatg atggaagtca taaatactct 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaataga acagcctgag aactgaggac tcggctgtgt attactgtgc gagagaggag 300
 acgtattacg atattttgac tggctatcat cactactacg gtatggacgt ctggggccaa 360
 gggaccacgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 267

<211> 128

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 267

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Glu Thr Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr His His Tyr
 100 105 110

Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

10

<210> 268

<211> 384

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

<400> 268

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagaa atatggaatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atcccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attattgtgc gagagagcct 300
cagtattacg atattttgac tggttatgat aactactacg gtatggacgt ctggggccaa 360
gggaccacgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 269

<211> 128

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 269

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Pro Gln Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Asp Asn Tyr
100 105 110

Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

10

<210> 270

<211> 384

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

<400> 270

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatgaca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtg atatcacatg atggaagtga taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat .240
 ctgcaaatga gcagtttgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaaaaa 300
 ccgtattacg atattttgac tggttatttc tactactatg gtatggacgt ctggggccaa 360
 gggaccacgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 271

<211> 128

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 271

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Lys Pro Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Phe Tyr Tyr
 100 105 110

Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

10

<210> 272

<211> 348

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

<400> 272

caggtgcagt tggcggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtacag cgtctggaat caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcaggt atatggtatg atggaaggaa taaatactat 180
 gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa aacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggttagca 300
 gtggcctttg actactgggg ccagggaact ttggtcaccg tctcctca 348

<210> 273
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 273
 Gln Val Gln Leu Ala Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Gly Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Lys Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Leu Ala Val Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 274
 <211> 384
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

10

<400> 274
 caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggct cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atgtggtatg atggaagtaa taaagactat 180
 gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaata accgcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaaaaa 300
 gatcattacg acattttgac tggttataac tactactacg gtctggacgt ctggggccaa 360
 gggaccacgg tcaccgtctc ctca 384

15

<210> 275
 <211> 128
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 275

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Lys Asp His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Asn Tyr Tyr
100 105 110

Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 276

<211> 372"

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 276

caggtagacg tgcagcagtc aggtccagga ctggtgaggc cctgcagac cctctcactc 60
acctgtgcca tctccgggga cagtgtctct agcaactatg ctgcttgga ctggatcagg 120
cagtcccat cgagaggcct tgagtggctg ggaaggacat actacaggtc caagtggat 180
aatgattatg cagtatctgt gagaagtcga acaaccatca accagacac atccaagaac 240
cagttctccc tgcagttgaa ctctgtgact cccgaggaca cggctgtgta ttactgtaca 300
agagaagatg gcagtggctg gtacgggtgt tttgacatct ggggccaagg gacaatggtc 360
accgtctctt ca 372

10

<210> 277

<211> 124

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 277

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

ES 2 444 012 T3

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30

Tyr Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala
50 55 60

Val Ser Val Arg Ser Arg Thr Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95

Tyr Tyr Cys Thr Arg Glu Asp Gly Ser Gly Trp Tyr Gly Ala Phe Asp
100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 278

<211> 374

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 278

caggtgcaac tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctgggag caccttcaga agctatgaca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atatcagatg atggaagtaa taaatactat 180

ggagactccg tgaagggccg attgaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaataga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatcaa 300

tacgatattt tgactgggta ttcttctgat gcttttgata tctggggcca agggacaatg 360

gtcacogtct cttc 374

10

<210> 279

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 279

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Gln Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Ser Ser Asp Ala Phe
100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 280

<211> 375

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 280

cagggtgcaac tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgacag cctctggggag caccttcaga agctatgaca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atatcagatg atggaagtaa taaatattat 180
ggagactccg tgaagggcog attgaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaataa acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attattgtgc gagagatcaa 300
tacgatattt tgactgggta ttctttctgat gcttttgata tctggggcca agggacaatg 360
gtcaccgtct cttca 375

10

<210> 281

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 281

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Gln Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Ser Ser Asp Ala Phe
100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 282

<211> 375

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 282

caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggaag caccttcaga agctatgaca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180
ggagactccg tgaagggccg attgaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatcaa 300
tacgatattt tgactgggta ttcttctgat gcttttgata tctggggcca agggacaatg 360
gtcaccgtct ctcca 375

10

<210> 283

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 283

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

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

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

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

Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

ES 2 444 012 T3

65						70										80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
				85					90					95		
Ala	Arg	Asp	Gln	Tyr	Asp	Ile	Leu	Thr	Gly	Tyr	Ser	Ser	Asp	Ala	Phe	
			100					105					110			
Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser				
		115					120					125				

<210> 284
<211> 387
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 284	
cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggttcagc ctggggaggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct	120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat	180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat	240
ctgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagcctat	300
tacgatattt tgactgatta cccccagtat gactactact acggtatgga cgtctggggc	360
caagggacca cggtcaccgt ctctctca	387

<210> 285
<211> 129
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

<400> 285
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1          5          10          15

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

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

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

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

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

```

Ala Arg Ala Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Asp Tyr Pro Gln Tyr Asp Tyr
100 105 110

Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 286

<211> 378

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 286

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggaagtc cctgagactc 60
tctctgtcag tctctggatt catcttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcactt atatcatttg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaataga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatggg 300
tattacgata ttttgactgg ttatgaggat gatgcttttg atatctgggg ccaagggaca 360
atggtcaccg tctcttca 378

10

<210> 287

<211> 126

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 287

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

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

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

Ala Leu Ile Ser Phe Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

ES 2 444 012 T3

Ala Arg Asp Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Glu Asp Asp Ala
100 105 110

Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 288

<211> 387

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 288

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggata caccttcacc ggctactatt tgcactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcatccctg acagtgggtg cacaaagtat 180
gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240
ttggagctga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagaaggg 300
tttcattacg atattttgac tggttcctac ttctactact acggtatgga cgtctggggc 360
caagggacca cggtcaccgt ctcctca 387

10

<210> 289

<211> 129

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 289

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

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

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

Gly Trp Ile Ile Pro Asp Ser Gly Gly Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Gly Phe His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Ser Tyr Phe Tyr
100 105 110

ES 2 444 012 T3

Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 290

<211> 357

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 290

caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctgggta cacctttacc agctatggta tcagttgggc ggcacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcggcggtt acaatggta caaaaatat 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccatat ttactgtgc gagaagggtg 300
gcagtggctg ggtactttga ctactggggc caggggaacc tggtcacctg ctctca 357

10

<210> 291

<211> 119

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 291

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

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

Gly Ile Ser Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Gly Val Tyr Asn Gly His Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 292

20 <211> 381

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 292

```
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc gtgggtccagc ctgggagggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agatatggca tgcactgggt cgcgccaggct      120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtca taaatactat      180
gaagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attctaagaa cacgctgtat      240
ctgcaaataa acagcctgag agccgacgac acgggtgtgt attactgtgc gagagtcggg      300
tatggcagtg gctggtagca gtactattac cactacggta tggacgtctg gggccaaggg      360
5 accacgggtca cgtctctctc a                                          381
```

<210> 293

<211> 127

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 293

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

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

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

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser His Lys Tyr Tyr Glu Asp Ser Val
      50              55              60

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

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

Ala Arg Val Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Tyr Glu Tyr Tyr Tyr His Tyr
      100              105              110

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
      115              120              125
```

15 <210> 294

<211> 384

<212> ADN

<213> Homo sapiens

20 <400> 294

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggagge gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtgacaatt atatggtctg atggaattaa caaatactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccata tccagagaca attccaagaa cacgctgaat 240
 ctgcaaatga acagtttgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagagaga 300
 ggctctctacg atattttgac tggttattat aactactacg gtattgacgt ctggggccaa 360
 gggaccacgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 295

<211> 128

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 295

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Arg Gly Leu Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Asn Tyr
 100 105 110

Tyr Gly Ile Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

10

<210> 296

<211> 366

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

<400> 296

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt ggctatacct tgaactgggt ccgccaggct 120

ES 2 444 012 T3

ccagggaagg ggctggagtg ggtttcaaac attaatagta ggagtagtct catatactac 180
acagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agacgaggac acggctgtgt atttctgtgc gagagatcag 300
tataactgga actactacta cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 297

<211> 122

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 297

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ser Asn Ile Asn Ser Arg Ser Ser Leu Ile Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

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

10

<210> 298

<211> 360

<212> ADN

<213> Homo sapiens

15

<400> 298

gaggtgcggc tggtaggtc tgggggagac ttggtacage ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatgcc tgaactgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg gatttcatac attggtagta gtagtagtgc catatactac 180
ggagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agacgaggac acggctgtgt attactgtgc gagatataga 300
agtggctggt cccccctctt tgacttctgg ggccagggaa gcctggtcac cgtctcctca 360

<210> 299
 <211> 120
 <212> PRT
 5 <213> Homo sapiens

<400> 299
 Glu Val Arg Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Gly Ser Ser Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Tyr Arg Ser Gly Trp Ser Pro Leu Phe Asp Phe Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

10 <210> 300
 <211> 348
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

15 <400> 300
 cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggagggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggaat caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcatct atatggtatg atggaagtaa taaatattat 180
 gtagactccg tgaagggccg attcaccatc ttcagagaca attccaagaa aacgctgtat 240
 ctgcaaatga acaggctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagacttggt 300
 ggtggttttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tctcctca 348

<210> 301
 <211> 116
 20 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 301

ES 2 444 012 T3

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Leu Gly Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 302

<211> 360

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 302

gaggtgctggc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tctgtacag cctctggatt ccccttcaat agatatgcca tgaactgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtttcatac attggtagta gtagtagtgc catatactac 180

gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctactgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agatgaagac acggctgtgt attactgtgc gagatatagc 300

agtggctggc cccccctctt tgactactgg ggccagggaa cctgggtcac cgtctcctca 360

10

<210> 303

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 303

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

ES 2 444 012 T3

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 304

<211> 321

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 304

cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcac tccccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60
ggaactgcct ctgttggtg cctgctgaat aactttctatc ccagagaggc caaagtacag 120
tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180
agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240
aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag 300
agcttcaaca ggggagagtg t 321

10

<210> 305

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 305

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

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

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

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

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

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

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

<210> 306

<211> 318

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 306

ggtcagccca aggetgcccc ctgggtcact ctgttccgc cctcctctga ggagcttcaa 60

gccaacaagg ccacactggt gtgtctcata agtgacttct acccgggagc cgtgacagtg 120

gcttggaagg cagatagcag ccccgtaag gcgggagtg agaccaccac accctccaaa 180

caaagcaaca acaagtacgc ggccagcagc tatctgagcc tgacgcctga gcagtggaag 240

tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg 300

gccctacag aatgttca 318

10

<210> 307

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 307

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

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val

ES 2 444 012 T3

85

90

95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 308

<211> 978

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 308

```
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag      60
agcacagcgg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggg gacgggtgtcg      120
tggaactcag gcgctctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtcct acagtcctca      180
ggactctact ccctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcaacttcgg caccagacc      240
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc      300
aaatgttgtg tcgagtgcc accgtgccca gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc      360
ctcttcccc caaaacccaa ggacacctc atgatctccc ggaccttga ggtcacgtgc      420
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc      480
gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt      540
gtggtcagcg tctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc      600
aagggtctcca acaaaggcct ccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa aaccaaaggg      660
cagccccgag aaccacaggt gtacacctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac      720
caggtcagcc tgacctgct ggtcaaaggc ttctaccca gcgacatcgc cgtggagtgg      780
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac      840
ggctccttct tctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac      900
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagctc      960
tccctgtctc cgggtaaa                                     978
```

10

<210> 309

<211> 326

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 309

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

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

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

ES 2 444 012 T3

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

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

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

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

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

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

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

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

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

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

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

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

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

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

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

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325

<210> 310

<211> 236

5 <212> PRT

213> Homo sapiens

<400> 310

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 20 25 30

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
 35 40 45

Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 50 55 60

Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val
 65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr
 85 90 95

Ile Ser Ser Val Gln Pro Glu Asp Phe Val Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln
 100 105 110

His Asn Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
 115 120 125

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 180 185 190

ES 2 444 012 T3

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
 210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235

<210> 311

<211> 473

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 311

ES 2 444 012 T3

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

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
 195 200 205

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly
 210 215 220

Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
 225 230 235 240

Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys
 245 250 255

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 260 265 270

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 370 375 380

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 312

<211> 236

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 312

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
20 25 30

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
35 40 45

Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
50 55 60

Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val
65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr
85 90 95

Ile Ser Ser Val Gln Pro Glu Asp Phe Val Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln
100 105 110

His Asn Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
115 120 125

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 313

<211> 54

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

10

<400> 313

aagctcgagg tcgactagac caccatggac atgagggtcc ccgctcagct cctg

54

<210> 314

15 <211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 314

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu
1 5 10

25 <210> 315

<211> 41

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

30 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 315

aaccgtttaa acgcggccgc tcaacactct ccctgttga a

41

35

<210> 316

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 316

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
1 5

45

<210> 317

<211> 51

<212> ADN

50 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 317
 5 aagctcgagg tcgactagac caccatggag ttgggctga gctgggttt c 51

<210> 318
 <211> 9
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

15 <400> 318
 Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe
 1 5

<210> 319
 20 <211> 48
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 25 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 319
 gaccacggtc accgtctct cagcctccac caagggccca tcgtctt 48

30 <210> 320
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 320
 aagaccgatg ggcccttgt ggaggctgag gagacggtga ccgtggtc 48

40 <210> 321
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 321
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 1 5 10 15

50 Phe

<210> 322
 <211> 41
 <212> ADN
 55 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Cebador sintético

<400> 322
aaccgtttaa acgcggccgc tcattaccc ggagacaggg a 41

5 <210> 323
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 323
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
1 5

15 <210> 324
<211> 15
<212> ADN
<213> Homo sapiens

20 <400> 324
ggctatacct tgaac 15

25

REIVINDICACIONES

1. Una proteína de unión a antígeno que comprende:

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

- i. una secuencia CDR1 de cadena ligera que comprende la SEC ID N°: 14;
- ii. una secuencia CDR2 de cadena ligera que comprende la SEC ID N°: 45 o la SEC ID N°: 50;
- iii. una secuencia CDR3 de cadena ligera que comprende la SEC ID N°: 74, y

10

b. un dominio variable de cadena pesada que comprende:

- i. una secuencia CDR1 de cadena pesada que comprende la SEC ID N°: 102;
- ii. una secuencia CDR2 de cadena pesada que comprende la SEC ID N°: 128;
- iii. una secuencia CDR3 de cadena pesada que comprende la SEC ID N°: 169, y

15

en donde la proteína de unión a antígeno se une específicamente al receptor de glucagón humano.

2. La proteína de unión a antígeno de la reivindicación 1 que comprende:

20 (a) un dominio variable de cadena ligera seleccionado del grupo que consiste en una secuencia de aminoácidos al menos un 90 % idéntica a la SEC ID N°: 217, 219 ó 229;

(b) un dominio variable de cadena pesada seleccionado del grupo que consiste en una secuencia de aminoácidos al menos un 90 % idéntica a la SEC ID N°: 263, 265 ó 275; o

25 (c) una combinación de un dominio variable de cadena ligera y un dominio variable de cadena pesada, en la cual el dominio variable de cadena ligera y el dominio variable de cadena pesada se seleccionan del grupo de combinaciones que consisten en: un dominio variable de cadena ligera que tiene una identidad de secuencia de al menos un 90 % con la SEC ID N°: 217 y un dominio variable de cadena pesada que tiene una identidad de secuencia de al menos un 90 % con la SEC ID N°: 263; un dominio variable de cadena ligera que tiene una identidad de secuencia de al menos un 90 % con la SEC ID N°: 219 y un dominio variable de cadena pesada que tiene una identidad de secuencia de al menos un 90 % con la SEC ID N°: 265; y un dominio variable de cadena ligera que tiene una identidad de secuencia de al menos un 90 % con la SEC ID N°: 229, y un dominio variable de cadena pesada que tiene una identidad de secuencia de al menos un 90 % con la SEC ID N°: 275,

30

en donde la proteína de unión a antígeno se une específicamente al receptor de glucagón humano.

35 en donde la proteína de unión a antígeno se une específicamente al receptor de glucagón humano.

3. La proteína de unión a antígeno de la reivindicación 2, en la cual el dominio variable de cadena ligera y el dominio variable de cadena pesada se seleccionan del grupo de combinaciones que consiste en: un dominio variable de cadena ligera que tiene la secuencia como se indica en la SEC ID N°: 217 y un dominio variable de cadena pesada que tiene la secuencia como se indica en la SEC ID N°: 263; un dominio variable de cadena ligera que tiene la secuencia como se indica en la SEC ID N°: 219 y un dominio variable de cadena pesada que tiene la secuencia como se indica en la SEC ID N°: 265; y un dominio variable de cadena ligera que tiene la secuencia como se indica en la SEC ID N°: 229 y un dominio variable de cadena ligera que tiene la secuencia como se indica en la SEC ID N°: 275,

45

en donde la proteína de unión a antígeno se une específicamente al receptor de glucagón humano.

4. La proteína de unión a antígeno de la reivindicación 3, que adicionalmente comprende:

a. la secuencia constante de cadena ligera de la SEC ID N°: 305;

50

b. la secuencia constante de cadena ligera de la SEC ID N°: 307;

c. la secuencia constante de cadena pesada de la SEC ID N°: 309;

d. la secuencia constante de cadena ligera de la SEC ID N°: 305 y la secuencia constante de cadena pesada de la SEC ID N°: 309, o

55

e. la secuencia constante de cadena ligera de la SEC ID N°: 307 y la secuencia constante de cadena pesada de la SEC ID N°: 309.

5. La proteína de unión de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la cual la proteína de unión a antígeno se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal, un anticuerpo recombinante, un fragmento de anticuerpo que se une a antígeno, un anticuerpo monocatenario, un diacuerpo, un triacuerpo, un tetracuerpo, un fragmento Fab, un fragmento F(Fa')x, un anticuerpo de dominio, un anticuerpo de IgD, un anticuerpo de IgE, un anticuerpo de IgM, un anticuerpo de IgG1, un anticuerpo de IgG2, un anticuerpo de IgG3, un anticuerpo IgG4 y un anticuerpo de IgG4 que tiene al menos una mutación en la región bisagra.

60

65 6. La proteína de unión a antígeno de la reivindicación 5, en la cual la proteína de unión es un anticuerpo humano.

7. El anticuerpo humano de la reivindicación 6, en donde el anticuerpo comprende:

- a. una cadena ligera que tiene la SEC ID N°: 312 y una cadena pesada que tiene la SEC ID N°: 311; o
- b. una cadena ligera que tiene la SEC ID N° 310 y una cadena pesada que tiene la SEC ID N°: 311.

5

8. La proteína de unión a antígeno de las reivindicaciones 1 ó 2 que, cuando se une al receptor de glucagón humano:

- a. se une al receptor de glucagón humano sustancialmente con la misma K_d que la de un anticuerpo de referencia;
- b. inhibe la estimulación de glucagón del receptor de glucagón humano sustancialmente con la misma IC₅₀ que la de dicho anticuerpo de referencia; o
- c. compete en cruzado por la unión con dicho anticuerpo de referencia sobre el receptor de glucagón humano,

10

en el cual dicho anticuerpo de referencia comprende una combinación de secuencias de dominio variable de cadena ligera y cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia como se indica en la SEC ID N°: 217 y un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia como se indica en la SEC ID N°: 263; un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia como se indica en la SEC ID N°: 219 y un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia como se indica en la SEC ID N°: 265; y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia como se indica en la SEC ID N°: 229, y un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia como se indica en SEC ID N°: 275.

15

20

9. Una composición farmacéutica que comprende la proteína de unión a antígeno de las reivindicaciones 1 a 8 mezclada con un portador farmacéuticamente aceptable de la misma.

25

10. Un ácido nucleico que comprende una secuencia de polinucleótidos, que codifica el dominio variable de cadena ligera, el dominio variable de cadena pesada, o ambos, del agente de unión a antígeno de las reivindicaciones 1 ó 2.

11. El ácido nucleico de la reivindicación 10, en el cual el polinucleótido que codifica la secuencia de cadena ligera se selecciona de las SEC ID Nos: 216, 218 y 288; y el polinucleótido que codifica la secuencia de cadena pesada se selecciona de las SEC ID Nos: 262, 264 y 278.

30

12. Un vector de expresión recombinante que comprende el ácido nucleico de la reivindicación 10 u 11.

13. Una célula hospedadora que comprende el vector de la reivindicación 12.

35

14. Un hibridoma capaz de producir el anticuerpo de la reivindicación 6 ó 7.

15. Un método de producción de una proteína de unión a antígeno que se une específicamente al receptor de glucagón humano que comprende incubar la célula hospedadora de la reivindicación 13 en condiciones que permiten que esta exprese la proteína de unión a antígeno.

40

16. La proteína de unión a antígeno de las reivindicaciones 1 a 8, o la composición de la reivindicación 9 para su uso para

45

- (i) disminuir la glucosa en sangre;
- (ii) mejorar la tolerancia a glucosa; o
- (iii) prevenir o tratar la diabetes de tipo 2 o un trastorno relacionado

en un sujeto que necesite dicho tratamiento.

50

17. La proteína de unión a antígeno, el anticuerpo humano o el compuesto de la reivindicación 16 para el uso especificado en la misma, en el cual el trastorno relacionado es hiperglucemia, glucemia basal alterada, tolerancia alterada a glucosa, dislipidemia y síndrome metabólico.

55

18. Un kit para el tratamiento de la diabetes de tipo 2 que comprende la composición de la reivindicación 9.

19. El uso de la proteína de unión a antígeno de las reivindicaciones 1 a 8, o la composición farmacéutica de la reivindicación 9 en la preparación de un medicamento para el tratamiento de trastornos que se benefician de la reducción de glucosa en sangre.

60

20. El uso de la reivindicación 19 en el cual los trastornos se seleccionan de diabetes de tipo 2, hiperglucemia, glucemia basal alterada, tolerancia alterada a glucosa, dislipidemia y síndrome metabólico.

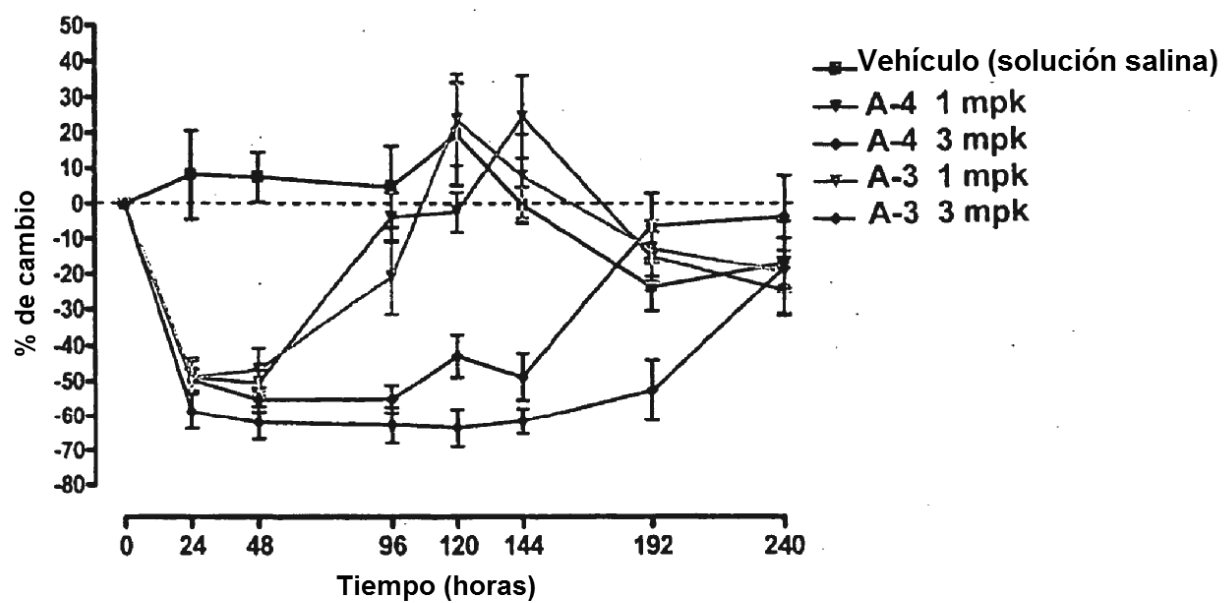


FIGURA 1

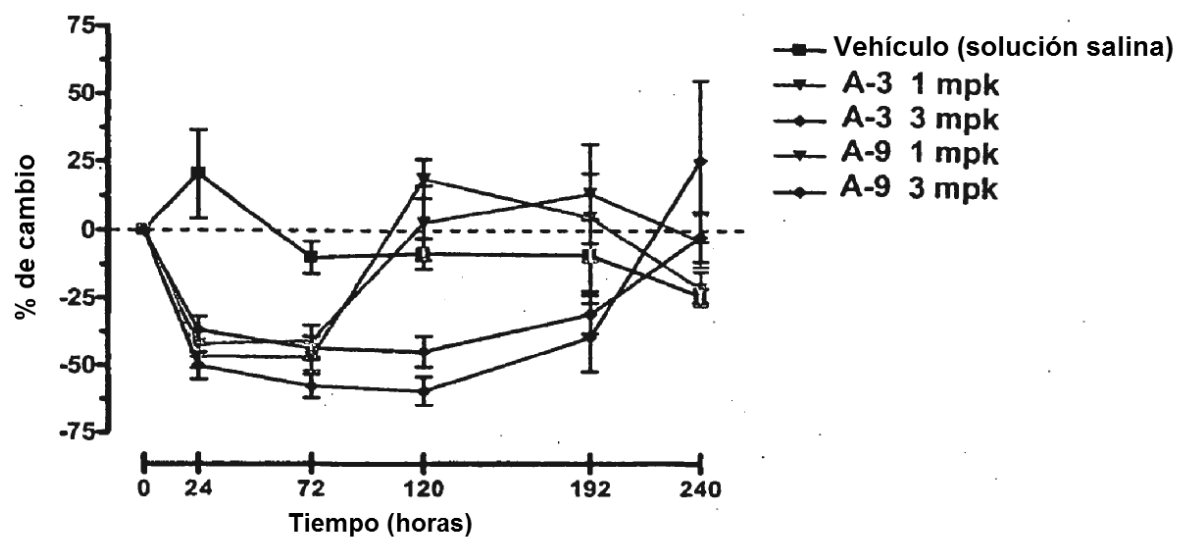


FIGURA 2

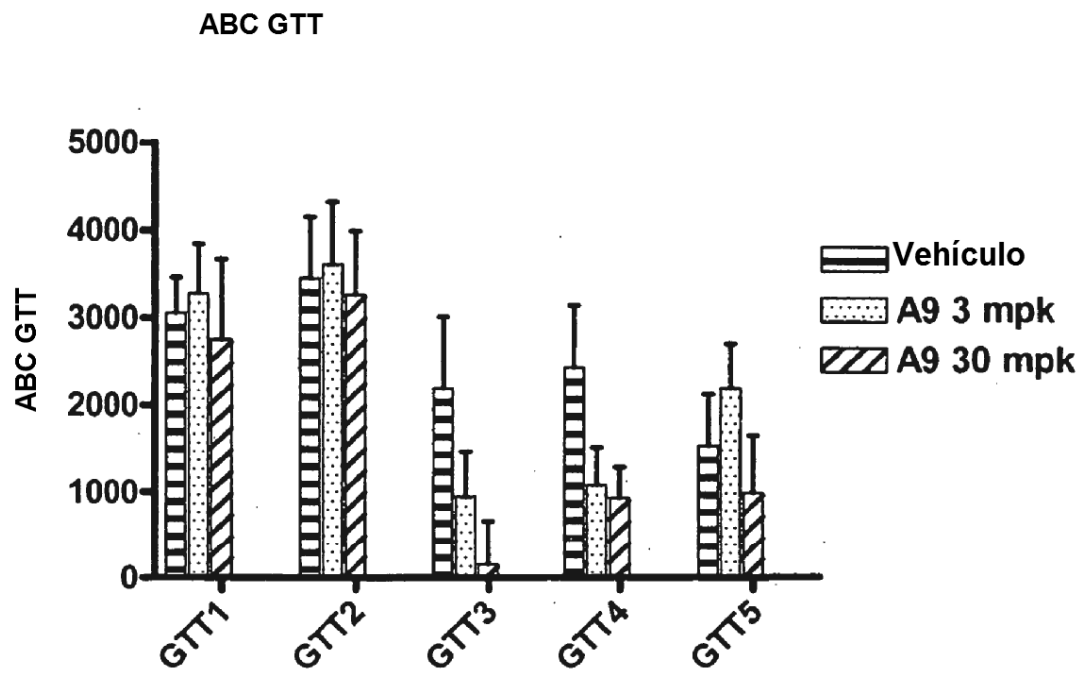


FIGURA 3

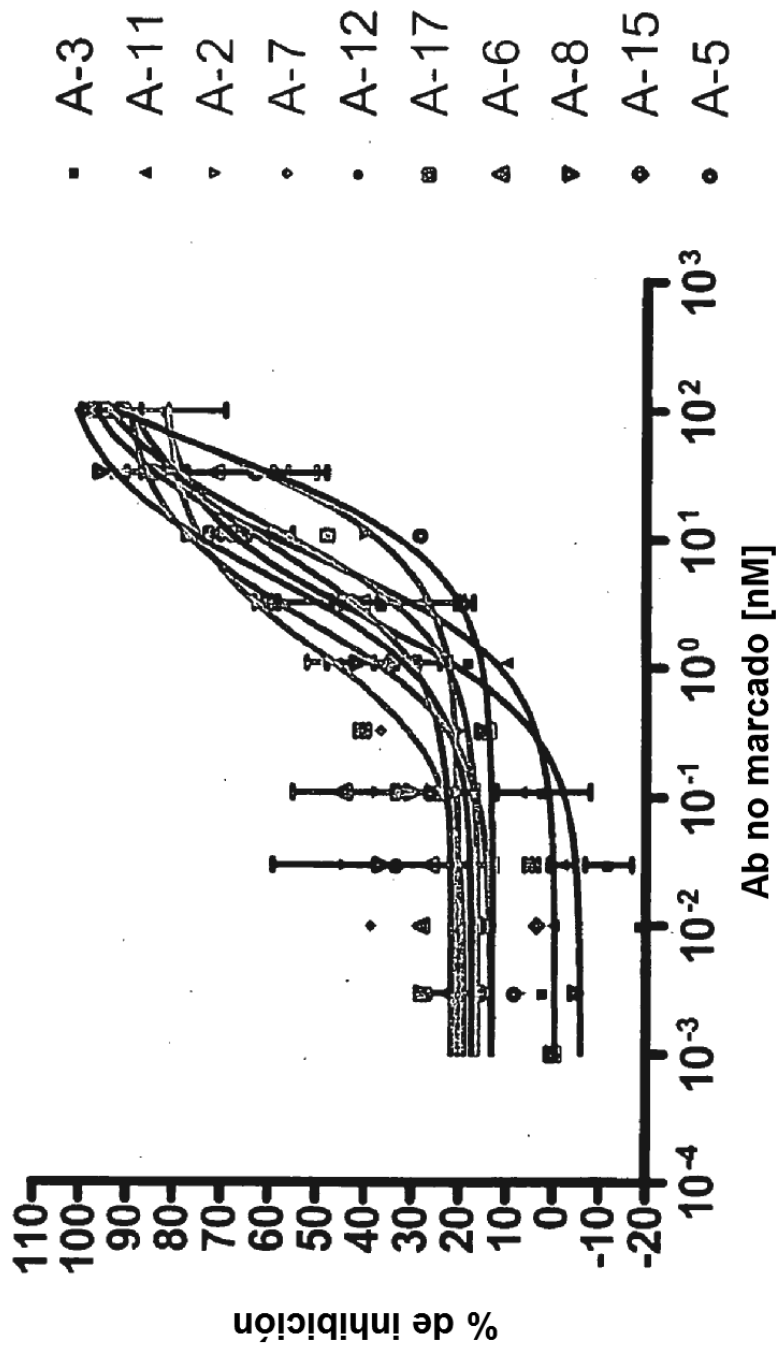


FIGURA 4

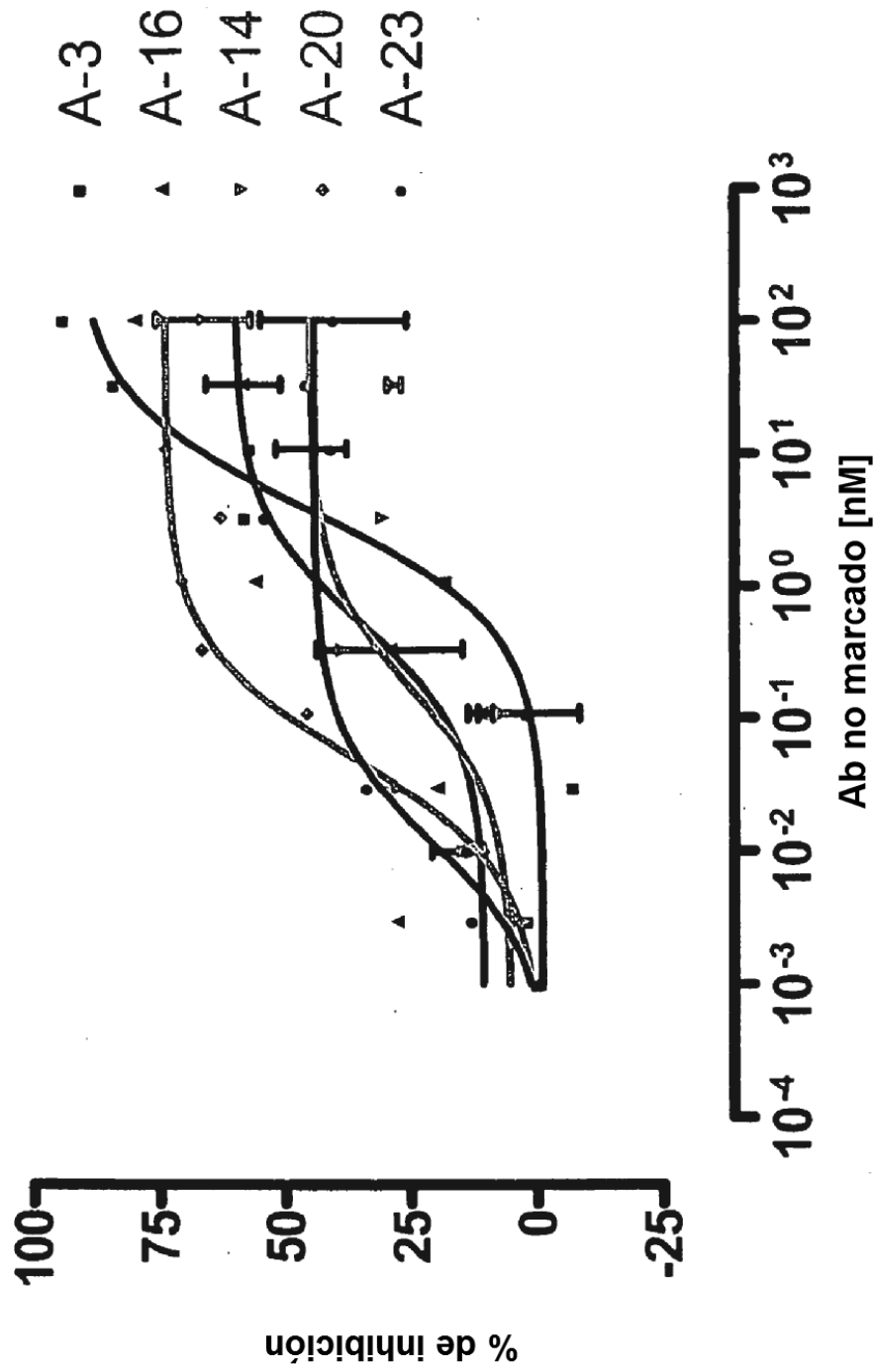


FIGURA 5

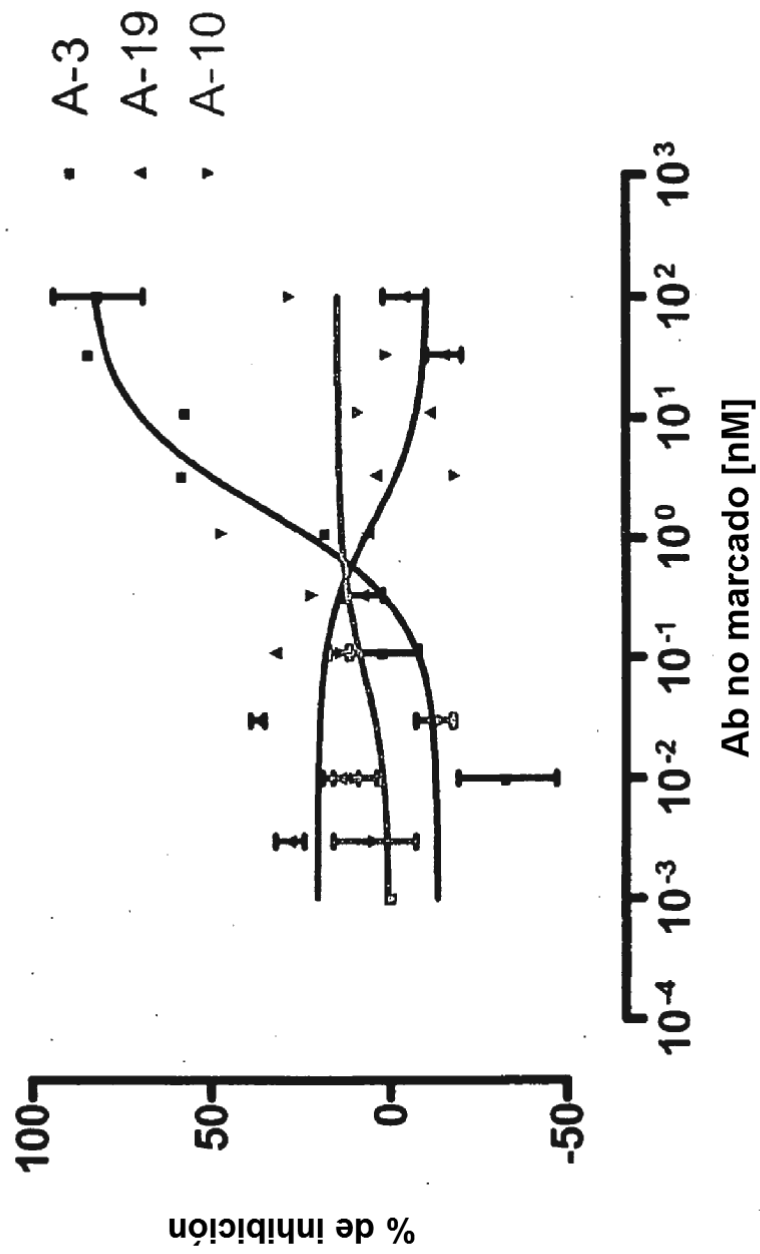
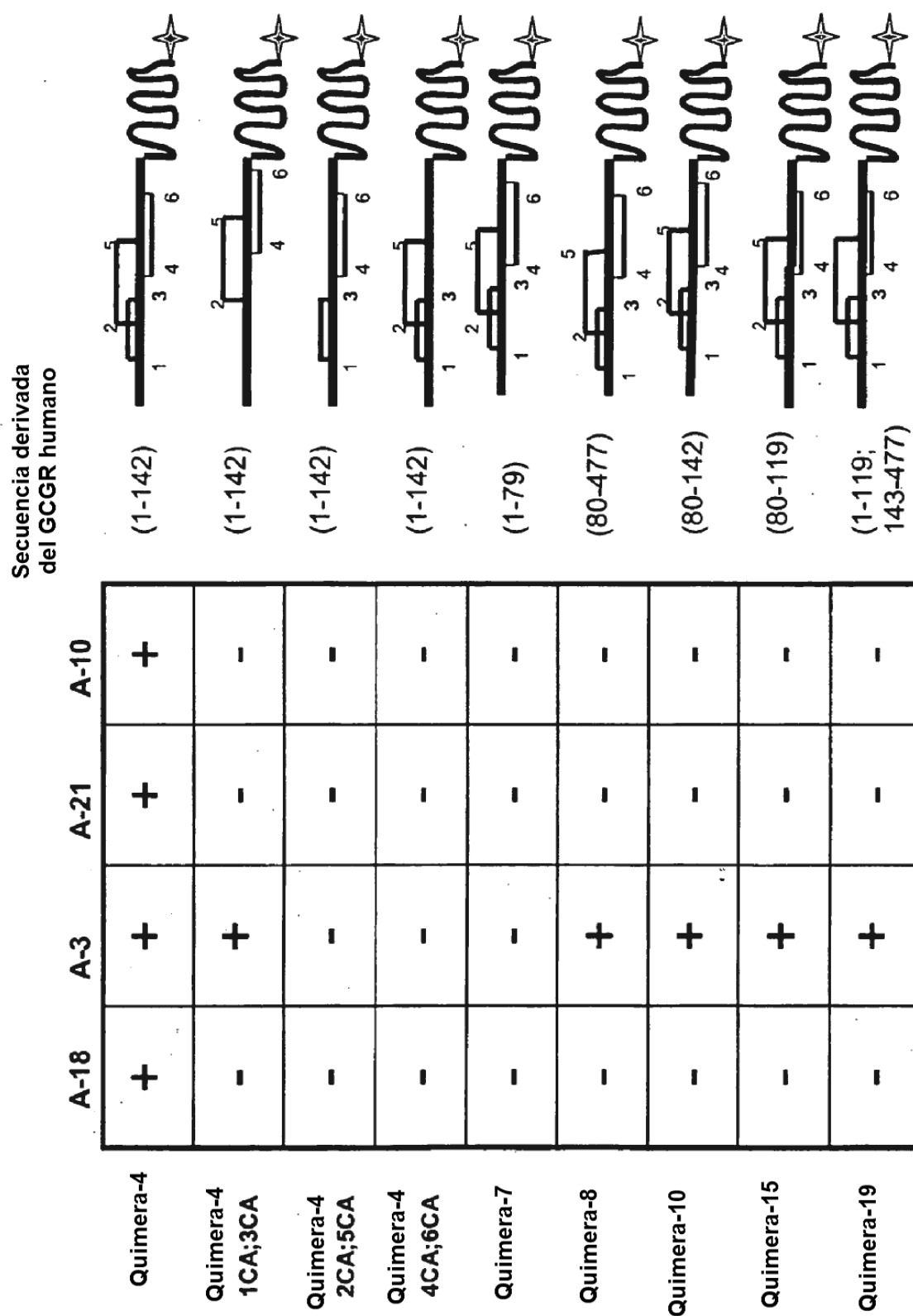


FIGURA 6



REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

Esta lista de referencias citadas por el solicitante es únicamente para la comodidad del lector. No forma parte del documento de la patente europea. A pesar del cuidado tenido en la recopilación de las referencias, no se pueden 5 excluir errores u omisiones y la EPO niega toda responsabilidad en este sentido.

Documentos de patentes citados en la descripción

- EP 1514932 A [0004]
- WO 2006005469 A [0004]
- US 6846634 B [0058]
- US 6696245 B [0058]
- US 050202512 B [0058]
- US 040202995 B [0058]
- US 040038291 B [0058]
- US 040009507 B [0058]
- US 030039958 B [0058]
- US 6054297 A [0063]
- US 5886152 A [0063]
- US 5877293 A [0063]
- US 6703199 B [0122]
- US 20050238646 A [0122]
- US 5869619 A [0123]
- US 5225539 A [0123]
- US 5821337 A [0123]
- US 5859205 A [0123]
- US 6881557 A [0123]
- US 5814318 A [0127]
- US 5569825 A [0127]
- US 5545806 A [0127]
- US 5877397 A [0127]
- US 050118643 B [0127] [0213]
- WO 05694879 A [0127] [0213]
- WO 9824838 A [0127] [0213]
- WO 0076310 A [0127] [0213]
- US 7064244 B [0127] [0213]
- US 4464456 A [0130]
- WO 9202551 A [0131]
- US 5627052 A [0131]
- US 5223409 A [0132]
- US 5698426 A [0132]
- US 4946778 A [0147]
- US 4331647 A, Goldenberg [0148]
- US 4518584 A [0152]
- US 4737462 A [0152]
- US 5011912 A [0153]
- WO 9310151 A [0158]
- US 5457035 A [0158]
- US 4751180 A [0159]
- US 4935233 A [0159]
- WO 9410308 A [0160]
- US 4640835 A [0161]
- US 4496689 A [0161]
- US 4301144 A [0161]
- US 4670417 A [0161]
- US 4791192 A [0161]
- US 4179337 A [0161]
- US 6133426 A [0161]
- US 6210924 B [0182]
- US 20050118643 A [0209] [0213]
- WO 60846202 A [0237]
- WO 60968977 A [0237]

Literatura diferente de patentes citadas en la descripción

- **FURUTA et al.** *J. Biol. Chem.*, 2001, vol. 276, 27197-27202 [0002]
- **BUGGY J. et al.** Human glucagon receptor monoclonal antibodies: Antagonism of glucagon action and use in receptor characterization. *Hormone and Metabolic Research*, 1996, vol. 28 (5), 215-219 [0004]
- **WRIGHT L. M. et al.** Structure of Fab hGR-2 F6, a competitive antagonist of the glucagon receptor. *Acta Crystallographica Section D, Biological Crystallography*, May 2000, vol. 56 (5), 573-580 [0004]
- **MULLER et al.** *N Eng J Med*, 1970, vol. 283, 109-115 [0006]
- **Proteins, Structures and Molecular Principles.** W. H. Freeman and Company, 1984 [0050] [0168]
- **Introduction to Protein Structure.** Garland Publishing, 1991 [0050] [0168]
- **THORNTON et al.** *Nature*, 1991, vol. 354, 105 [0050] [0168]
- **HUSTON et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, vol. 85, 5879-83 [0059]
- **HOLLIGER et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, vol. 90, 6444-48 [0059]
- **POLJAK et al.** *Structure*, 1994, vol. 2, 1121-23 [0059]
- **BOWIE et al.** *Science*, 1991, vol. 253, 164 [0066]
- **GOEDDEL.** *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology.* Academic Press, 1990, vol. 185 [0076]
- **BARON et al.** *Nucleic Acids Res.*, 1995, vol. 23, 3605-06 [0076]
- **JELINEK et al.** *Science*, 1993, vol. 259, 1614-1616 [0078]
- **SEGRE et al.** *Trends Endocrinol. Metab.*, vol. 4, 309-314 [0078]
- **LANITTO et al.** *Methods Mol. Biol.*, 2002, vol. 178, 303-16 [0118]
- **BLOOM et al.** *Protein Science*, 1997, vol. 6, 407 [0121]
- **HOLLINGER ; HUDSON.** *Nature Biotechnology*, 2005, vol. 23 (9), 1126-1136 [0122]
- **RIECHMANN et al.** *Nature*, 1988, vol. 332, 323 [0123]
- **LIU et al.** *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1987, vol. 84, 3439 [0123]
- **LARRICK et al.** *BiolTechnology*, 1989, vol. 7, 934 [0123]
- **WINTER et al.** *TIPS*, 1993, vol. 14, 139 [0123]
- **PADLAN et al.** *FASEB J.*, 1995, vol. 9, 133-39 [0123]
- **TAMURA et al.** *J. Immunol.*, 2000, vol. 164, 1432-41 [0123]
- **FAUCHERE.** *J. Adv. Drug Res.*, 1986, vol. 15, 29 [0051]
- **VEBER ; FREIDINGER.** *TINS*, 1985, 392 [0051]
- **EVANS et al.** *J. Med. Chem.*, 1987, vol. 30, 1229 [0051]
- **RIZO ; GIERASCH.** *Ann. Rev. Biochem.*, 1992, vol. 61, 387 [0051]
- **KORNDORFER et al.** *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 2003, vol. 53 (1), 121-129 [0054]
- **ROQUE et al.** *Biotechnol. Prog.*, 2004, vol. 20, 639-654 [0054]
- **Fundamental Immunology.** Raven Press, 1989 [0055]
- **KABAT et al.** *Sequences of Proteins of Immunological Interest.* US Dept. of Health and Human Services, 1991 [0056] [0060]
- **WARD et al.** *Nature*, 1989, vol. 341, 544-546 [0058]
- **BIRD et al.** *Science*, 1988, vol. 242, 423-26 [0059]
- **JAKOBOVITS A.** *Exp. Opin. Invest. Drugs.*, 1998, vol. 7, 607-14 [0127]
- **TSUDA et al.** *Genomics*, 1997, vol. 42, 413-21 [0127]
- **MENDEZ et al.** *Nat Genet.*, 1997, vol. 15, 146-56 [0127]
- **JAKOBOVITS.** *Curr Biol.*, 1994, vol. 4, 761-63 [0127]
- **ARBONES et al.** *Immunity*, 1994, vol. 1, 247-60 [0127]
- **GREEN et al.** *Nat Genet.*, 1994, vol. 7, 13-21 [0127]
- **JAKOBOVITS et al.** *Nature*, 1993, vol. 362, 255-58 [0127]
- **JAKOBOVITS et al.** *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 1993, vol. 90, 2551-55 [0127]
- **CHEN, J. ; M. TROUNSTINE ; F. W. ALT ; F. YOUNG ; C. KURAHARA ; J. LORING ; D. HUSZAR.** Immunoglobulin gene rearrangement in B-cell deficient mice generated by targeted deletion of the JH locus. *International Immunology*, 1993, vol. 5, 647-656 [0127]
- **CHOI et al.** *Nature Genetics*, 1993, vol. 4, 117-23 [0127]
- **FISHWILD et al.** *Nature Biotechnology*, 1996, vol. 14, 845-51 [0127]
- **HARDING et al.** *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1995 [0127]
- **LONBERG et al.** *Nature*, 1994, vol. 368, 856-59 [0127]
- **LONBERG.** Transgenic Approaches to Human Monoclonal Antibodies in Handbook of Experimental Pharmacology. 1994, vol. 113, 49-101 [0127]
- **LONBERG et al.** *Internal Review of Immunology*, 1995, vol. 13, 65-93 [0127]

- **ZHANG, W. et al.** *Molecular Immunology.*, 2005, vol. 42 (12), 1445-1451 [0123]
- **HWANG W. et al.** *Methods*, 2005, vol. 36 (1), 35-42 [0123]
- **DALL'ACQUA WF et al.** *Methods*, 2005, vol. 36 (1), 43-60 [0123]
- **CLARK, M.** *Immunology Today.*, 2000, vol. 21 (8), 397-402 [0123]
- **BRUGGEMANN et al.** *Curr. Opin. Biotechnol.*, 1997, vol. 8, 455-58 [0125] [0127]
- Antibody Engineering: Methods and Protocols. Humana Press, 2003, 191-200 [0127]
- **KELLERMANN et al.** *Curr Opin Biotechnol.*, 2002, vol. 13, 593-97 [0127]
- **RUSSEL et al.** *Infect Immun.*, 2000, vol. 68, 1820-26 [0127]
- **GALLO et al.** *Eur J Immun.*, 2000, vol. 30, 534-40 [0127]
- **DAVIS et al.** *Cancer Metastasis Rev.*, 1999, vol. 18, 421-25 [0127]
- **GREEN.** *J Immunol Methods*, 1999, vol. 231, 11-23 [0127]
- **JAKOBOVITS.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1998, vol. 31, 33-42 [0127]
- **GREEN et al.** *J Exp Med.*, 1998, vol. 188, 483-95 [0127]
- **BURTON et al.** *Adv. Immunol.*, 1994, vol. 57, 191-280 [0132]
- **HUSE et al.** *Science*, 1989, vol. 246, 1275-81 [0132]
- **SASTRY et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, vol. 86, 5728-32 [0132]
- **ALTING-MEES et al.** *Strategies in Molecular Biology*, 1990, vol. 3, 1-9 [0132]
- **KANG et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, vol. 88, 4363-66 [0132]
- **HOOGENBOOM et al.** *J. Molec. Biol.*, 1992, vol. 227, 381-388 [0132]
- **SCHLEBUSCH et al.** *Hybridoma*, 1997, vol. 16, 47-52 [0132]
- **BIRD et al.** *Science*, 1988, vol. 242, 423-426 [0134]
- **HARRIS, R.J.** *Journal of Chromatography*, 1995, vol. 705, 129-134 [0138]
- Purification of Immunoglobulin G (IgG). **BAINES et al.** *Methods in Molecular Biology*. The Humana Press, Inc, 1992, vol. 10, 79-104 [0139]
- **SCHIER et al.** *J. Mol. Biol.*, 1992, vol. 263, 551 [0140]
- Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses. Plenum Press, 1980 [0143]
- Antibodies: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988 [0143]
- **NEUBERGER.** *Nature Biotechnology*, 1996, vol. 14, 826 [0127]
- **TAYLOR et al.** *Nucleic Acids Research*, 1992, vol. 20, 6287-95 [0127]
- **TAYLOR et al.** *International Immunology*, 1994, vol. 6, 579-91 [0127]
- **TOMIZUKA et al.** *Nature Genetics*, 1997, vol. 16, 133-43 [0127]
- **TOMIZUKA et al.** *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2000, vol. 97, 722-27 [0127]
- **TUAILLON et al.** *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1993, vol. 90, 3720-24 [0127]
- **TUAILLON et al.** *Journal of Immunology*, 1994, vol. 152, 2912-20 [0127]
- **LONBERG et al.** *Nature*, 1994, vol. 368, 856 [0127]
- **TAYLOR et al.** *Int. Immun.*, 1994, vol. 6, 579 [0127]
- **JAKOBOVITS et al.** *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1995, vol. 764, 525-35 [0127]
- **GLASKY et al.** *Hybridoma*, 1989, vol. 8, 377-89 [0130]
- **BOEMER et al.** *J. Immunol.*, 1991, vol. 147, 86-95 [0130]
- **BABCOOK et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, vol. 93, 7843-48 [0131]
- **WINTER et al.** *Annu. Rev. Immunol.*, 1994, vol. 12, 433-55 [0132]
- **ANDREWS, S.M. ; TITUS, J.A. et al.** *Current Protocols in Immunology*. John Wiley & Sons, 2003, 2.8.1-2.8.102.10A.1-2.10A.5 [0148]
- **LARRICK et al.** *Methods: A Companion to Methods in Enzymology*, 1991, vol. 2, 106 [0149]
- Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies. **COURTENAY-LUCK et al.** *Monoclonal Antibodies: Production, Engineering and Clinical Application*. Cambridge University Press, 1995, 166 [0149]
- Genetic Manipulation and Expression of Antibodies. **WARD et al.** *Monoclonal Antibodies: Principles and Applications*. Wiley-Liss, Inc, 1995, 137 [0149]
- **WALDER et al.** *Gene*, 1986, vol. 42, 133 [0152]
- **BAUER et al.** *Gene*, January 1985, vol. 37, 73 [0152]
- **CRAIK.** *BioTechniques*, January 1985, 12-19 [0152]
- **SMITH et al.** *Genetic Engineering: Principles and Methods*. Plenum Press, 1981 [0152]
- **HOPP et al.** *Bio/Technology*, 1988, vol. 6, 1204 [0153]
- **ASHKENAZI et al.** *PNAS USA*, 1991, vol. 88, 10535 [0156]
- **BYRN et al.** *Nature*, 1990, vol. 344, 677 [0156]
- **HOLLENBAUGH et al.** *Construction of Immunoglobulin Fusion Proteins. Current Protocols in Immunology*, 1992, vol. 4, 10.19.1-10.19.11 [0156]

- **YANG et al.** *J. Mol. Biol.*, 1995, vol. 254, 392-403 [0145]
- **MARKS et al.** *Bio/Technology*, 1992, vol. 10, 779-783 [0145]
- **LOW et al.** *J. Mol. Biol.*, 1996, vol. 250, 350-368 [0145]
- **PATTEN et al.** *Curr. Opin. Biotechnol.*, 1997, vol. 8, 724-733 [0145]
- **THOMPSON et al.** *J. Mol. Biol.*, 1996, vol. 256, 7-88 [0145]
- **CRAMERI et al.** *Nature*, 1998, vol. 391, 288-291 [0145]
- **VAUGHAN et al.** *Nature Biotechnology*, 1998, vol. 16, 535-539 [0145]
- **LUNDE et al.** *Biochem. Soc. Trans.*, 2002, vol. 30, 500-06 [0146]
- **KORTT et al.** *Prot. Eng.*, 1997, vol. 10, 423 [0147]
- **KORTT et al.** *Biomol. Eng.*, 2001, vol. 18, 95-108 [0147]
- **KRIANGKUM et al.** *Biomol. Eng.*, 2001, vol. 18, 31-40 [0147]
- **BIRD.** *Science*, 1988, vol. 242, 423 [0147]
- **HUSTON et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, vol. 85, 5879 [0147]
- **WARD et al.** *Nature*, 1989, vol. 334, 544 [0147]
- **DE GRAAF et al.** *Methods Mol Biol.*, 2002, vol. 178, 379-87 [0147]
- **NISONOFF et al.** *Arch. Biochem. Biophys.*, 1960, vol. 89, 230 [0148]
- **PORTER.** *Biochem. J.*, 1959, vol. 73, 119 [0148]
- **EDELMAN et al.** *Methods in Enzymology*. Academic Press, 1967, vol. 1, 422 [0148]
- **NYGREN ; UHLEN.** *Current Opinion in Structural Biology*, 1997, vol. 7, 463-469 [0171]
- *Current Protocols in Molecular Biology*. John Wiley & Sons, 1989, 6.3.1-6.3.6 [0176]
- **SAMBROOK ; FRITSCH ; MANIATIS.** *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989 [0176]
- *Current Protocols in Molecular Biology*. John Wiley & Sons, Inc, 1995 [0176]
- **VOSS et al.** *Trends Biochem. Sci.*, 1986, vol. 11, 287 [0181]
- **MANIATIS et al.** *Science*, 1987, vol. 236, 1237 [0181]
- **RASMUSSEN et al.** *Cytotechnology*, 1998, vol. 28, 31 [0182]
- **URLAUB et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1980, vol. 77, 4216-20 [0182]
- **GLUZMAN et al.** *Cell*, 1981, vol. 23, 175 [0182]
- **MCMAHAN et al.** *EMBO J.*, 1991, vol. 10, 2821 [0182]
- **POUWELS et al.** *Cloning Vectors: A Laboratory Manual*. Elsevier, 1985 [0182]
- **BAUM et al.** *EMBO J.*, 1994, vol. 13, 3992-4001 [0158]
- **LANDSCHULZ et al.** *Science*, 1988, vol. 240, 1759 [0160]
- **HOPPE et al.** *FEBS Letters*, 1994, vol. 344, 191 [0160]
- **FANSLOW et al.** *Semin. Immunol.*, 1994, vol. 6, 267-78 [0160]
- **MOULT J.** *Curr. Op. in Biotech.*, 1996, vol. 7 (4), 422-427 [0165]
- **CHOU et al.** *Biochemistry*, 1974, vol. 13 (2), 222-245 [0165]
- **CHOU et al.** *Biochemistry*, 1974, vol. 113 (2), 211-222 [0165]
- **CHOU et al.** *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.*, 1978, vol. 47, 45-148 [0165]
- **CHOU et al.** *Ann. Rev. Biochem.*, vol. 47, 251-276 [0165]
- **CHOU et al.** *Biophys. J.*, 1979, vol. 26, 367-384 [0165]
- **HOLM et al.** *Nucl. Acid. Res.*, 1999, vol. 27 (1), 244-247 [0165]
- **BRENNER et al.** *Curr. Op. Struct. Biol.*, 1997, vol. 7 (3), 369-376 [0165]
- **JONES, D.** *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 1997, vol. 7 (3), 377-87 [0166]
- **SIPPL et al.** *Structure*, vol. 4 (1), 15-19 [0166]
- **BOWIE et al.** *Science*, 1991, vol. 253, 164-170 [0166]
- **GRIBSKOV et al.** *Meth. Enzym.*, 1990, vol. 183, 146-159 [0166]
- **GRIBSKOV et al.** *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1987, vol. 84 (13), 4355-4358 [0166]
- **RICHARDSON et al.** *Nature Clin Pract Oncol*, 2005, vol. 2, 48-53 [0194]
- **GIOVANNUCCI et al.** *Gastroenterology*, 2007, vol. 132, 2208-2225 [0194]
- **KRONE et al.** *Integrative Cancer Ther*, 2005, vol. 4 (1), 25-31 [0194]
- **CHANG et al.** *Diabetologia*, 2003, vol. 46 (5), 595-607 [0194]
- **JEE et al.** *Yonsei Med J*, 2005, vol. 46 (4), 449-55 [0194]
- *Remington's Pharmaceutical Sciences*. 2000 [0198]
- *REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES*. Mack Publishing Company, 2000 [0198]
- **KERNEY et al.** *J. Immunol. American Type Culture Collection CRL 1580*, 1979, vol. 123, 1548-1550 [0213]
- **LAZAENO et al.** *Br. J. Pharmacol.*, 1993, vol. 109 (4), 1110-9 [0218]
- **URLAUB et al.** *PNAS US*, 1980, vol. 77, 4126-4220 [0228]
- **RASMUSSEN et al.** *Cytotechnology*, 1998, vol. 28, 31-42 [0228]