

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 527 471**

51 Int. Cl.:

C07K 14/715 (2006.01)

C07K 7/06 (2006.01)

C07K 7/08 (2006.01)

C12N 15/62 (2006.01)

C12N 15/63 (2006.01)

C12N 5/10 (2006.01)

A61K 38/08 (2006.01)

A61K 38/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.05.2002 E 07019762 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.10.2014 EP 1921088**

54 Título: **Péptidos y moléculas relacionadas que se unen a TALL-1**

30 Prioridad:

11.05.2001 US 290196 P

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

26.01.2015

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**MIN, HOSUNG;
HSU, HAILING y
XIONG, FEI**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 527 471 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

Péptidos y moléculas relacionadas que se unen a TALL-1

Antecedentes de la invención

Tras años de estudio de la necrosis de los tumores, los factores de necrosis tumoral (TNF) α y β fueron finalmente clonados en 1984. En los años siguientes presenciamos la aparición de una superfamilia de citoquinas TNF, incluyendo el ligando de Fas (FasL), ligando de CD27 (CD27L), ligando de CD30 (CD30L), ligando de CD40 (CD40L), ligando inductor de la apoptosis relacionado con el TNF (TRAIL, también denominado AGP-1), la proteína de enlace de la osteoprotegerina (OPG-BP o ligando de OPG), ligando de 4-1BB, LIGHT, APRIL, y TALL-1. Smith et al. (1994), Cell 76: 959-962; Lacey et al. (1998), Cell 93:165-176; Chichepotiche et al. (1997), J. Biol. Chem. 272: 32401-32410; Mauri et al. (1998), Immunity 8:21-30; Hahne et al. (1998), J. Exp. Med. 188:1185-90; Shu et al. (1999), J. Leukocyte Biology 65:680-3. Esta familia está unificada por su estructura, particularmente en el extremo c-terminal. Por otra parte, la mayoría de los miembros conocidos hasta la fecha se expresan en compartimentos inmunológicos, aunque algunos miembros también se expresan en otros tejidos y órganos. Smith et al. (1994), Cell 76:959-62. Todos los miembros de los ligandos, con excepción de LT-a, son proteínas transmembrana de tipo II, que se caracterizan por una región de 150 aminoácidos conservada dentro del dominio extracelular del extremo c-terminal. Aunque está limitado a una identidad de tan solo el 20-25%, el dominio conservado de 150 aminoácidos se pliega en un característico beta sándwich de hoja plegada y se trimeriza. Esta región conservada puede ser liberada proteolíticamente, generando así una forma funcional soluble. Banner et al. (1993), Cell 73:431-445.

Muchos miembros de esta familia de ligandos se expresan en tejidos enriquecidos en linfoides y desempeñan papeles importantes en el desarrollo y la modulación del sistema inmunológico. Smith et al. (1994). Por ejemplo, el TNF α se sintetiza principalmente por macrófagos y es un mediador importante de respuestas inflamatorias y defensas inmunológicas. Tracey & Cerami (1994), Ann. Rev. Med. 45:491-503. El Fas-L, expresado predominantemente en células T activadas, modula la apoptosis mediada por TCR de timocitos. Nagata, S. & Suda, T. (1995) Immunology Today 16:39-43; Castrim et al. (1996), Immunity 5:617-27. El CD40L, también expresado en células T activadas, proporciona una señal esencial para la supervivencia, la proliferación y el cambio de isotipo de inmunoglobulina de las células B. Noelle (1996), Immunity 4:415-9.

Se han identificado los receptores cognados de la mayoría de los miembros de la familia del ligando TNF. Estos receptores comparten múltiples repeticiones ricas en castina características dentro de sus dominios extracelulares y no poseen motivos catalíticos dentro de las regiones citoplásmicas. Smith et al. (1994). Los receptores envían señales mediante interacciones directas con proteínas con dominio de muerte (p. ej. TRADD, FADD y RIP) o con proteínas TRAF (p. ej., TRAF2, TRAF3, TRAF5 y TRAF6), desencadenando rutas de señalización divergentes y superpuestas, p. ej., apoptosis, activación de NF- κ B o activación de JNK. Wallach et al. (1999), Annual Review of Immunology 17:331- 67. Estos eventos de señalización conducen a la muerte, proliferación, activación o diferenciación celular. El perfil de expresión de cada miembro receptor varía. Por ejemplo, TNFR1 se expresa en un amplio espectro de tejidos y células, mientras que el receptor de superficie celular de OPGL se limita principalmente a los osteoclastos. Hsu et al. (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96:3540-5.

Varios grupos de investigación han identificado recientemente ligandos de la familia del TNF con una secuencia igual o sustancialmente similar. El ligando ha recibido varios nombres: neutrocina α (WO 98/18921, publicado el 7 de mayo de 1998), 63954 (WO 98/27114, publicado el 25 de junio de 1998), TL5 (EP869180, publicado el 7 de octubre de 1998), NTN-2 (WO 98/55620 y WO 98/55621, publicados el 10 de diciembre de 1998), TNRL1-alfa (WO 9911791, publicado el 11 de marzo de 1999), ligando kay (WO99/12964, publicado el 18 de marzo de 1999), y AGP-3 (Solicitud prov. EE.UU. N° 60/119.906, presentada el 12 de febrero 1999 y 60/166.271, presentada el 18 de noviembre de 1999, respectivamente); y TALL-1 (WO00/68378, publicado el 16 de noviembre de 2000). En adelante, los ligandos mencionados en el presente se denominan colectivamente TALL-1.

TALL-1 es un miembro de la superfamilia de ligandos del TNF que está funcionalmente implicado en la supervivencia y proliferación de células B. Los ratones transgénicos con una sobreexpresión de TALL-1 experimentaron una severa hiperplasia de células B y una enfermedad autoinmune similar al lupus. Khare et al. (2000) PNAS 97(7):3370-3375. Tanto TACI como BCMA sirven como receptores de la superficie celular de TALL-1. Gross et al. (2000), Nature 404:995-999; Ware (2000), J. Exp. Med. 192(11): F35-F37; Ware (2000), Nature 404: 949-950; Xia et al. (2000), J. Exp. Med. 192(1):137-143; Yu et al. (2000), Nature Immunology 1(3):252-256; Marsters et al. (2000), Current Biology 10:785-788; Hatzoglou et al. (2000) J of Immunology 165:1322-1330; Shu et al. (2000) PNAS 97(16):9156-9161; Thompson et al. (2000) J Exp. Med. 192(1):129-135; Mukhopadhyay et al. (1999) J. Biol. Chem. 274(23): 15978-81; Shu et al. (1999) J. Leukocyte Biol. 65:680-683; Grass et al. (1995) Blood 85(12): 3378-3404; Smith et al. (1994), Cell 76:959-962; Patente estadounidense N° 5.969.102, publicada el 19 de octubre de 1999; WO 00/67034, publicado el 9 de noviembre de 2000; WO 00/40716, publicado el 13 de julio de 2000; WO 99/35170, publicado el 15 de julio de 1999. Ambos receptores se expresan en células B y envían señales mediante interacción con las proteínas TRAF. Por otra parte, tanto TACI como BCMA también se unen a otro miembro de la familia de los ligandos del TNF: APRIL. Yu et al. (2000), Nature Immunology 1(3) 252-256. También se ha demostrado que APRIL induce la proliferación de células B.

Hasta la fecha no se ha divulgado ninguna proteína recombinante o modificada que emplee péptidos moduladores de TALL-1. Las proteínas recombinantes y modificadas son una clase emergente de agentes terapéuticos. Las

modificaciones útiles de agentes terapéuticos de proteína incluyen la combinación con el dominio "Fc" de un anticuerpo y el enlace a polímeros como el glicol de polietileno (PEG) y el dextrano. Estas modificaciones se debaten detalladamente en una solicitud de patente titulada "Péptidos modificados como agentes terapéuticos", publicada como WO 00/24782.

- 5 Un planteamiento muy diferente al desarrollo de agentes terapéuticos es la investigación de la biblioteca de péptidos. La interacción del ligando de una proteína como su receptor a menudo se produce en una interfaz relativamente grande. No obstante, como se ha demostrado en el caso de la hormona de crecimiento humana y su receptor, solamente unos pocos residuos principales de la interfaz contribuyen de forma importante a la energía del enlace. Clackson et al. (1995), Science 267:383-6. La mayor parte del ligando de la proteína solamente presenta los
- 10 epitopes de unión en la topología correcta o está al servicio de funciones no relacionadas con la unión. Por tanto, las moléculas que solamente tienen una longitud de "péptido" (2 a 40 aminoácidos) se pueden unir a la proteína receptora de un determinado ligando de proteína grande. Estos péptidos pueden imitar la bioactividad del ligando de proteína grande ("agonistas del péptido") o, mediante una unión competitiva, inhibir la bioactividad del ligando de la proteína grande ("antagonistas del péptido").
- 15 Las bibliotecas de péptidos que presentan fagos se han revelado como un potente método para identificar estos agonistas y antagonistas de los péptidos. Véase, por ejemplo, Scott et al. (1990), Science 249:386; Devlin et al. (1990), Science 249:404; Patente estadounidense N° 5.223.409, publicada el 29 de junio de 1993; Patente estadounidense N° 5.733.731, publicada el 31 de marzo de 1998; Patente estadounidense n° 5.498.530, publicada el 12 de marzo de 1996; Patente estadounidense n° 5.432.018, publicada el 11 de julio de 1995; Patente
- 20 estadounidense n° 5.338.665, publicada el 16 de agosto de 1994; Patente estadounidense n° 5.922.545, publicada el 13 de julio de 1999; WO 96/40987, publicado el 19 de diciembre de 1996; y WO 98/15833, publicado el 16 de abril de 1998. En estas bibliotecas, las secuencias aleatorias de péptidos se despliegan mediante fusión con las proteínas de recubrimiento del fago filamentoso. Típicamente, los péptidos desplegados se eluyen por afinidad frente a una proteína diana inmovilizada. Los fagos retenidos se pueden enriquecer mediante ciclos sucesivos de repropagación y purificación por afinidad. Los mejores péptidos de unión se pueden secuenciar para identificar los principales
- 25 residuos dentro de una o más de las familias de péptidos estructuralmente relacionadas. Véase, por ejemplo, Cwirla et al. (1997), Science 276:1696-9, donde se identificaron dos familias distintas. Las secuencias de péptidos pueden sugerir también qué residuos pueden ser sustituidos de forma segura mediante escaneado de alanina o mediante mutagénesis en el plano del ADN. Se pueden crear y seleccionar bibliotecas de mutagénesis para optimizar todavía más la secuencia de los mejores elementos de unión. Lowman (1997), Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 26:401-24.
- 30 El análisis estructural de la interacción proteína-proteína también se puede utilizar para sugerir los péptidos que imitan la actividad de unión de los ligandos de proteínas grandes. En este análisis, la estructura de cristal puede sugerir la identidad y la orientación relativa de residuos críticos del ligando de proteína grande, a partir del cual se puede diseñar un péptido. Véase, por ejemplo, Takasaki et al. (1997), Nature Biotech. 15:1266-70. Estos métodos
- 35 analíticos también se pueden emplear para investigar la interacción entre una proteína receptora y los péptidos seleccionados mediante la presentación de fagos, lo que puede sugerir una nueva modificación de los péptidos para incrementar la afinidad de unión.
- Otros métodos compiten con la presentación de fagos en la investigación de péptidos. Se puede fusionar una biblioteca de péptidos con el carboxi-terminal del represor *lac* y expresarse en *E. coli*. Otro procedimiento basado en
- 40 *E. coli* permite la exposición en la membrana externa de la célula mediante fusión con una lipoproteína asociada al peptidoglicano (PAL). En adelante, estos y otros métodos relacionados se denominan colectivamente "presentación en *E. coli*". En otro método, se interrumpe la traducción de ARN aleatorio antes de liberar ribosomas, dando como resultado una biblioteca de polipéptidos con su ARN asociado todavía unido. En adelante, este y otros métodos relacionados se denominan colectivamente "presentación en ribosomas".
- 45 Otros métodos emplean péptidos unidos a ARN; por ejemplo, PROfusion technology, Phyllos, Inc. Véase, por ejemplo, Roberts & Szostak (1997), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94:12297-303. En adelante, este y los métodos relacionados se denominan colectivamente "selección de ARN-péptido". Se han desarrollado bibliotecas de péptidos obtenidos por procesos químicos en las que los péptidos son inmovilizados en materiales no biológicos, estables, tales como varillas de polietileno o resinas permeables a disolventes. Otra biblioteca de péptidos obtenida por
- 50 procesos químicos utiliza la fotolitografía para explorar los péptidos inmovilizados en portaobjetos. En adelante, este y los métodos relacionados se denominan colectivamente "selección de compuesto químico-péptido". La selección de compuesto químico-péptido puede ser ventajosa porque permite el uso de D-aminoácidos y otros análogos no naturales, así como elementos no peptídicos. Tanto los métodos biológicos como químicos se revisan en Wells & Lowman (1992), Curr. Opin. Biotechnol. 3:355-62. Conceptualmente, se pueden descubrir peptidomiméticos de
- 55 cualquier proteína utilizando la presentación del fago, la selección de ARN-péptido y los demás métodos anteriormente mencionados.

Resumen de la invención

- La presente invención se refiere a agentes terapéuticos que modulan la actividad de TALL-1, tal y como se indica en las reivindicaciones. De acuerdo con la presente divulgación, los moduladores de TALL-1 pueden comprender una
- 60 secuencia de aminoácidos Dz²Lz⁴ (SEC. ID. N°: 108) donde z² es un residuo de aminoácido y z⁴ es treonilo o isoleucilo. Estos moduladores de TALL-1 de la divulgación comprenden moléculas de las siguientes fórmulas:

I (a) $a^1 a^2 a^3 C D a^4 L a^5 a^6 a^7 C a^8 a^9 a^{10}$ (SEC. ID. N°: 100)

donde:

- 5 a^1, a^2, a^3 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o están ausentes;
 a^6 es un residuo de aminoácido;
 a^9 es un residuo hidrófobo o básico;
 a^8 es treonilo o isoleucilo;
 a^{12} es un residuo hidrófobo neutro; y
 a^{13} y a^{14} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o están ausentes.

10

I(b) $b^1 b^2 b^3 C b^4 b^5 D b^6 L b^7 b^8 b^9 b^{10} C b^{11} b^{12} b^{13}$ (SEC. ID. N°: 104)

donde:

- 15 b^1 y b^2 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o están ausentes;
 b^3 es un residuo ácido o de amida;
 b^5 es un residuo de aminoácido;
 b^6 es un residuo aromático;
 b^8 es un residuo de aminoácido;
 b^{10} es T o I;
 b^{11} es un residuo básico;
20 b^{12} y b^{13} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos;
 b^{14} es un residuo hidrófobo neutro; y
 b^{16}, b^{17} y b^{18} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o están ausentes.

1(c) $c^1 c^2 c^3 C c^4 D c^5 L c^6 c^7 c^8 c^9 c^{10} c^{11} c^{12} c^{13} c^{14} C c^{15} c^{16} c^{17} c^{18}$ (SEC. ID. N°: 105)

25 donde:

- c^1, c^2 , y c^3 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o están ausentes;
 c^5 es un residuo de aminoácido;
 c^7 es un residuo de aminoácido;
 c^9 es T o I;
30 c^{10} es un residuo básico;
 c^{11} y c^{12} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos;
 c^{13} es un residuo polar neutro;
 c^{14} es un residuo de aminoácido;
 c^{16} es un residuo de aminoácido;
35 c^{17} es un residuo hidrófobo neutro; y
 c^{18} es un residuo de aminoácido o está ausente.

1(d) $d^1 d^2 d^3 C d^4 d^5 W D d^6 L d^7 d^8 d^9 C d^{10} d^{11} d^{12}$ (SEC. ID. N°: 106)

donde:

- 40 d^1, d^2 , y d^3 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o están ausentes;
 d^5, d^6 , y d^7 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos;
 d^{10} es un residuo de aminoácido;
 d^{12} es T o I;

d^{13} es un residuo de aminoácido;
 d^{14} es un residuo de aminoácido; y
 d^{16} , d^{17} y d^{18} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o están ausentes.

5 1(e) $e^1 e^2 e^3 C e^5 e^6 D e^7 L e^8 K e^9 C e^{10} e^{11} e^{12}$ (SEC. ID. N°: 107)

donde:

e^1 , e^2 , y e^3 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o están ausentes.
 e^5 , e^6 , e^7 , e^9 , y e^{13} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos;
10 e^{11} es T o I; y
 e^{15} , e^{16} y e^{17} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o están ausentes.

1(f) $f^1 f^2 f^3 K f^4 D f^5 L f^6 Q f^7 f^8 f^9$ (SEC. ID. N°: 109)

donde:

15 f^1 , f^2 y f^3 son residuos de aminoácidos o están ausentes (con un f^1 , f^2 y f^3 preferiblemente C cuando f^{12} , f^{13} , o f^{14} es C);
 f^5 es W, Y, o F (preferiblemente W);
 f^7 es un residuo de aminoácido (preferiblemente L);
 f^9 es T o I (preferiblemente T);
20 f^{10} es K, R, o H (preferiblemente K);
 f^{12} es C, un residuo polar neutro o un residuo básico (preferiblemente W, C o R);
 f^{13} es C, un residuo polar neutro o está ausente (preferiblemente V); y
 f^{14} es cualquier residuo de aminoácido o está ausente;
siempre que solamente uno de f^1 , f^2 , o f^3 , pueda ser C, y solamente uno de f^{12} , f^{13} y f^{14} pueda ser C.

25 Los compuestos de las fórmulas 1(a) a 1(f) anteriores incorporan $Dz^2 Lz^4$, así como la SEC. ID. N°: 63, recogida más adelante. La secuencia de 1(f) se obtuvo como una secuencia de consenso, tal y como se describe en el Ejemplo 1 más adelante. De los compuestos de la fórmula 1(f), aquellos en la fórmula

1(f) $f^1 f^2 f^3 K W D f^5 L f^6 K Q f^7 f^8 f^9$ (SEC. ID. N°: 125)

30 son realizaciones preferibles de la divulgación. Los compuestos comprendidos en la fórmula 1(f) incluyen las SEC. ID. N°: 32, 58, 60, 62, 63, 66, 67, 69, 70, 114, 115, 122, 123, 124, 147-150, 152-177, 179, 180, 187.

También de conformidad con la presente divulgación se encuentran los compuestos que cuentan con el motivo de consenso:

35 PFPWE
(SEC. ID. N°: 110)

que también se unen a TALL-1.

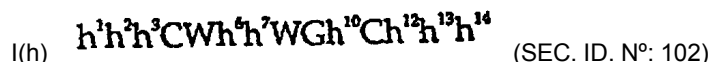
También de conformidad con la presente divulgación se encuentran los compuestos de las fórmulas:

40 1(g) $g^1 g^2 g^3 C g^4 P F g^5 W g^6 C g^7 g^8 g^9$ (SEC. ID. N°: 101)

donde:

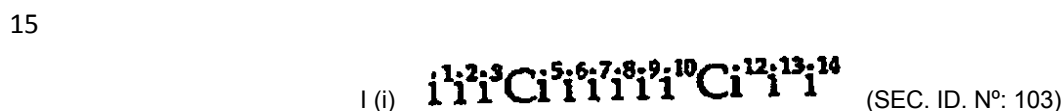
g^1 , g^2 y g^3 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o están ausentes;
 g^5 es un residuo polar neutro;
 g^8 es un residuo polar neutro;
 g^{10} es un residuo ácido;

5 g^{12} y g^{13} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos; y
 g^{14} está ausente o es un residuo de aminoácido.



donde:

10 h^1 , h^2 , y h^3 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o están ausentes;
 h^6 es un residuo hidrófobo;
 h^7 es un residuo hidrófobo;
 h^{10} es un residuo hidrófobo polar o ácido; y
 h^{12} , h^{13} , y h^{14} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o están ausentes



donde:

i^1 es un residuo de aminoácido o está ausente;
 i^2 es un residuo polar neutro;
20 i^3 es un residuo de aminoácido;
 i^5 , i^6 , i^7 , y i^8 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos;
 i^9 es un residuo ácido;
 i^{10} es un residuo de aminoácido;
 i^{12} y i^{13} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos; y
25 i^{14} es un residuo polar neutro.

Los compuestos definidos por las fórmulas I(g) a I(i) también se unen a TALL-1.

También de conformidad con la presente divulgación, los moduladores de TALL-1 comprenden:

- 30 a) un dominio modulador de TALL-1 (por ejemplo, una secuencia de aminoácido de las fórmulas I(a) a I(i)), preferiblemente la secuencia de aminoácido Dz^2Lz^4 o secuencias derivadas de esta mediante presentación de fagos, selección de ARN-péptido, o las otras técnicas anteriormente mencionadas; y
b) un vehículo, como un polímero (p. ej. PEG o dextrano) o un dominio Fc, que es preferible;

35 donde el vehículo se une mediante un enlace covalente al dominio modulador de TALL-1. El vehículo y el dominio modulador de TALL-1 pueden estar unidos a través del extremo N-terminal o C-terminal del dominio modulador de TALL-1, tal y como se describe más adelante. El vehículo preferible es un dominio Fc y el dominio Fc preferible es un dominio Fc de IgG. Estos péptidos unidos a Fc se denominan en el presente "pepticuerpos". Los dominios moduladores de TALL-1 preferibles comprenden las secuencias de aminoácidos descritas más adelante en las Tablas 1 y 2. Otros dominios moduladores de TALL-1 se pueden generar mediante presentación de fagos, selección de ARN-péptido y las demás técnicas mencionadas en el presente.

40 Asimismo, de conformidad con la presente divulgación se encuentra un proceso para generar moduladores de TALL-1, que comprende:

- a. la selección de al menos un péptido que se une a TALL-1; y
b. el enlace covalente del mencionado péptido con un vehículo.

45 El vehículo preferible es un dominio Fc. El paso (a) se realiza preferiblemente mediante la selección de las secuencias de péptidos de la Tabla 2 que se recoge más adelante o mediante presentación de fagos, selección de ARN-péptido o las demás técnicas anteriormente mencionadas.

Los compuestos de esta invención se pueden preparar mediante métodos sintéticos estándar, técnicas de ADN recombinante o cualquier otro método para la preparación de péptidos y proteínas de fusión. Los compuestos de esta invención que abarcan porciones no péptidas se pueden sintetizar mediante reacciones estándar de química orgánica, además de reacciones estándar de química peptídica, cuando resulte aplicable.

- 5 El uso primario contemplado para los compuestos de esta invención es como agentes terapéuticos o profilácticos. El péptido unido al vehículo puede tener una actividad comparable –o incluso superior- a la del ligando natural imitado por el péptido.

- 10 Los compuestos de esta invención se pueden utilizar con fines terapéuticos o profilácticos, formulándolos con unos materiales portadores farmacéuticos apropiados y administrando una cantidad efectiva a un paciente, como un humano (u otro mamífero) que lo necesite. Otros aspectos relacionados también se incluyen en la invención instantánea.

Numerosas ventajas y aspectos adicionales de la presente invención se pondrán de manifiesto tras analizar las cifras y la descripción detallada de la invención.

Breve descripción de las Figuras

- 15 La Figura 1 muestra ejemplos de dímeros Fc que se pueden obtener de un anticuerpo IgG1. "Fc" en la figura representa cualquiera de las variantes de Fc dentro del significado de "dominio FC" del presente. "X¹" y "X²" representan péptidos o combinaciones enlazador-péptido como las que se definen más adelante. Los dímeros específicos son los siguientes:

- 20 A, D: Dímeros unidos por un solo disulfuro. Los anticuerpos IgG1 tienen típicamente dos enlaces de disulfuro en la región bisagra del anticuerpo. El dominio Fc en las Figuras 1A y 1D puede estar formado por truncación entre los dos sitios de enlace de disulfuro o por sustitución de un residuo de cisteinilo por un residuo no reactivo (p. ej., alanilo). En la Figura 1A, el dominio Fc está enlazado al término amino de los péptidos; en 1D, al término carboxilo.

- 25 B, E: Dímeros unidos por dos enlaces disulfuro. Este dominio Fc puede estar formado por truncación del anticuerpo parental de modo que retenga ambos residuos de cisteinilo en las cadenas del dominio Fc o por expresión a partir de una construcción que incluye una secuencia que codifica un dominio Fc de este tipo. En la Figura 1B, el dominio Fc está enlazado al término amino de los péptidos; en 1E, al término carboxilo.

- 30 C, F: Dímeros no covalentes. Este dominio Fc puede estar formado por eliminación de los residuos de cisteinilo por truncación o sustitución. Puede ser deseable eliminar los residuos de cisteinilo para evitar las impurezas generadas por la reacción del residuo de cisteinilo con residuos de cisteinilo de otras proteínas presentes en la célula hospedadora. La unión no covalente de los dominios Fc es suficiente para mantener unido el dímero.

Otros dímeros pueden formarse utilizando dominios Fc obtenidos de diferentes tipos de anticuerpos (p. ej., IgG2, IgM).

- 35 La Figura 2 muestra la estructura de compuestos preferibles de la invención que presentan repeticiones en tándem del péptido farmacológicamente activo. La Figura 2A muestra una molécula de una sola cadena y puede también representar la estructura de ADN para la molécula. La Figura 2B muestra un dímero en el que la porción enlazador-péptido está presente solamente en una cadena del dímero. La Figura 2C muestra un dímero que tiene la porción peptídica en ambas cadenas. El dímero de la Figura 2C se formará espontáneamente en determinadas células hospedadoras después de la expresión de una estructura de ADN que codifica la cadena sencilla que se muestra en la Figura 3A. En otras células hospedadoras, las células podrían encontrarse en condiciones que favorezcan la formación de dímeros o los dímeros pueden formarse in vitro.

La Figura 3 muestra ejemplos de secuencias de ácido nucleico y de aminoácidos (SEC. ID. N° 1 y 2, respectivamente) de Fc humano de IgG1 que puede utilizarse en la presente invención.

- 45 Las Figuras 4A a 4F muestran las secuencias de nucleótidos y aminoácidos (SEC. ID. N°: 3-27) S de los fragmentos Ndel a Sall que codifican el péptido y el enlazador.

Las Figuras 5 A a 5M muestran la secuencia del nucleótido (SEC. ID. N°: 28) del vector pAMG21-RANK-Fc, que se ha utilizado para generar las moléculas unidas a Fc de la presente invención. Estas figuras identifican una serie de características del ácido nucleico, entre las que se incluyen:

- 50 . regiones promotoras PcopB, PrepA, ARN, APHII, luxFR, y luxPL;
 . mARN para APHII. luxR;
 . Secuencias de codificación y secuencias de aminoácidos para las proteínas copB, copT, repAI, repA4, APHII luxR, RANK, y Fc;
 . Sitios de unión para las proteínas copB, CRP;
 55 horquillas T1.T2.T7, y toop;

Sitio del operador para la proteína de lujo;

Sitios de restricción de la enzima para Pflll08I, BglII, ScaI, BmnI, DrdII, DraIII, BstBI,
AceIII, AflII, PflMI, BglI, SfiI, BstEII, BspLullI, NspV, BplI, EagI, BcgI, NsiI,
BsaI, Pspl406I, AatII, BsmI, NruI, NdeI, ApaLI, Acc65I, KpnI, SalI, AccI, BspEI,
AhdI, BspHI, EconI, BsrGI, BmaI, SmaI, SexAI, BamHI, and BlpI.

Las Figuras 6A y 6B muestran la secuencia de ADN (SEC. ID. N°: 97) insertada en pCFM1656 entre los sitios de restricción únicos AatII (posición #4364 en pCFM1656) y SacII (posición #4585 en pCFM1656) para formar el plásmido de expresión pAMG21 (n° de acceso ATCC 98113).

La Figura 7 muestra que el peptidocuerpo TALL-1 (SEC. ID. N°: 70) inhibe la proliferación de células B mediada por TALL-1. Las células B purificadas (10^5) de los ratones B6 se cultivaron por triplicado en placas de 96 pocillos con las cantidades indicadas del peptidocuerpo de consenso TALL-1 en presencia de 10 ng/ml de TALL-1 más 2 µg/ml del anticuerpo anti-IgM. La proliferación se midió mediante la ingesta de timidina radioactiva [^3H] en las últimas 18 horas de pulso. Los datos indicados representan la media de los pocillos por triplicado $\pm$ SD.

La Figura 8 muestra que los peptidocuerpos de un dímero en tándem del extremo N-terminal de TALL-1 (SEC. ID. N°: 123,124 en la Tabla 5B del presente) son preferibles para la inhibición de la proliferación de células B mediada por TALL-1. Las células B purificadas (10^5) de los ratones B6 se cultivaron por triplicado en placas de 96 pocillos con las cantidades indicadas del peptidocuerpo 12-3 de TALL-1 y el peptidocuerpo de consenso de TALL-1 (SEC. ID. N°: 115 y 122 de la Tabla 5B) o los peptidocuerpos del dímero relacionado (SEC. ID. N°: 123,124) en presencia de 10 ng/ml de TALL-1 más 2 µg/ml del anticuerpo anti-IgM. La proliferación se midió mediante la ingesta de timidina radioactiva [^3H] en las últimas 18 horas de pulso. Los datos indicados representan la media de los pocillos por triplicado $\pm$ SD.

Figura 9. El peptidocuerpo AGP3 se une a AGP3 con gran afinidad. La constante del equilibrio de disociación (K_D) se obtuvo de una regresión no lineal de las curvas de competencia, utilizando un modelo de unión homogéneo de doble curva en un sitio (software KinEx™). La K_D es de unos 4 pM para el peptidocuerpo AGP3 que se une al AGP3 humano (SEC. ID. N°: 123).

Figuras 10A y 10B. El peptidocuerpo AGP3 bloquea el AGP3 tanto humano como murino en el ensayo de competencia Biacore. La proteína humana soluble TACI se inmovilizó en el chip B1. Se incubó 1 nM de proteína humana recombinante AGP3 (panel superior) o 5 nM de proteína murina recombinante AGP3 (panel inferior) con la cantidad indicada del peptidocuerpo AGP3, antes de inyectarlo sobre la superficie del receptor. Se mostró la respuesta de unión relativa de AGP3 humana y AGP3 murina (SEC. ID. N°: 123).

Figuras 11A y 11B. El peptidocuerpo AGP3 bloqueó la unión de AGP3 en los tres receptores TACI BCMA y BAFFR en el ensayo de competencia Biacore. Las proteínas TACI, BCMA y BAFFR del receptor soluble recombinante se inmovilizaron en el chip CM5. Se incubó 1 nM de AGP3 humana recombinante (panel superior) con la cantidad indicada del peptidocuerpo AGP3 antes de inyectarlo sobre la superficie de cada receptor. Se midió la unión relativa de AGP3. Asimismo, se incubó 1 nM de la proteína recombinante APRIL con la cantidad indicada del peptidocuerpo AGP3 antes de inyectarlo sobre la superficie de cada receptor. El peptidocuerpo AGP3 no inhibió la unión de APRIL a los tres receptores (SEC. ID. N°: 123).

Figuras 12A y 12B. El peptidocuerpo AGP3 inhibe el aumento del nivel de inmunoglobulina sérica de ratón inducido por el desafío de la AGP3 humana. Los ratones Balb/c recibieron siete inyecciones intraperitoneales diarias de 1 mg/Kg de proteína AGP3 humana junto con suero, Fc humano o el peptidocuerpo AGP3, a las dosis indicadas, y fueron desangrados al octavo día. Se midieron los niveles totales de IgM e IgA en suero mediante un ensayo ELISA (SEC. ID. N°: 123).

Figura 13. El tratamiento con el peptidocuerpo AGP3 redujo la gravedad de la artritis en el modelo de ratón CIA. Los ratones macho DBA/1 de 8 a 12 semanas de vida fueron inmunizados intradermalmente, en la base de la cola, con colágeno bovino tipo II (bCII) emulsionado en adyuvante completo de Freund, y se les administró una dosis de refuerzo tres semanas después de la inmunización inicial con bCII emulsionado en adyuvante incompleto de Freund. El tratamiento con la dosis indicada del peptidocuerpo AGP3 comenzó a partir del día de la inmunización de refuerzo durante cuatro semanas. Como se ha descrito anteriormente (Khare et al., J. Immunol. 155: 3653-9,1995), se asignó una puntuación de 0-3 a cada una de las cuatro patas individualmente para calificar la gravedad de la artritis (SEC. ID. N°: 123).

Figura 14. El tratamiento con el peptidocuerpo AGP3 inhibió la generación de anticuerpos anti-colágeno en el modelo de ratón CIA. Como se ha descrito anteriormente, se tomaron muestras de suero una semana después del tratamiento final (día 35). El nivel de anticuerpos anti-colágeno II en suero se determinó mediante un ensayo ELISA (SEC. ID. N°: 123).

Figuras 15A y 15B. El tratamiento con el pepticuerpo AGP3 retrasó la aparición de la proteinuria y mejoró la supervivencia en los ratones con lupus NZB/NZW. Los ratones NZBx NZBWF1 de cinco meses de vida propensos al lupus fueron tratados intraperitonealmente tres veces por semana durante ocho semanas con PBS o las dosis indicadas del pepticuerpo AGP3 (SEC. ID. N°: 123) o proteínas Fc humanas. La proteína en la orina se evaluó mensualmente durante toda la vida del experimento con las tiras reactivas Albustix (Bayer AG).

Las Figuras 16A y 16B muestran las secuencias de ácido nucleico y aminoácidos de un pepticuerpo de unión a TALL-1 preferible (SEC. ID. N°: 189 y 123)

Descripción detallada de la invención

Definición de términos

Los términos empleados en la presente especificación se definen como sigue, a menos que se indique lo contrario en casos específicos.

Definiciones generales

El término "que comprende" significa que un compuesto puede incluir aminoácidos adicionales en cualquiera de los extremos N-terminal o C-terminal, o en ambos, de la secuencia dada. Por supuesto, estos aminoácidos adicionales no deben interferir de forma significativa en la actividad del compuesto.

Adicionalmente, las sales fisiológicamente aceptables de los compuestos de esta invención también están incluidas en el presente. El término "sales fisiológicamente aceptables" se refiere a cualquier sal ya conocida o descubierta con posterioridad que resulte farmacéuticamente aceptable. Algunos ejemplos específicos son: acetato; trifluoroacetato; hidrohaluros, como el hidrócloro y el hidrobromuro; sulfato; citrato; tartrato; glicolato; y oxalato.

Aminoácidos

El término "residuo ácido" se refiere a residuos de aminoácidos en forma D o L que tienen cadenas laterales que comprenden grupos ácidos. Algunos ejemplos de residuos ácidos incluyen el D y E.

El término "residuo de amida" se refiere a aminoácidos en forma D o L que tienen cadenas laterales que comprenden derivados de amida de grupos ácidos. Algunos ejemplos de residuos incluyen el N y Q.

El término "residuo aromático" se refiere a residuos de aminoácidos en forma D o L que tienen cadenas laterales que comprenden grupos aromáticos. Algunos ejemplos de residuos aromáticos incluyen el F, Y y W.

El término "residuo básico" se refiere a residuos de aminoácidos en forma D o L que tienen cadenas laterales que comprenden grupos básicos. Algunos ejemplos de residuos básicos incluyen el H, K y R.

El término "residuo hidrófilo" se refiere a residuos de aminoácidos en forma D o L que tienen cadenas laterales que comprenden grupos polares. Algunos ejemplos de residuos hidrófilos incluyen el C, S, T, N y Q.

El término "residuo no funcional" se refiere a residuos de aminoácidos en forma D o L que tienen cadenas laterales que carecen de grupos ácidos, básicos o aromáticos. Algunos ejemplos de residuos de aminoácidos no funcionales incluyen el M, G, A, V, I, L y norleucina (Nle).

El término "residuo hidrófobo neutro" se refiere a residuos de aminoácidos en forma D o L que tienen cadenas laterales que carecen de grupos ácidos, básicos o polares. Algunos ejemplos de residuos de aminoácidos hidrófobos neutros incluyen el A, V, L, I, P, W, M y F.

El término "residuo hidrófobo polar" se refiere a residuos de aminoácidos en forma D o L que tienen cadenas laterales que comprenden grupos polares. Algunos ejemplos de residuos de aminoácidos hidrófobos polares incluyen el T, G, S, Y, C, Q y N.

El término "residuo hidrófobo" se refiere a residuos de aminoácidos en forma D o L que tienen cadenas laterales que carecen de grupos ácidos o básicos. Algunos ejemplos de residuos de aminoácidos hidrófobos incluyen el A, V, L, I, P, W, M, F, T, G, S, Y, C, Q, y N.

Péptidos

El término "péptido" se refiere a moléculas de 1 a 40 aminoácidos, siendo preferibles las moléculas de 5 a 20 aminoácidos. Algunos ejemplos de péptidos pueden comprender el dominio de modulación de TALL-1 de una molécula naturalmente presente o comprenden secuencias aleatorizadas.

El término "aleatorizado" empleado para referirse a secuencias peptídicas se refiere a secuencias totalmente aleatorias (p. ej., seleccionadas mediante métodos de presentación de fagos o selección de ARN-péptido) y secuencias en las que uno o más residuos de una molécula naturalmente presente se sustituyen por un residuo de aminoácido que no aparece en esa posición en la molécula naturalmente presente. Algunos ejemplos de métodos para identificar las secuencias peptídicas incluyen la presentación de fagos, la presentación de *E. coli*, la presentación de ribosomas, la selección de ARN-péptido, la selección química y similares.

El término "dominio de modulación de TALL-1" se refiere a cualquier secuencia de aminoácidos que se une a TALL-1 y comprende secuencias naturalmente presentes o secuencias aleatorizadas. Algunos ejemplos de dominios de modulación de TALL-1 se pueden identificar u obtener mediante presentación de fagos u otros métodos mencionados en el presente.

- 5 El término "antagonista de TALL-1" se refiere a una molécula que se une a TALL-1 y que aumenta o reduce uno o más de los parámetros del ensayo de forma opuesta al efecto sobre esos parámetros de TALL-1 nativo en toda su longitud. Esta actividad se puede determinar, por ejemplo, mediante ensayos como los descritos en la subsección titulada "Actividad biológica de AGP3", de la sección de Materiales y métodos de la solicitud de patente titulada "Proteínas relacionadas con el TNF", WO00/47740, publicada el 17 de agosto de 2000.

10 **Vehículos y peptidocuerpos**

- El término "vehículo" se refiere a una molécula que evita la degradación y/o aumenta la vida media, reduce la toxicidad, reduce la inmunogenicidad, o aumenta la actividad biológica de una proteína terapéutica. Algunos ejemplos de vehículos incluyen un dominio Fc (que es preferible), así como un polímero lineal (como glicol de polietileno (PEG), polilisina, dextrano, *etc.*); un polímero de cadena ramificada (véase, por ejemplo, la Patente estadounidense n° 4.289.872 de Denkenwalter et al., publicada el 15 de septiembre de 1981; 5.229.490 de Tam, publicada el 20 de julio de 1993; WO 93/21259 de Frechet *et al.*, publicada el 28 de octubre de 1993); un lípido; un grupo de colesterol (como un esteroide); un carbohidrato u oligosacárido (como dextrano); cualquier proteína, polipéptido o péptido natural o sintético que se une a un receptor de salvamento; albúmina, incluyendo albúmina sérica humana (HSA), dominio de cremallera de leucina, y cualesquiera otras de estas proteínas y fragmentos de proteínas. Los vehículos se describen más detalladamente más adelante.

- El término "Fc nativo" se refiere a una molécula o secuencia que comprende la secuencia de un fragmento de unión no antigénico resultante de la digestión del anticuerpo entero, sea en forma monómera o multímera. La fuente original de inmunoglobulina del Fc nativo es preferiblemente de origen humano y puede ser cualquiera de las inmunoglobulinas, aunque preferiblemente la IgG1 e IgG2. Los Fc nativos se componen de polipéptidos monoméricos que pueden estar enlazados en forma dimérica o multimérica mediante asociación covalente (como uniones de disulfuro) y no covalente. El número de uniones intermoleculares disulfuro entre las subunidades monoméricas de moléculas de Fc nativo oscila entre 1 y 4, dependiendo de la clase (p. ej., IgG, IgA, IgE) o subclase (p. ej., IgG1, IgG2, IgG3, IgA1, IgA2). Un ejemplo de Fc nativo es un dímero unido por disulfuro resultante de la digestión de papaína de una IgG (véase Ellison *et al.* (1982), *Nucleic Acids Res.* 10:4071-9). El término "Fc nativo" empleado en el presente es genérico para las formas monoméricas, diméricas y multiméricas.

- El término "variante de Fc" se refiere a una molécula o secuencia que está modificada a partir de un Fc nativo, pero comprende todavía un sitio de unión para el receptor de salvamento, FcRn. Las solicitudes internacionales WO 97/34631 (publicadas el 25 de septiembre de 1997) y WO 96/32478 describen ejemplos de variantes de Fc, así como la interacción con el receptor de salvamento. Así pues, el término "variante de Fc" comprende una molécula o secuencia que está humanizada a partir de un Fc nativo no humano.

- Asimismo, un Fc nativo comprende sitios que pueden eliminarse porque proporcionan características estructurales o actividad biológica que no son necesarias para las moléculas de fusión de la presente invención. Así, el término "variante de Fc" comprende una molécula o secuencia que carece de uno o más sitios o residuos de Fc nativo que afectan o están implicados en (1) la formación de enlaces de disulfuro, (2) la incompatibilidad con una célula hospedadora seleccionada, (3) heterogeneidad del extremo C-terminal por expresión en una célula hospedadora seleccionada, (4) glicosilación, (5) interacción con el complemento, (6) fijación a un receptor de Fc distinto de un receptor de salvamento, o (7) citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC). Las variantes de Fc se describen detalladamente más adelante.

- El término "dominio de Fc" abarca secuencias y moléculas de Fc nativo y variantes de Fc anteriormente descritas. Como en el caso de las variantes de Fc y Fc nativo, el término "dominio de Fc" incluye moléculas en forma monomérica o multimérica, tanto si están digeridas a partir del anticuerpo entero como se si han producido por otros medios.

- El término "multimérico" aplicado a los dominios de Fc o moléculas que comprenden dominios de Fc se refiere a las moléculas que tienen dos o más cadenas de polipéptido asociadas covalentemente, no covalentemente, o mediante interacciones tanto covalentes como no covalentes. Las moléculas de IgG forman típicamente dímeros; las de IgM, pentámeros; las de IgD, dímeros; y las de IgA, monómeros, dímeros, trímeros o tetrámeros. Los multímeros pueden formarse por aprovechamiento de la secuencia y la actividad resultante de la fuente nativa de Ig del Fc o por derivatización (como se define más abajo) de un Fc nativo de este tipo.

- El término "dímero" aplicado a los dominios de Fc o moléculas que comprenden dominios de Fc se refiere a moléculas que tienen dos cadenas de polipéptido asociadas covalentemente o no covalentemente. En la Figura 1 se muestran ejemplos de dímeros dentro del ámbito de aplicación de esta invención.

Los términos "derivatización" y "derivado" o "derivatizado" comprenden procesos y compuestos resultantes respectivamente en los que (1) el compuesto tiene una porción cíclica; por ejemplo, reticulación entre residuos de cisteinilo dentro del compuesto; (2) el compuesto está reticulado o tiene un sitio de reticulación; por ejemplo, el

compuesto tiene un residuo de cisteinilo y forma por tanto dímeros reticulados en cultivo o *in vivo*; (3) uno o más enlaces peptídicos están reemplazados por un enlace no peptídico; (4) el extremo N-terminal está reemplazado por -NRR¹, NRC(O)R¹ -NRC(O)OR¹, -NRS(O)₂R¹, -NHC(O)NHR, un grupo succinimida, o benciloxicarbonil-NH-sustituido o no sustituido, donde R y R¹ y los sustituyentes del anillo son los que se definen más adelante; (5) el extremo C-terminal está reemplazado por -C(O)R² o -NR³R⁴, donde R², R³ y R⁴ son los que se definen más adelante; y (6) compuestos en los que hay fracciones individuales de aminoácido modificadas por tratamiento con agentes capaces de reaccionar con determinadas cadenas laterales o residuos terminales. Los derivados se describen más detalladamente más adelante.

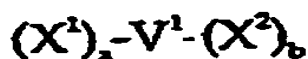
Los términos "pepticuerpo" y "pepticuerpos" se refieren a moléculas que comprenden un dominio de Fc y al menos un péptido. Estos pepticuerpos pueden ser multímeros o dímeros o fragmentos de los mismos, y pueden haber sido derivatizados. En la presente invención, las moléculas de las fórmulas II a VI del presente son pepticuerpo, donde V¹ es un dominio de Fc.

Estructura de los compuestos

En general. Los autores de la presente invención identificaron secuencias capaces de unirse a TALL-1 y de modular su actividad biológica. Estas secuencias se pueden modificar a través de las técnicas anteriormente mencionadas, por las que se puede cambiar uno o más de los aminoácidos, manteniendo o incluso mejorando la afinidad de unión del péptido.

En las composiciones objeto del presente elaboradas de conformidad con esta invención, el péptido o los péptidos pueden unirse al vehículo a través del extremo N-terminal o C-terminal del péptido. Cualquiera de estos péptidos puede estar unido en tándem, es decir, secuencialmente, o con o sin enlazadores. Así, las moléculas vehículo-péptido de la presente invención se pueden describir mediante la fórmula siguiente:

II



donde: V¹ es un vehículo que consiste en una molécula que previene la degradación y/o aumenta la vida media, reduce la toxicidad, reduce la inmunogenicidad, o aumenta la actividad biológica de una proteína terapéutica, (preferiblemente un dominio Fc);

X¹ y X² son cada una seleccionadas independientemente de -(L¹)_C-P¹, -(L¹)_C-P¹-(L²)_d-P², -(L¹)_C-P¹-(L²)_d-P²-(L³)_e-P³ y -(L¹)_C-P¹-(L²)_d-P²-(L³)_e-P³-(L⁴)_f-P⁴

P¹; P² y P³ son cada una independientemente secuencias de dominios de modulación de TALL-1 tales como los de las Fórmulas I(a) a I(i); L¹ y L², L³ y L⁴ son cada una independientemente enlazadores; y a, b, c, d, e y f son cada una independientemente 0 o 1, siempre que al menos una de a y b sea 1.

Así, el compuesto II comprende compuestos preferibles de las fórmulas



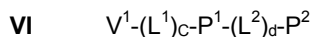
y multímeros de la misma, donde V¹ es un dominio Fc y está unido al extremo C-terminal de A¹;



y multímeros de la misma, donde V¹ es un dominio Fc y está unido al extremo N-terminal de A²;



y multímeros de la misma, donde V¹ es un dominio Fc y está unido al extremo N-terminal de -(L¹)_C-P¹; y



y multímeros de la misma, donde V¹ es un dominio Fc y está unido al extremo N-terminal de -L¹-P¹-L²-P².

Péptidos. Los péptidos de la presente invención son útiles como péptidos moduladores de TALL-1 o como dominios moduladores de TALL-1 en las moléculas de las fórmulas II a VI. Las moléculas de la presente invención que comprenden estas secuencias de péptidos se pueden preparar con métodos conocidos en el campo.

Las secuencias de péptidos preferibles de la divulgación son aquellas de las anteriores fórmulas I(a) que tienen los sustituyentes que se identifican a continuación.

Tabla 1 – Sustituyentes de péptidos preferibles

Fórmula I(a)	a^8 es T; a^9 es un residuo básico (preferiblemente K); y a^{12} es un residuo hidrófobo neutro (preferiblemente F).
Fórmula I(b)	b^3 es D, Q, o E; b^6 es W o Y; b^{10} es T; b^{11} es K o R; y B^{14} es V o L.
Fórmula I(c)	c^9 es T; c^{10} es K o R; c^{13} es a l L, o V; y c^{17} es A o L.
Fórmula I(d)	d^{12} es T.
Fórmula I(e)	e^{11} es T.
Fórmula I(f)	f^9 es T; f^{10} es K; y f^{13} es V.
Fórmula I(g)	g^5 es W; g^8 es P; g^{10} es E; y g^{13} es un residuo básico.
Fórmula I(h)	h^1 es G; h^6 es A; h^7 es un residuo hidrófobo neutro; y h^{10} es un residuo ácido.
Fórmula I(i)	i^2 es W; y l^{14} es W.

Las secuencias de péptidos preferibles aparecen en la Tabla 2 más abajo.

Tabla 2 – Dominios moduladores TALL-1 preferibles

Secuencia	SEQ ID NO:
PGTCFPFPWECTHA	29
WGACWFPFWECFKE	30
VFCDLLTKHCFEA	31
GSRCYKWDVLTKQCFHH	32
LPGCKWDLLIKQWVCDPL	33
SADCYFDILTKSDVCTSS	34
SDDCMYDQLTRMFICSNL	35
DLNCKYDELTYKEWCQFN	36
FHDCKYDLLTRQMVCHGL	37
RNHCFWDHLLKQDICPSP	38
ANQCWWSLTKKNVCEFF	39
YKGRQMWDLTRSWVSL	126
QDVGLWWDILTRAAMPNI	127
QNAQRVWDLIRTWVYPQ	128
GWNEAWWDELTKIWVLEQ	129
RITCDTWDSLIIKKCVPOS	130
GAIMQFWDSLTKTWLRQS	131
WLHSGWWDPLTKHWLQKV	132
SEWFFWFDPLTRAQLKFR	133
GVWFWWFDPPLTKQWTQAG	134
MQCKGYDILTKWCVTNG	135
LWSKEVWDILTKSWVSOA	136
KAAGWWFDWLTKVWVPAP	137
AYQTFWFDLTRLWLSTT	138
SGQHFWDLLTRSWTPST	139
LGVGQKWDPLTKQWVSRG	140
VGKMCQWDPLIKRTVCVG	141
CRQGAKFDDLTKQCLLGR	142
GQAIRHWDVLTKQWVDSQ	143
RGPCGSWDLTKHCLDSQ	144
WQWKQQWDLTKQMVWVG	145
PITICRKDLLTKQVCLD	146
KTCNGKWDLLTKQCLQQA	147
KCLKGKWDLLTKQCVTEV	148
RCWNGKWDLLTKQCIHPW	149
NRDMRKWDPLIKQWIVRP	150
QAAAATWDLTKQWLVP	151
PEGGPKWDPLTKQFLPPV	152
QTPQKKWDLTKQWFTRN	153
IGSPCKWDLTKQMICQT	154
CTAAGKWDLLTKQCIQEK	155
VSQCMKWDLLTKQCLQGW	156
VWGTWKWDLTKQYLPPQ	157
GWWEWKWDLTKQWYRPQ	158
TAQVSKWDLTKQWLPLA	159
QLWGTKWDLTKQYIQIM	160
WATSQKWDLTKQWVQNM	161
QRQCAKWDLTKQCVLFY	162

KTTCCKWDLTKQICQV	163
LLCQKWDLLTKQCLKR	164
LMWFWKWDLLTKQLVPTF	165
QWAWKWDLLTKQWIGPM	166
NKELLKWDLLTKQCRGRS	167
GQKDLKWDLLTKQYVRQS	168
PKPCQKWDLLTKQCLGSV	169
GQIGWKWDLLTKQWIQTR	170
VWLDWKWDLLTKQWIHPQ	171
QEWYKWDLLTKQGWLR	172
HWDSWKWDLLTKQWVQA	173
TRPLQKWDLLTKQWLRVG	174
SDQWQKWDLLTKQWFDV	175
QOTFMKWDLLTKQWIRRH	176
QGECKWDLLTKQCFPGQ	177
GQMGWRWDPLIKMCLGPS	178
QLDGCKWDLLTKQKVCIP	179
HGYWQKWDLLTKQWVSSE	180
HQGCQWDLLTRIYLPCH	181
LHKACKWDLLTKQCWPMQ	182
GPPGSVWDLLTKIWIQTG	183
ITQDWRFDTLTRLWLPLR	184
QGGFAAWDVLTKMWITVP	185
GHGTPWWDALTRIWLGV	186
VVPWQKWDLLTKQFVPQD	187
WQWSWKWDLLTROQYISS	188
NQTLWKWDLLTKQFITYM	60
PVYQGWDTLTKLYIWDG	61
WLDGGWRDPLIKRSVQLG	62
GHQQFKWDLLTKQWVQSN	63
QRVGQFWDVLTKMFITGS	64
QAQGWSYDALIKTWIRWP	65
GWMHWKWDPLTKQALPWM	66
GHPTYKWDLLTKQWILQM	67
WNNWSLWDPLTKLWLQON	68
WQWGWKWDLLTKQWVQQQ	69
GQMGWRWDPLTKMWLGTS	70

Cabe señalar que los receptores conocidos para TALL-1 presentan cierta homología en las secuencias con los péptidos preferibles:

12-3 LPGCKWDLIKQWCDPL
BAFFR MRRGPRSLRGRDAPVPTPCVPTECYDLIVRKCVDCRLI
TACI TICNHQSQRTCAAFCSRSLSCRKEQGKFYDHLRLDCISCASI
RCMA FVSPSOEIRGRFRRLQ MAGQCSQNEYEDSLHACIPCOLRC
(SEC. ID. Nº: 33.195.196, y 197, respectivamente).

Cualquier péptido que contenga un residuo de cisteinilo puede reticularse con otro péptido que contenga Cys, pudiendo estar enlazados cualquiera de ellos o ambos a un vehículo. Asimismo, cualquier péptido que tenga más de un residuo Cys puede formar un enlace de disulfuro intrapeptídico. Cualquiera de estos péptidos puede derivatizarse como se describe más adelante.

Se pueden obtener otras secuencias peptídicas útiles de modificaciones conservadoras y/o no conservadoras de las secuencias de aminoácidos de la Tabla 2.

Las modificaciones conservadoras producirán péptidos que tienen características funcionales y químicas similares a las del péptido en el que se han hecho tales modificaciones. Por lo contrario, las modificaciones sustanciales en las características funcionales y/o químicas de los péptidos pueden realizarse seleccionando sustituciones en la secuencia de aminoácidos que difieren significativamente en su efecto o mantenimiento (a) de la estructura de la cadena molecular principal en el área de la sustitución, por ejemplo, como una conformación en hoja o helicoidal, (b) de la carga o carácter hidrófobo de la molécula en el sitio diana, o (c) el tamaño de la molécula.

Por ejemplo, una “sustitución conservadora de aminoácido” puede implicar una sustitución de un residuo de aminoácido nativo por un residuo no nativo, de tal modo que se produzca poco o ningún efecto sobre la polaridad o la carga del residuo de aminoácido en dicha posición. Por otra parte, cualquier residuo nativo en el polipéptido puede sustituirse también por alanina, como se ha descrito previamente para la “mutagénesis por barrido de alanina” (véase, por ejemplo, MacLennan *et al.*, (1998), *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 643: 55-67; Sasaki *et al.*, 1998, *Adv. Biophys.* 35: 1-24, que exponen la mutagénesis por barrido de alanina).

Las personas con conocimientos en el campo pueden determinar las sustituciones de aminoácidos deseadas (sean conservadoras o no conservadoras) en el momento en que se deseen dichas sustituciones. Por ejemplo, pueden utilizarse las sustituciones de aminoácidos para identificar residuos importantes de la secuencia peptídica, o para aumentar o disminuir la afinidad del péptido o de las moléculas vehículo-péptido (véanse las fórmulas precedentes) descritas en el presente. Algunos ejemplos de sustituciones de aminoácidos se recogen en la Tabla 3.

Tabla 3- Sustituciones de Aminoácidos

Residuos originales	Ejemplos de sustituciones	Sustituciones preferibles
Ala (A)	Val, Leu, Ile	Val
Arg(R)	Lys, Gin, Asn	Lys
Asn (N)	Gin	Gin
Asp (D)	Glu	Glu
Cys(C)	Ser, Ala	Ser
Gln (Q)	Asn	Asn
Glu (E)	Asp	Asp
Gly(G)	Pro, Ala	Ala
His (H)	Asn, <3In, Lys, Arg	Arg
Ile(I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe, Norleucina	Leu
Leu (L)	Norleucina, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys(K)	Arg, ácido 1,4-diaminobutírico, Gin, Asn	Arg
Met (M)	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe (F)	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro (P)	Ala	Gly
Ser (S)	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr(T)	Ser	Ser
Trp(W)	Tyr, Phe	Tyr
Tyr(Y)	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val (V)	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, Norleucina	Leu

En determinadas realizaciones, las sustituciones conservadoras de aminoácidos abarcan también residuos de aminoácidos no naturalmente presentes que se incorporan típicamente por síntesis química de péptidos en lugar de hacerlo por síntesis en sistemas biológicos.

Como se ha indicado en la sección anterior "Definición de términos", los residuos naturalmente presentes pueden dividirse en clases basándose en propiedades comunes de las cadenas laterales que pueden ser útiles para las modificaciones de la secuencia. Por ejemplo, las sustituciones no conservadoras pueden implicar el cambio de un miembro de una de estas clases por un miembro de otra clase. Estos residuos sustituidos pueden introducirse en regiones del péptido que son homólogas a los ortólogos no humanos, o en las regiones no homólogas de la molécula. Adicionalmente, pueden hacerse también modificaciones utilizando P o G con el fin de influir en la orientación de la cadena.

Al hacer estas modificaciones, puede tenerse en cuenta el índice hidropático de los aminoácidos. Se ha asignado a cada aminoácido un índice hidropático basándose en sus características de hidrofobicidad y carga, siendo éstos: isoleucina (+4,5); valina (+4,2); leucina (+3,8); fenilalanina (+2,8); cisteína/cistina (+2,5); metionina (+1,9); alanina (+1,8); glicina (-0,4); treonina (-0,7); serina (-0,8); triptófano (-0,9); tirosina (-1,3); prolina (-1,6); histidina (-3,2); glutamato (-3,5); glutamina (-3,5); aspartato (-3,5); asparagina (-3,5); lisina (-3,9) y arginina (-4,5).

La importancia del índice hidropático de los aminoácidos para conferir una función biológica interactiva a una proteína es conocida en el campo. Kyte *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 157:105-131 (1982). Es sabido que ciertos aminoácidos pueden sustituirse por otros aminoácidos que tienen un índice o registro hidropático similar, reteniendo todavía una actividad biológica similar. Al realizar los cambios basados en el índice hidropático, es preferible la sustitución de los aminoácidos cuyos índices hidropáticos están dentro de ± 2 , siendo particularmente preferibles los que están dentro de ± 1 , y todavía más preferibles los que están dentro de $\pm 0,5$.

También se conoce en el campo que la sustitución de aminoácidos similares puede realizarse eficazmente sobre la base de la hidrofiliidad. La hidrofiliidad media local máxima de una proteína, regida por la hidrofiliidad de sus aminoácidos adyacentes, está en correlación con su inmunogenicidad y su antigenicidad, es decir, con una propiedad biológica de la proteína.

Se han asignado a los residuos de aminoácidos los valores de hidrofiliidad siguientes: arginina (+3,0); lisina (+3,0); aspartato (+3,0 $\pm$ 1); glutamato (+ 3,0 $\pm$ 1); serina (+0,3); asparagina (+0,2) glutamina (+0,2); glicina (0); treonina (-0,4); prolina (-0,5 $\pm$ 1); alanina (-0,5); histidina (-0,5); cisteína (-1,0); metionina (-1,3), valina (-1,5); leucina (-1,8); isoleucina (-1,8); tirosina (-2,3); fenilalanina (-2,5); triptófano (-3,4).

Al realizar los cambios basados en valores de hidrofiliidad similares, se prefiere la sustitución de aminoácidos cuyos valores de hidrofiliidad están dentro de ± 2 , siendo particularmente preferibles los que están dentro de ± 1 , y todavía más preferibles los que están dentro de $\pm 0,5$:

También se pueden identificar epítopes a partir de secuencias primarias de aminoácidos basándose en la hidrofiliidad. Estas regiones también se denominan "regiones epitópicas centrales".

Una persona experta en el campo será capaz de determinar las variantes adecuadas del polipéptido expuestas en las secuencias anteriores utilizando técnicas bien conocidas. Para identificar áreas adecuadas de la molécula que pueden cambiarse sin destrucción de la actividad, una persona con conocimientos en el campo puede dirigirse a las áreas que no se consideran importantes para la actividad. Por ejemplo, cuando se conocen polipéptidos similares con actividades similares de la misma especie o de otras especies, una persona con conocimientos en el campo puede comparar la secuencia de aminoácidos de un péptido con péptidos similares. Con una comparación de este tipo, se pueden identificar residuos y porciones de las moléculas que están conservadas entre polipéptidos similares. Se apreciará que los cambios en las áreas de un péptido que no están conservadas en relación con péptidos similares de este tipo tendrían menos posibilidades de afectar negativamente a la actividad biológica y/o la estructura del péptido. Una persona con conocimientos en el campo sabrá también que, incluso en regiones relativamente conservadas, se pueden sustituir aminoácidos químicamente similares por los residuos naturalmente presentes, manteniendo al mismo tiempo la actividad (sustituciones por residuos de aminoácidos conservadores). Por tanto, incluso áreas que pueden ser importantes para la actividad biológica o para la estructura pueden someterse a sustituciones conservadoras de aminoácidos sin destruir la actividad biológica o sin afectar negativamente a la estructura del péptido.

Adicionalmente, una persona con conocimientos en el campo puede revisar estudios estructura-función que identifican residuos en péptidos similares que son importantes para la actividad o la estructura. Viendo una comparación de este tipo, se puede predecir la importancia de los residuos de aminoácidos en un péptido que corresponden a residuos de aminoácidos que son importantes para la actividad o la estructura en péptidos similares. Una persona con conocimientos en el campo puede optar por sustituciones de aminoácidos químicamente similares para estos residuos de aminoácidos de los péptidos previstos como importantes.

Una persona con conocimientos en el campo puede analizar también la estructura tridimensional y la secuencia de aminoácidos en relación con dicha estructura en polipéptidos similares. En vista de dicha información, una persona con conocimientos en el campo puede predecir la alineación de los residuos de aminoácidos de un péptido con respecto a su estructura tridimensional. Una persona con conocimientos en el campo puede elegir no hacer cambios

radicales en residuos de aminoácidos que se prevé se encuentran en la superficie de la proteína, dado que tales residuos pueden estar implicados en interacciones importantes con otras moléculas. Además, una persona con conocimientos en el campo puede generar variantes de ensayos que contengan una sustitución de un solo aminoácido en cada residuo añadido de aminoácido deseado. Las variantes pueden analizarse después utilizando ensayos de actividad conocidos por las personas con conocimientos en el campo. Estos datos podrían utilizarse para recoger información acerca de variantes adecuadas. Por ejemplo, si se descubre que un cambio en un residuo de un aminoácido determinado da como resultado una actividad destruida, reducida indeseablemente, o inadecuada, deberían evitarse las variantes que contengan dicho cambio. Dicho de otro modo, basándose en la información recopilada a partir de estos experimentos rutinarios, una persona con conocimientos en el campo puede determinar fácilmente los aminoácidos en los que deberían evitarse otras sustituciones, sea aisladas o en combinación con otras mutaciones.

Varias publicaciones científicas se han dedicado a la predicción de la estructura secundaria. Véase 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.*, *Biophys. J.*, 26:367-384 (1979). Además, actualmente existen programas informáticos que ayudan a la predicción de la estructura secundaria. Un método de predicción de la estructura secundaria se basa en los modelos de homologías. Por ejemplo, dos polipéptidos o proteínas que tienen una identidad de secuencia superior al 30%, o similitud superior al 40%, tienen a menudo topologías estructurales similares. El reciente crecimiento de la base de datos estructurales de proteínas (PDB) ha proporcionado una predictibilidad mejorada de la estructura secundaria, incluyendo el número potencial de pliegues dentro de la estructura del polipéptido o la proteína. Véase Holm *et al.*, *Nucl. Acid. Res.*, 27(1): 244-247 (1999). Se ha sugerido (Brenner *et al.*, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 7(3): 369-376 (1997) que existe un número limitado de pliegues en un determinado polipéptido o proteína y que, una vez que se haya resuelto un número crítico de estructuras, la predicción estructural ganará espectacularmente en exactitud.

Otros métodos de predicción de la estructura secundaria incluyen el "ensartado" (Jones, D., *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 7(3): 377-87 (1997); Sippl *et al.*, *Structure*, 4(1): 15-9 (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): 4355-8 (1987)), y "enlace evolutivo" (véase Home, *supra*, y Brenner, *supra*).

Vehículos. Esta invención requiere la presencia de al menos un vehículo (V¹) unido a un péptido a través del extremo N-terminal, C-terminal o de una cadena lateral de uno de los residuos de aminoácidos. También se pueden emplear múltiples vehículos; por ejemplo, los Fc de cada extremo terminal o un Fc de un extremo terminal y un grupo PEG del otro extremo terminal o una cadena lateral. Algunos ejemplos de vehículos incluyen:

- un dominio Fc;
- otras proteínas, polipéptidos o péptidos capaces de unirse a un receptor de salvamento;
- albúmina sérica humana (HSA);
- un dominio de cremallera de leucina (LZ);
- glicol de polietileno (PEG), incluyendo 5 kD, 20 kD y 30 kD PEG, así como otros polímeros;
- dextrano;

y otras moléculas conocidas en el campo por proporcionar un aumento de la vida media y/o protección frente a la degradación proteolítica o la eliminación.

Un dominio Fc es el vehículo preferible. El dominio Fc puede estar fusionado al extremo N-terminal o C-terminal de los péptidos, o a ambos extremos. La fusión al extremo N-terminal es preferible.

Como se ha indicado arriba, las variantes de Fc son vehículos adecuados dentro del alcance de aplicación de esta invención. Un Fc nativo puede modificarse extensamente para formar una variante de Fc de acuerdo con esta invención, siempre que se mantenga la unión al receptor de salvamento; véase, por ejemplo, WO 97/34631 y WO 96/32478. En tales variantes de Fc, se pueden eliminar uno o más sitios de un Fc nativo que proporcionan características estructurales o actividad funcional no requeridas por las moléculas de fusión de esta invención. Se pueden eliminar estos sitios, por ejemplo, por sustitución o delección de residuos, insertando residuos en el sitio, o truncando porciones que contienen el sitio. Los residuos insertados o sustituidos pueden ser también aminoácidos alterados, tales como peptidomiméticos o D-aminoácidos. Las variantes de Fc pueden ser deseables por diversas razones, algunas de las cuales se describen a continuación. Algunos ejemplos de variantes de Fc incluyen las moléculas y secuencias en las que:

1. Se eliminan los sitios implicados en la formación de enlaces de disulfuro. Esta eliminación puede evitar la reacción con otras proteínas que contienen cisteína presentes en la célula hospedadora utilizada para producir las moléculas de la invención. Para este propósito, se puede truncar el segmento que contiene cisteína en el extremo C-terminal, o se pueden deleccionar o sustituir por otros aminoácidos los residuos de cisteína (p. ej., alanilo, serilo). En particular, se puede truncar el segmento de 20 aminoácidos del extremo N-terminal de la SEC. ID. N°: 2 o deleccionar o sustituir los residuos de cisteína en las posiciones 7 y 10 de la

SEC. ID. N°: 2. Incluso cuando se eliminan residuos de cisteína, los dominios Fc de una sola cadena pueden formar todavía un dominio Fc dimérico que se mantiene unido de modo no covalente.

2. Se modifica un Fc nativo para hacerlo más compatible con una célula hospedadora seleccionada. Por ejemplo, se puede eliminar la secuencia PA cerca del extremo N-terminal de un Fc nativo típico, que puede ser reconocido por una enzima digestiva en E. coli, como la prolina-aminopeptidasa. También se puede añadir un residuo de metionina del extremo N-terminal, especialmente cuando la molécula se expresa recombinantemente en una célula bacteriana como E. coli. El dominio Fc de la SEC. ID: N°: 2 es una variante Fc de este tipo.

3. Se elimina una porción del extremo N-terminal de un Fc nativo para prevenir la heterogeneidad del extremo N-terminal cuando se expresa en una célula hospedadora seleccionada. Para este propósito, se puede delecionar cualquiera de los 20 primeros residuos de aminoácidos del extremo N-terminal, particularmente los que se encuentran en las posiciones 1, 2, 3, 4 y 5.

4. Se eliminan uno o más sitios de glicosilación. Los residuos que están glicosilados típicamente (p. ej., asparagina) puede conferir una respuesta citolítica. Estos residuos se pueden delecionar o sustituir por residuos no glicosilados (p. ej., alanina).

5. Se eliminan los sitios implicados en la interacción con el complemento, tales como el sitio de unión C1q. Por ejemplo, se puede delecionar o sustituir la secuencia EKK de la IgG1 humana. El reclutamiento del complemento puede no ser ventajoso para las moléculas de esta invención y, por tanto, podría evitarse con una variante de Fc de este tipo.

6. Se eliminan los sitios que afectan a la unión a receptores de Fc distintos de un receptor de salvamento. Un Fc nativo puede tener sitios para la interacción con determinados leucocitos que no son necesarios para las moléculas de fusión de la presente invención y, por consiguiente, pueden ser eliminados.

7. Se elimina el sitio ADCC. Los sitios ADCC son conocidos en el campo; véase, por ejemplo, Molec. Immunol. 29 (5): 633-9 (1992) relativo a los sitios ADCC en IgG1. Estos sitios tampoco son necesarios para las moléculas de fusión de la presente invención y, por tanto, pueden ser eliminados.

8. Cuando el Fc nativo se obtiene de un anticuerpo no humano, el Fc nativo puede humanizarse. Típicamente, para humanizar un Fc nativo se sustituirán residuos seleccionados del Fc nativo no humano por residuos que se encuentran normalmente en el Fc nativo humano. Las técnicas para la humanización de anticuerpos son bien conocidas en el campo.

Las variantes de Fc preferibles incluyen las siguientes. En la SEC. ID. N°: 2 (Figura 3), la leucina de la posición 15 se puede sustituir por glutamato; el glutamato de la posición 99, por alanina; y las lisinas de las posiciones 101 y 103, por alaninas. Asimismo, se puede sustituir uno o más residuos de tirosina por residuos de fenilalanina.

Un vehículo alternativo sería una proteína, un polipéptido, péptido, anticuerpo, fragmento de anticuerpo o una molécula pequeña (p. ej., un compuesto petidomimético) capaz de unirse a un receptor de salvamento. Por ejemplo, se podría utilizar como vehículo un polipéptido como el descrito en la Patente estadounidense n° 5.739.277, publicada el 14 de abril de 1998 por Presta et al. También se podrían seleccionar péptidos mediante presentación de fagos o selección de ARN-péptido para la unión al receptor de salvamento FcRn. Estos compuestos de unión al receptor de salvamento también se incluyen dentro del significado de "vehículo" y se encuentran dentro del ámbito de aplicación de esta invención. Estos vehículos se deberían seleccionar para un aumento de la vida media (p. ej., evitando secuencias reconocidas por las proteasas) y una reducción de la inmunogenicidad (p. ej., favoreciendo las secuencias no inmunogénicas, como las descubiertas en la humanización del anticuerpo).

Como se ha seleccionado anteriormente, también se pueden utilizar vehículos del polímero para V¹. Actualmente existen varios medios para unir fracciones químicas que se pueden emplear como vehículos; véase, p. ej., la publicación internacional Patent Cooperation Treaty ("PCT") n° WO 96/11953, titulada "N-Terminally Chemically Modified Protein Compositions and Methods" (Métodos y compuestos de la proteína modificada químicamente en el extremo N-terminal). Esta publicación PCT revela, entre otras cosas, la unión selectiva de polímeros solubles en agua al extremo N-terminal de las proteínas.

Un vehículo del polímero preferible es el glicol de polietileno (PEG). El grupo PEG puede tener cualquiera de los pesos moleculares convenientes y puede ser lineal o ramificado. El peso molecular medio del PEG oscilará preferiblemente entre 2 kiloDalton ("kD") y 100 kD, más preferiblemente entre 5 kD y 50 kD aproximadamente, y todavía más preferiblemente entre 5 kD y 10kD aproximadamente. Por lo general, los grupos PEG se unirán a los compuestos de la invención mediante acilación o alquilación reductiva a través de un grupo reactivo de la fracción PEG (p. ej., un grupo aldehído, amino, tiol o éster) a un grupo reactivo del compuesto de la invención (p. ej., un grupo aldehído, amino o éster).

Una estrategia útil para la PEGilación de los péptidos sintéticos consiste en combinar un péptido con una fracción PEG, mediante la formación de un enlace conjugado en solución, portando cada uno de ellos una funcionalidad especial que es mutuamente reactiva frente a la otra. Los péptidos se pueden preparar fácilmente con síntesis convencionales en fase sólida. Los péptidos son "preactivados" con un grupo funcional apropiado en un sitio

específico. Los precursores son purificados y totalmente caracterizados antes de reaccionar con la fracción PEG. Normalmente la unión del péptido con el PEG se produce en fase acuosa y se puede controlar fácilmente mediante una HPLC analítica de fase inversa. Los péptidos PEGilados pueden ser purificados fácilmente, mediante una HPLC preparativa y caracterizados mediante una HPLC analítica, un análisis de aminoácidos y una espectrometría de masas por desabsorción láser.

Los polímeros de polisacáridos son otro tipo de polímero soluble en agua que se puede utilizar para la modificación de proteínas. Los dextranos son polímeros de polisacáridos compuestos por subunidades individuales de glucosa, unidos predominantemente por enlaces α 1-6. El propio dextrano está disponible en varios rangos de peso molecular y se puede obtener fácilmente con pesos moleculares de entre 1 kD a 70 kD aproximadamente. El dextrano es un polímero soluble en agua adecuado para utilizarlo en la presente invención como vehículo por sí solo o en combinación con otro vehículo (p. ej., Fc). Véase, por ejemplo, WO 96/11953 y WO 96/05309. El uso de dextrano conjugado con inmunoglobulinas de diagnóstico o terapéuticas se ha documentado; véase, por ejemplo, la Publicación de Patente Europea nº 0 315 456. Es preferible el dextrano de entre 1 kD a 20 kD aproximadamente, cuando el dextrano se utiliza como vehículo de acuerdo con la presente invención.

Enlazadores. Cualquier grupo "enlazador" es opcional. Cuando está presente, su estructura química no es crítica, dado que sirve fundamentalmente como separador. El enlazador está constituido preferiblemente por aminoácidos unidos entre sí por enlaces peptídicos. Así, en realizaciones preferibles, el enlazador está compuesto por 1 a 30 aminoácidos unidos por enlaces peptídicos, en los que los aminoácidos están seleccionados de entre los 20 aminoácidos naturalmente presentes. Algunos de estos aminoácidos pueden ser glicosilados, como es bien conocido por las personas con conocimientos en el campo. En una realización más preferible, los 1 a 20 aminoácidos se seleccionan de entre la glicina, alanina, prolina, asparagina, glutamina, y lisina. De modo todavía más preferible, un enlazador está compuesto por una mayoría de aminoácidos que no presentan impedimento estérico, tales como la glicina y alanina. Así, los enlazadores preferibles son poliglicinas (particularmente (Gly)₄, (Gly)₅), poli(Gly-Ala) y polialaninas. Otros ejemplos específicos de enlazadores son:

(Gly)₃Lys(Gly)₄ (SEC. ID. Nº: 40);
 (Gly)₃AsnGlySer(Gly)₂, (SEC. ID. Nº: 41);
 (Gly)₃Cys(Gly)₄ (SEC. ID. Nº: 42); y
 GlyProAsnGlyGly (SEC. ID. Nº: 43).

Para explicar la nomenclatura anterior, por ejemplo, (Gly)₃-Lys (Gly)₄ significa Gly-Gly-Gly-Lys-Gly-Gly-Gly-Gly (SEC. ID. Nº: 40). Las combinaciones de Gly y Ala también son preferibles. Los enlazadores aquí mostrados son solo algunos ejemplos; los enlazadores dentro del ámbito de aplicación de la presente invención pueden ser mucho más largos e incluir otros residuos.

Los enlazadores preferibles son enlazadores de aminoácidos que comprenden más de cinco aminoácidos, aunque los enlazadores adecuados tienen hasta unos 500 aminoácidos seleccionados de entre la glicina, alanina, prolina, asparagina, glutamina, lisina, treonina, serina o aspartato. Los enlazadores de entre 20 y 50 aminoácidos aproximadamente son los más preferibles. Un grupo de enlazadores preferibles son los de las siguientes fórmulas:

GSGSATGGSGSTASSGSGSATx¹x² (SEC. ID. Nº:193)

y

GSGSATGGSGSTASSGSGSATx¹x²GSGSATGGSGSTASSGSGSATx³x⁴ (SEC. ID. Nº:194)

donde x¹ y x³ son, cada uno de ellos independientemente, residuos básicos o hidrófobos, y x² y x⁴ son, cada uno de ellos e independientemente, residuos hidrófobos. Los enlazadores preferibles específicos son:

GSGSATGGSGSTASSGSGSATHM (SEC. ID. Nº:59)

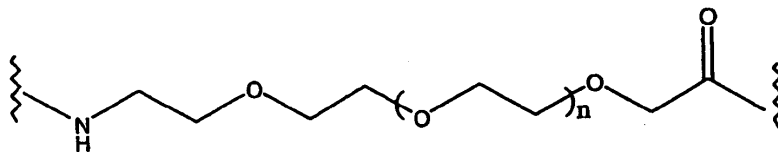
GSGSATGGSGSTASSGSGSAGM (SEC. ID. Nº: 190)

GSGSATGGSGSTASSGSGSATGS (SEC. ID. Nº:191) y

GSGSATGGSGSTASSGSGSATHMGSGSATGGSGSTASSGSGSATHM (SEC. ID. Nº:192)

También son posibles los enlazadores no peptídicos. Por ejemplo, podrían utilizarse enlazadores alquílicos tales como -NH-(CH₂)-C(O)- -NH-(CH₂)-C(O)-, donde s = 2-20. Estos enlazadores alquílicos también pueden ser sustituidos por cualquier grupo que no presente impedimento estérico, como el alquilo inferior (p. ej. C₁-C₆)p. ej., C₁-C₆ acilo inferior, halógeno (p. ej., Cl, Br), CN, NH₂, NH₂, fenilo, etc. Un ejemplo de enlazador no peptídico es un enlazador PEG,

VII

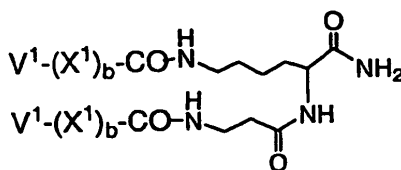


donde n es tal que el enlazador tiene un peso molecular de 100 a 5000 kD, preferiblemente de 100 a 500 kD. Los enlazadores peptídicos pueden ser alterados para formar derivados de la misma manera que se ha descrito anteriormente.

Derivados. Los autores de la invención contemplan también la derivatización de la porción del péptido y/o vehículo de los compuestos. Estos derivados pueden aumentar la solubilidad, absorción, vida media biológica, etc., de los compuestos. Las fracciones pueden eliminar o atenuar alternativamente cualquier efecto secundario indeseable de los compuestos, etc. Algunos ejemplos de derivados incluyen compuestos en los que:

1. El compuesto o alguna porción del mismo es cíclico. Por ejemplo, la porción del péptido puede modificarse para contener dos o más residuos Cys (p. ej., en el enlazador), que podrían ciclarse mediante la formación de enlaces de disulfuro.
2. El compuesto está reticulado o se ha hecho susceptible de reticulación entre moléculas. Por ejemplo, la porción del péptido puede modificarse de modo que contenga un residuo Cys y, de este modo, que sea capaz de formar un enlace de disulfuro intermolecular con una molécula semejante. El compuesto puede reticularse también a través de su extremo C-terminal, como en la molécula que se muestra a continuación.

VIII



En la Fórmula VIII, cada "V¹" puede representar típicamente una cadena del dominio Fc.

3. Uno o más enlaces (uniones) peptídicos [-C(O)NR-] se reemplaza por un enlace no peptídico. Algunos ejemplos de enlaces no peptídicos son -CH₂- carbamato [-CH₂-OC(O)NR-], fosfonato, -CH₂-sulfonamida [-CH₂-S(O)₂NR-], urea [-NHC(O)NH-], -CH₂-amina secundaria, y péptido alquilado [-C(O)NR⁶-] en donde R⁶ es alquilo inferior.

4. El extremo N-terminal está derivatizado. Típicamente, el extremo N-terminal puede ser acilado o modificado para formar una amina sustituida. Algunos ejemplos de grupos derivados del extremo N-terminal incluyen -NRR¹ (distinto de -NH₂, -NRC(O)R¹, -NRC(O)OR¹, -NRS(O)₂R¹, -NHC(O)NHR¹, succinimida o benciloxicarbonil-NH- (CBZ-NH-), en donde R y R¹, son cada uno de ellos independientemente, hidrógeno o alquilo inferior, y donde el anillo fenilo puede ser sustituido por 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo compuesto por alquilo C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄, cloro y bromo.

5. El extremo C-terminal libre está derivatizado. Típicamente, el extremo C-terminal está esterificado o amidado. Algunos ejemplos de grupos derivados del extremo C-terminal incluyen, por ejemplo, -C(O)R² donde R² es alcoxi inferior o -NR³R⁴ donde R³ y R⁴ son independientemente hidrógeno o alquilo C₁-C₈ (preferiblemente alquilo C₁-C₄).

6. Un enlace de disulfuro es sustituido por otra fracción reticuladora, preferiblemente más estable (p.ej., un alquileo). Véase, p. ej., Bhatnagar *et al.*, (1996), *J. Med. Chem.* 39:3814-9; Alberts *et al.*, (1993) *Thirteenth Am. Pep. Symp.*, 357-9.

7. Uno o más residuos de aminoácidos individuales están modificados. Se sabe que varios agentes de derivatización reaccionan específicamente con cadenas laterales o residuos terminales seleccionados, tal y como se describe detalladamente más abajo.

Los residuos lisinilo y residuos amino terminales pueden hacerse reaccionar con anhídrido succínico u otros anhídridos de ácidos carboxílicos, que invierten la carga de los residuos lisinilo. Otros reactivos adecuados para la derivatización de residuos que contienen grupos alfa-amino incluyen imidoésteres tales como picolinimidato de

metilo; fosfato de piridoxal; piridoxal; cloroborohidruro; ácido trinitrobencenosulfónico; O-metilisourea; 2,4-pentanodiona; y reacción con glioxilato catalizada por transaminasas.

Los residuos de arginilo pueden modificarse por reacción con uno cualquiera o una combinación de varios reactivos convencionales, que incluyen fenilgloxal, 2,3-butanodiona, 1,2-ciclohexanodiona y ninhidrina. La derivatización de los residuos de arginilo requiere que la reacción se lleve a cabo en condiciones alcalinas, debido al alto pKa del grupo funcional guanidino. Asimismo, estos reactivos pueden reaccionar con los grupos de lisina, así como con el grupo epsilon-amino de la arginina.

La modificación específica de los residuos de tirosilo ha sido estudiada extensamente, prestando especial atención a la introducción de marcadores espectrales en los residuos tirosilo mediante reacción con compuestos aromáticos de diazonio o tetranitrometano. Más generalmente, se utilizan N-acetilimidazol y tetranitrometano para formar especies de O-acetiltirosilo y 3-nitroderivados, respectivamente.

Los grupos de cadena lateral carboxilo (aspartilo o glutamilo) pueden modificarse selectivamente mediante reacción con carbodiimidas ($R'-N=C=N-R'$), tales como 1-ciclohexil-3-(2-morfolinil-(4-etil)-carbodiimida o 1-etil-3-(4-azonia-4,4-dimetilpentil)-carbodiimida. Asimismo, los residuos de aspartilo y glutamilo pueden convertirse en residuos de asparaginilo y glutaminilo por reacción con iones de amonio.

Los residuos de glutaminilo y asparaginilo pueden desamidarse para obtener los residuos de glutamilo y aspartilo correspondientes. Alternativamente, estos residuos se desamidan en condiciones moderadamente ácidas. Cualquiera de las formas de estos residuos corresponde al ámbito de aplicación de esta invención.

Los residuos de cisteinilo pueden reemplazarse por residuos de aminoácidos u otras fracciones, sea para eliminar los enlaces de disulfuro o, por lo contrario, para estabilizar la reticulación. Véase, p. ej., Bhatnagar *et al.* (1996), *J. Med. Chem.* 39:3814-9.

La derivatización con agentes bifuncionales es útil para la reticulación de los péptidos o sus derivados funcionales con una matriz de soporte no soluble en agua o con otros vehículos macromoleculares. Algunos agentes de reticulación utilizados comúnmente incluyen, p. ej., 1,1-bis(diazoacetil)-2-feniletano, glutaraldehído, ésteres de N-hidroxisuccinimida, por ejemplo, ésteres con ácido 4-ácidosalicílico, imidoésteres homobifuncionales, que incluyen ésteres de disuccinimidoílo tales como 3,3'-ditiobis(succinimidilpropionato), y maleimidas bifuncionales tales como bis-N-maleimido-1,8-octano. Los agentes de derivatización tales como metil-3-[(p-azidofenil)ditio]propioimidato producen compuestos intermedios fotoactivables que son capaces de formar reticulaciones en presencia de luz. Alternativamente, las matrices reactivas no solubles en agua tales como los carbohidratos activados con bromuro de cianógeno y los sustratos reactivos descritos en las patentes estadounidenses nº 3.969.287; 3.691.016; 4.195.128; 4.247.642; 4.229.537 y 4.330.440 se emplean para la inmovilización de proteínas.

Los grupos de carbohidratos (oligosacáridos) pueden unirse convenientemente a sitios que se sabe que son sitios de glicosilación en las proteínas. Generalmente, los oligosacáridos unidos a O se fijan a los residuos de serina (Ser) o treonina (Thr), mientras que los oligosacáridos unidos a N se fijan a los residuos asparagina (Asn) cuando éstos forman parte de la secuencia Asn-X-Ser/Thr, donde X puede ser cualquier aminoácido excepto prolina. X es preferiblemente uno de los 19 aminoácidos naturalmente presentes distintos de la prolina. Las estructuras de los oligosacáridos unidos a N o unidos a O y los residuos de azúcar encontrados en cada tipo son diferentes. Un tipo de azúcar que se encuentra comúnmente en ambos es el ácido N-acetilneuramínico (denominado ácido siálico). El ácido siálico es habitualmente el residuo terminal tanto de los oligosacáridos unidos a N como de los unidos a O y, debido a su carga negativa, puede conferir propiedades ácidas al compuesto glicosilado. Este sitio o sitios se pueden incorporar en el enlazador de los compuestos de esta invención y son glicosilados preferiblemente por una célula durante la producción recombinante de los compuestos polipéptidos (p. ej., en células de mamífero tales como CHO, BHK, COS). Sin embargo, estos sitios pueden glicosilarse también mediante procedimientos sintéticos o semisintéticos conocidos en el campo.

Otras posibles modificaciones incluyen la hidroxilación de prolina y lisina, fosforilación de grupos hidroxilo de los residuos de serilo o treonilo, oxidación del átomo de azufre en Cys, metilación de los grupos alfa-amino de las cadenas laterales de lisina, arginina e histidina. Creighton, *Proteins: Structure and Molecule Properties* (W. H. Freeman & Co., San Francisco), pp. 79-86(1983).

Los compuestos de la presente invención pueden cambiarse también a nivel del ADN. La secuencia de ADN de cualquier porción del compuesto puede cambiarse a codones más compatibles con la célula hospedadora seleccionada. Para *E. coli*, que es la célula hospedadora preferible, los codones optimizados se conocen en el campo. Los codones pueden ser sustituidos para eliminar sitios de restricción o incluir sitios de restricción silenciosos, que pueden ayudar al procesamiento del ADN en la célula hospedadora seleccionada. Las secuencias de vehículo, enlazador y ADN peptídico se pueden modificar para incluir cualquiera de los cambios de secuencia anteriores.

Métodos de producción

Los compuestos de esta invención pueden producirse en gran parte en células hospedadoras transformadas utilizando técnicas de ADN recombinante. Para ello, se prepara una molécula de ADN recombinante que codifica el péptido. Los métodos de preparación de estas moléculas de ADN son bien conocidos en el campo. Por ejemplo, las

secuencias que codifican los péptidos se podrían eliminar del ADN utilizando enzimas de restricción adecuadas. Alternativamente, la molécula de ADN podría sintetizarse utilizando técnicas de síntesis química, como el método del fosforamidato. Asimismo, podría utilizarse una combinación de estas técnicas.

La invención incluye también un vector capaz de expresar los péptidos en un hospedador apropiado. El vector comprende la molécula de ADN que codifica los péptidos enlazados operativamente a secuencias apropiadas de control de la expresión. Los métodos para efectuar este enlace operativo, sea antes o después de insertar la molécula de ADN en el vector, son bien conocidos. Las secuencias de control de la expresión incluyen promotores, activadores, intensificadores, operadores, sitios de unión de ribosomas, señales de inicio, señales de parada, señales de formación del casquete, señales de poliadenilación y otras señales implicadas en el control de la transcripción o la traducción.

El vector resultante que tiene la molécula de ADN en el mismo se utiliza para transformar un hospedador apropiado. Esta transformación se puede realizar utilizando métodos bien conocidos en el campo.

Se puede emplear cualquiera de un gran número de células hospedadoras disponibles y bien conocidas en la práctica de esta invención. La selección de un hospedador determinado depende de varios factores reconocidos en el campo. Entre ellos se incluyen, por ejemplo, la compatibilidad con el vector de expresión seleccionado, la toxicidad de los péptidos codificados por la molécula de ADN, la tasa de transformación, la facilidad de recuperación de los péptidos, las características de expresión, la bioseguridad y los costes. Es necesario alcanzar un equilibrio de estos factores, entendiendo que no todos los hospedadores pueden ser igualmente eficaces para la expresión de una secuencia de ADN determinada. Dentro de estas directrices generales, los hospedadores microbianos útiles incluyen las bacterias (tales como *E. coli* sp.), levaduras (tales como *Sacharomyces* sp.) y otros hongos, insectos, plantas, células de mamífero (incluyendo células humanas) en cultivo u otros hospedadores conocidos en el campo.

A continuación, el hospedador transformado se cultiva y se purifica. Las células hospedadoras pueden cultivarse en condiciones convencionales de fermentación, a fin de que se expresen los compuestos deseados. Tales condiciones de fermentación son bien conocidas en el campo. Finalmente, los péptidos se purifican del cultivo por métodos bien conocidos en el campo.

Los compuestos pueden producirse también por métodos sintéticos. Por ejemplo, pueden utilizarse técnicas de síntesis en fase sólida. Las técnicas adecuadas son bien conocidas en el campo e incluyen las descritas en Merrifield (1973), *Chem. Polypeptides*, pp. 335-61 (Katsoyannis and Panayotis eds.); Merrifield (1963), *J. Am. Chem. Soc.* 85:2149; Davis *et al.* (1985), *Biochem. Intl.* 10:394-414; Stewart y Young (1969), *Solid Phase Peptide Synthesis*; Patente estadounidense nº 3.941.763; Finn *et al.* (1976), *The Proteins* (3rd ed.) 2:105-253; and Erickson *et al.* (1976), *The Proteins* (3rd ed.) 2: 257-527. La síntesis en fase sólida es la técnica preferible para producir péptidos individuales, dado que es el método más rentable para producir péptidos pequeños.

Los compuestos que contienen péptidos derivatizados o que contienen grupos no peptídicos pueden sintetizarse por técnicas bien conocidas de química orgánica.

Usos de los compuestos

Los compuestos de esta invención pueden resultar particularmente útiles para el tratamiento de enfermedades autoinmunes mediadas por células B. En particular, los compuestos de esta invención pueden ser útiles para el tratamiento, la prevención, la mejora, el diagnóstico o pronóstico del lupus, incluyendo el lupus sistémico eritematoso (SLE), y las condiciones y enfermedades asociadas con el lupus. Otras indicaciones preferibles incluyen los cánceres mediados por células B, incluyendo el linfoma de células B.

Los compuestos de esta invención también se pueden utilizar para tratar estados inflamatorios de las articulaciones. Las condiciones inflamatorias de una articulación son enfermedades crónicas de las articulaciones que afligen y discapacitan, en diversos grados, a millones de personas en todo el mundo. La artritis reumatoide es una enfermedad de las juntas articulares en las que el cartílago y el hueso son erosionados lentamente por un tejido conectivo invasivo y proliferativo llamado pannus, que se deriva de la membrana sinovial. La enfermedad puede implicar estructuras periarticulares, tales como la bolsa, la vaina del tendón y los tendones, así como tejidos extraarticulares, tales como la hipodermis, el sistema cardiovascular, los pulmones, el bazo, los nódulos linfáticos, músculos esqueléticos, el sistema nervioso (central y periférico) y los ojos (Silberberg (1985), *Anderson's Pathology*, Kissane (ed.), II:1828). La osteoartritis es una enfermedad articular común que se caracteriza por cambios degenerativos en el cartílago articular y la proliferación reactiva de hueso y cartílago alrededor de la articulación. La osteoartritis es un proceso activo mediado por células que puede resultar de una respuesta inapropiada de los condrocitos a los estímulos catabólicos y anabólicos. Se ha documentado que los cambios en algunas moléculas de la matriz del cartílago articular se producen en la osteoartritis temprana (Thonar *et al.* (1993), *Rheumatic disease clinics of North America*, Moskowitz (ed.), 19:635-657 y Shinmei *et al.* (1992), *Arthritis Rheum.*, 35:1304-1308). Se cree que TALL-1, TALL-1R y sus moduladores son útiles para el tratamiento de estas condiciones y otras relacionadas.

Los compuestos de esta invención pueden ser útiles también para el tratamiento de una serie de enfermedades y trastornos adicionales, entre los que se incluyen:

- Pancreatitis aguda;

- Esclerosis lateral amiotrófica (ALS);
- Enfermedad de Alzheimer;
- Asma;
- Aterosclerosis;
- 5 • Anemia hemolítica autoinmune;
- Cáncer, particularmente los cánceres relacionados con las células B;
- Cachexia / anorexia;
- Síndrome de fatiga crónica;
- Cirrosis (p. ej., cirrosis biliar primaria);
- 10 • Diabetes (p. ej., diabetes de insulina);
- Fiebre;
- Glomerulonefritis, incluyendo glomerulonefritis de IgA y glomerulonefritis primaria;
- Síndrome de Goodpasture;
- Síndrome de Guillain-Barre;
- 15 • Enfermedad de injerto contra huésped;
- Tiroiditis de Hashimoto;
- Shock hemorrágico;
- Hiperalgnesia;
- Enfermedad intestinal inflamatoria;
- 20 Condiciones inflamatorias de una articulación, incluyendo osteoartritis, artritis psoriática y artritis reumatoide;
- Condiciones inflamatorias resultantes de tensión, torcedura, daños en el cartílago, traumatismos, cirugía ortopédica, infección u otros procesos patológicos;
- Diabetes mellitus dependiente de insulina;
- Lesión isquémica, incluyendo isquemia cerebral (p. ej., lesiones cerebrales resultantes de un traumatismo, epilepsia, hemorragia o accidente cerebrovascular, pudiendo provocar cada una de ellas una neurodegeneración);
- 25 • Problemas de aprendizaje;
- Enfermedades pulmonares (p. ej., síndrome de dificultad respiratoria aguda –ARDS);
- Mieloma múltiple;
- 30 • Esclerosis múltiple;
- Miastenia grave;
- Leucemias mielogenosas (p. ej., leucemia mieloide aguda (AML) y leucemia mieloide crónica (CML)) y otras leucemias;
- Miopatías (p. ej., metabolismo de la proteína muscular, especialmente en la sepsis);
- 35 • Neurotoxicidad (p. ej., como la inducida por el HIV);
- Osteoporosis;
- Dolor;
- Enfermedad de Parkinson; penfigus;
- Poliomiositis/dermatomiositis;
- 40 • Inflamación pulmonar, incluyendo enfermedad pulmonar autoinmune;
- Inflamación;
- Parto pretérmino;

- Psoriasis;
- Síndrome de Reiter;
- Lesión por reperfusión;
- Shock séptico;
- 5 • Efectos secundarios de la terapia con radiación;
- Síndrome de Sjogren;
- Trastornos del sueño;
- Enfermedad de la articulación temporomandibular;
- Trombocitopenia, incluyendo trombocitopenia idiopática y trombocitopenia neonatal autoinmune;
- 10 • Metástasis tumoral;
- Uveítis; y
- Vasculitis.

15 Los compuestos de esta invención se pueden administrar solos o en combinación con una cantidad terapéuticamente efectiva de otros fármacos, incluyendo agentes analgésicos, fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (DMARD), fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID) y cualquier modulador inmune y/o inflamatorio. De este modo, los compuestos de la presente invención se pueden administrar con:

- Moduladores de otros miembros de la familia de receptores TNF/TNF, incluyendo antagonistas del TNF, como etanercept (Enbrd™), sTNF-RI, onercept, D2E7 y Remicade™.
- 20 • Moduladores del factor de crecimiento nervioso (NGF).
- Inhibidores de IL-1, incluyendo moléculas IL-1ra, tales como anakinra y moléculas descubiertas más recientemente similares a IL-1ra, como IL-1Hy1 e IL-1Hy2; moléculas “trampa” como las descritas en la Patente estadounidense nº 5.844.099, publicada el 1 de diciembre de 1998; anticuerpos de IL-1; receptor de
- 25 • IL-1 solubilizado, y similares.
- Inhibidores de IL-6 (p. ej., anticuerpos de IL-6).
- Inhibidores de IL-8 (p. ej., anticuerpos de IL-8).
- Inhibidores de IL-18 (p. ej., proteína de unión a IL-18, receptor de IL-18 solubilizado o anticuerpos de IL-18).
 - Moduladores de la enzima de conversión de IL-1 (ICE).
- 30 • Factores de crecimiento similares a la insulina (IGF-1, IGF-2) y moduladores de los mismos.
- Factores beta de crecimiento transformador (TGF-β), miembros de la familia TGF-β, y moduladores de TGF-β.
- Factores de crecimiento de fibroblasto FGF-1 a FGF-10, y moduladores de FGF.
- Osteoprotegerina (OPG), análogos de OPG, agentes osteoprotectores y anticuerpos del ligando de OPG (OPG-L).
- 35 • Agentes anabólicos óseos, como la hormona paratiroide (PTH), fragmentos de PTH y moléculas que incorporan fragmentos de PTH (p. ej., PTH (1-34)-Fc).
- Antagonistas PAF.
- Factor de crecimiento de queratinocito (KGF), moléculas relacionadas con el KGF (p. ej., KGF-2) y moduladores de KGF.
- 40 • Inhibidores de COX-2, como Celebrex™ y Vioxx™.
- Análogos de prostaglandinas (p. ej., prostaglandinas de la serie E).
- Moduladores de la metaloproteinasa de matriz (MMP).
- Moduladores de óxido nítrico sintasa (NOS), incluyendo moduladores de NOS inducible.
- 45 • Moduladores del receptor glucocorticoide.

- Moduladores del receptor glutamato.
- Moduladores de los niveles de lipopolisacáridos (LPS).
- Agentes contra el cáncer, incluyendo inhibidores de oncogenes (p. ej., fos, jun) e interferones.
- Noradrenalina, y moduladores y miméticos de noradrenalina.

5 Composiciones farmacéuticas

En general, la presente invención proporciona también métodos de utilización de composiciones farmacéuticas de los compuestos de la invención. Estas composiciones farmacéuticas pueden ser administradas mediante una inyección, o para administración oral, pulmonar, nasal, transdérmica u otras formas de administración. En general, la invención abarca composiciones farmacéuticas que comprenden cantidades efectivas de un compuesto de la invención junto con diluyentes, conservantes, solubilizantes, emulsionantes, adyuvantes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables. Estas composiciones incluyen diluyentes con diversos contenidos de solución tampón (p. ej., Tris-HCl, acetato, fosfato), pH y concentración iónica; aditivos como detergentes y agentes solubilizantes (p. ej., Tween 80, Polisorbato 80), antioxidantes (p. ej., ácido ascórbico, metabisulfito de sodio), conservantes (p. ej., Thimersol, alcohol bencílico) y sustancias aumentadoras de volumen (p. ej., lactosa, manitol); la incorporación del material en preparaciones de partículas de compuestos poliméricos, tales como ácido poliláctico, ácido poliglicólico, etc. o en liposomas. También puede utilizarse ácido hialurónico y esto puede promover una duración prolongada en la circulación. Estas composiciones pueden influir en el estado físico, la estabilidad, la tasa de liberación in vivo y la tasa de eliminación in vivo de las proteínas y derivados presentes. Véase, p. ej., Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., (1990, Mack Publishing Co., Easton, PA 18042), páginas 1435-1712. Las composiciones se pueden preparar en forma líquida o pueden encontrarse en polvo seco, como forma liofilizada. Se contemplan también formulaciones implantables de liberación prolongada, como las formulaciones transdérmicas.

Formas de dosificación oral. En el presente se contempla el uso de formas sólidas de dosificación oral, que se describen generalmente en el capítulo 89 de Remington's Pharmaceutical Sciences (1990), Edición 18ª, Mack Publishing Co., Easton, PA 18042. Las formas sólidas de dosificación incluyen tabletas, cápsulas, píldoras, trociscos o pastillas, sellos o gránulos. Asimismo, puede utilizarse encapsulación liposómica o proteínica para formular las presentes composiciones (como, por ejemplo, las microesferas proteínicas documentadas en la Patente estadounidense nº 4.925.673). Puede utilizarse la encapsulación liposómica, y los liposomas pueden derivatizarse con diversos polímeros (p. ej., Patente estadounidense nº 5.013.556). Una descripción de formas sólidas de dosificación posibles para la terapéutica se recoge en el capítulo 10 de Marshall, K., Modern Pharmaceutics (1979), editado por G.S. Banker y C.T. Rhodes. En general, la formulación incluirá el compuesto de la invención e ingredientes inertes que ofrecen protección frente al entorno del estómago y la liberación del material biológicamente activo en el intestino.

Se contemplan también específicamente formas de dosificación oral de los compuestos de la invención mencionados anteriormente. En caso necesario, los compuestos pueden ser modificados químicamente para que el suministro oral sea eficaz. Por lo general, la modificación química contemplada es la unión de al menos una fracción a la molécula del compuesto en sí, donde dicha fracción permite (a) la inhibición de la proteólisis; y (b) la absorción en el torrente sanguíneo desde el estómago o el intestino. Es deseable también el aumento de la estabilidad general del compuesto y el aumento del tiempo de circulación en el cuerpo. Las fracciones útiles como vehículos unidos covalentemente en esta invención pueden utilizarse también para este fin. Algunos ejemplos de estas fracciones incluyen: PEG, copolímeros de etilenglicol y propilenglicol, celulosa de carboximetilo, dextrano, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona y poliprolina. Véase, por ejemplo, Abuchowski y Davis, Soluble Polymer-Enzyme Adducts, Enzymes as Drugs (1981), Hosenberg and Roberts, eds., Wiley-Interscience, New York, NY, pp. 367-83; Newmark, et al. (1982), J. Appl. Biochem, 4:185-9. Otros polímeros que se podrían utilizar son poli-1,3,6-dioxolano y poli-1,3,6-tioxocano. Como se ha indicado anteriormente, las fracciones PEG son preferibles para uso farmacéutico.

Para las formas de dosificación de administración oral, también se puede utilizar una sal de un aminoácido alifático modificado, como N-(8-[2-hidroxibenzoil]amino)-caprilato de sodio (SNAC), como vehículo para mejorar la absorción de los compuestos terapéuticos de esta invención. La eficacia clínica de una formulación de heparina que utiliza SNAC ha sido demostrada en un ensayo de Fase II realizada por Emisphere Technologies. Véase la Patente estadounidense nº 5.792.451, "Métodos y composición para la administración oral del fármaco".

Los compuestos de esta invención se pueden incluir en la formulación como multipartículas finas en forma de gránulos o píldoras con un tamaño de partícula aproximado de 1 mm. La formulación del material para la administración de la cápsula podría ser también en forma de polvo, bloques ligeramente comprimidos o incluso como tabletas. El agente terapéutico podría prepararse por compresión.

Pueden incluirse agentes colorantes y aromatizantes. Por ejemplo, la proteína (o derivado) puede formularse (por ejemplo por encapsulación en liposomas o microesferas) e incluirse luego dentro de un producto comestible, como una bebida refrigerada que contenga agentes colorantes y aromatizantes.

Se puede diluir o aumentar el volumen del compuesto de la invención con un material inerte. Estos diluyentes podrían incluir carbohidratos, especialmente manitol, α -lactosa, lactosa anhidra, celulosa, sacarosa, dextranos

modificados y almidón. Ciertas sales inorgánicas pueden utilizarse también como material de carga, incluyendo el trifosfato de calcio, carbonato de magnesio y cloruro de sodio. Algunos diluyentes disponibles en el mercado son Fast-Flo, Emdex, STA-Rx 1500, Emcompress y Avicell.

Pueden incluirse desintegrantes en la formulación del compuesto terapéutico en forma de dosificación sólida. Los materiales utilizados como desintegrantes incluyen, a título meramente enunciativo, el almidón, incluyendo el desintegrante comercial basado en almidón, Explotab. También se puede emplear glicolato de almidón de sodio, Amberlite, carboximetilcelulosa de sodio, ultramilopectina, alginato de sodio, gelatina, piel de naranja, carboximetilcelulosa ácida, esponja natural y bentonita. Otra forma de desintegrantes son las resinas cambiadoras de cationes insolubles. Se pueden utilizar gomas en polvo como desintegrantes y como aglomerantes, y estas pueden incluir gomas en polvo como agar, Karaya o tragacanto. El ácido algínico y su sal de sodio son también útiles como desintegrantes.

Se pueden utilizar aglomerantes para mantener el agente terapéutico unido, a fin de formar una tableta dura, e incluyen materiales de productos naturales tales como la goma arábiga, tragacanto, almidón y gelatina. Otros incluyen metilcelulosa (MC), etilcelulosa (EC) y carboximetilcelulosa (CMC). Se podría utilizar tanto polivinilpirrolidona (PVP) como hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) en soluciones alcohólicas para granular el producto terapéutico.

Se puede incluir un agente antifricción en la formulación del agente terapéutico para prevenir la adherencia durante el proceso de formulación. Se pueden utilizar lubricantes como una capa entre el agente terapéutico y la pared de la matriz, y éstos pueden incluir, a título meramente enunciativo, ácido esteárico, incluyendo sus sales de magnesio y calcio, politetrafluoretileno (PTFE), parafina líquida, aceites vegetales y ceras. También se pueden utilizar lubricantes solubles como laurilsulfato de sodio, laurilsulfato de magnesio, polietilenglicol de diversos pesos moleculares, Carbowax 4000 y 6000.

Se podrían añadir deslizantes para mejorar las propiedades del flujo del fármaco durante la formulación y para favorecer el reordenamiento durante la compresión. Los deslizantes pueden incluir almidón, talco, sílice pirógena y silicoaluminato hidratado.

Para favorecer la disolución del compuesto de esta invención en el entorno acuoso se podría añadir un agente tensioactivo como agente humectante. Los agentes tensioactivos pueden incluir detergentes aniónicos tales como laurilsulfato de sodio, sulfosuccinato de dioctil-sodio y sulfonato de dioctil-sodio. Se podrían utilizar detergentes catiónicos, que podrían incluir cloruro de benzalconio o cloruro de bencetonio. La lista de detergentes no iónicos potenciales que se podrían incluir en la formulación como agentes tensioactivos son lauromacrogol 400, polioxil-40-estearato, polioxietileno-aceite de ricino hidrogenado 10, 50 y 60, monoestearato de glicerol, polisorbato 40, 60, 65 y 80, sacarosa-éster de ácido graso, metilcelulosa y carboximetilcelulosa. Estos agentes tensioactivos podrían estar presentes en la formulación de la proteína o del derivado, sea solos o en forma de mezcla en diferentes ratios.

También se pueden incluir aditivos en la formulación para mejorar la absorción del compuesto. Los aditivos que tienen potencialmente esta propiedad son, por ejemplo, los ácidos grasos como el ácido oleico, ácido linoleico y ácido linolénico.

Puede ser deseable una formulación de liberación controlada. El compuesto de la presente invención se podría incorporar en una matriz inerte que permita la liberación por mecanismos de difusión o lixiviación, p. ej., gomas. También se pueden incorporar en la formulación matrices de degeneración lenta, como alginatos y polisacáridos. Otra forma de liberación controlada de los compuestos de esta invención es a través de un método basado en el sistema terapéutico Oros (Alza Corp.), es decir, en el que el fármaco está encapsulado en una membrana semipermeable que permite que el agua entre y haga salir el fármaco a través de una única abertura pequeña debido a los efectos osmóticos. Algunos recubrimientos entéricos tienen también un efecto de liberación retardada.

Pueden emplearse otros recubrimientos para la formulación. Estos incluyen diversos azúcares que podrían aplicarse en un recubridor en bombo. El agente terapéutico también se podría administrar en una tableta recubierta de una película y los materiales utilizados en este caso se dividen en dos grupos. El primero son los materiales no entéricos e incluyen metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxietilcelulosa, metilhidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, providona y los polietilenglicoles. El segundo grupo está compuesto por los materiales entéricos que son comúnmente ésteres de ácido ftálico.

Se podría utilizar una mezcla de materiales para proporcionar el recubrimiento de película óptimo. El recubrimiento de película se puede llevar a cabo en un recubridor en bombo o en un lecho fluidizado, o bien mediante recubrimiento por compresión.

Formas de administración pulmonar. Se contempla también en esta invención la administración pulmonar de la presente proteína (o derivados de la misma). La proteína (o su derivado) se administra en los pulmones de un mamífero mientras inhala y pasa a través del recubrimiento epitelial del pulmón al torrente sanguíneo. (Otros casos documentados de esto incluyen Adjei et al., *Pharma. Res.* (1990) 7: 565-9; Adjei et al. (1990), *Internatl. J-Pharmaceutics* 63:135-44 (acetato de leuprolida); Braquet et al. (1989), *J. Cardiovasc Pharmacol.* 13 (suppl.5): s.143-146 (endotelina-1); Hubbard et al (1989), *Annals Int Med.* 3:206-12 (a1-antitripsina); Smith et al. (1989), *J. Clin. Invest.* 84:1145-6 (a1-proteínasa); Oswein et al. (marzo de 1990), "Aerosolization of Proteins", *Proc. Symp. Resp.*

Drug Delivery II, Keystone, Colorado (hormona del crecimiento humano recombinante); Debs et al., (1988), J. Immunol. 140:3482-8 (interferón- γ y factor de necrosis tumoral α) y Platz et al., Patente estadounidense nº 5.284.656 (factor estimulante de colonias de granulocitos).

Se contemplan para el uso en la práctica de esta invención una extensa gama de dispositivos mecánicos diseñados para la administración pulmonar de productos terapéuticos que incluyen, a título meramente enunciativo, nebulizadores, inhaladores de dosis medidas, e inhaladores de polvos, siendo todos ellos conocidos para las personas con conocimientos en el campo. Algunos ejemplos específicos de dispositivos disponibles en el mercado adecuados para la práctica de esta invención son el nebulizador Ultravent, fabricado por Mallinckrodt, Inc., St. Louis, Missouri; el nebulizador Acorn II, fabricado por Marquest Medical Products, Englewood, Colorado; el inhalador de dosis medidas Ventolin, fabricado por Glaxo Inc., Research Triangle Park, North Carolina; y el inhalador de polvos Spinhaler, fabricado por Fisons Corp., Bedford, Massachusetts.

Todos estos dispositivos requieren el uso de formulaciones adecuadas para la dispensación del compuesto de la invención. Típicamente, cada formulación es específica para el tipo de dispositivo empleado y puede implicar el uso de un material propelente apropiado, además de diluyentes, adyuvantes y/o vehículos útiles en la terapia.

El compuesto de la invención debería prepararse de manera muy provechosa en forma de partícula con un tamaño de partícula medio inferior a 10 μm (o micrones), más preferiblemente de 0,5 a 5 μm , para la administración más efectiva al pulmón distal.

Algunos vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen carbohidratos como la trehalosa, manitol, xilitol, sacarosa, lactosa, y sorbitol. Otros ingredientes para el uso en formulaciones pueden incluir DPPC, DOPE, DSPC y DOPC. Pueden utilizarse agentes tensioactivos naturales o sintéticos. Puede utilizarse PEG (incluso aparte de su uso en la derivatización de la proteína o análogo). Pueden utilizarse dextranos, como el ciclodextrano. Se pueden utilizar sales biliares y otros potenciadores relacionados. Puede utilizarse celulosa y derivados de la celulosa. Se pueden utilizar aminoácidos, por ejemplo para emplearlos en una formulación tampón.

Se contempla también el uso de liposomas, microcápsulas o microesferas, complejos de inclusión u otros tipos de vehículos.

Las formulaciones adecuadas para utilizarlas con un nebulizador, sea de tipo chorro o ultrasónico, comprenderán típicamente el compuesto de la invención disuelto en agua a una concentración de aproximadamente 0,1 a 25 mg de proteína biológicamente activa por ml de solución. La formulación puede incluir también un tampón y un azúcar simple (p. ej., para la estabilización de la proteína y la regulación de la presión osmótica). La formulación del nebulizador puede contener también un agente tensioactivo, a fin de reducir o prevenir la agregación superficial inducida de la proteína causada por la atomización de la solución en la formación del aerosol.

Por lo general, las formulaciones para uso con un dispositivo inhalador de dosis medidas comprenderán un polvo finamente dividido que contiene el compuesto de la invención suspendido en un propelente con ayuda de un agente tensioactivo. El propelente puede ser cualquier material convencional empleado para este propósito, como un clorofluorocarbono, un hidroclorefluorocarbono, un hidrofluorocarbono, o un hidrocarburo, incluyendo el triclorofluorometano, diclorodifluorometano, diclorotetrafluoroetano y 1,1,1,2-tetrafluoroetano o combinaciones de los mismos. Los agentes tensioactivos adecuados incluyen el trioleato de sorbitán y lecitina de soja. También puede ser útil el ácido oleico como agente tensioactivo.

Las formulaciones para la dispensación desde un dispositivo inhalador de polvos comprenderán un polvo seco finamente dividido que contiene el compuesto de la invención y pueden incluir también un agente aumentador del volumen, como lactosa, sorbitol, sacarosa, manitol, trehalosa o xilitol, en cantidades que faciliten la dispersión del polvo desde el dispositivo, p. ej., 50 a 90% en peso de la formulación.

Formas de administración nasal. Se contempla también la administración nasal del compuesto de la invención. La administración nasal permite el paso de la proteína al torrente sanguíneo directamente después de la administración del producto terapéutico a la nariz, sin necesidad de deposición del producto en el pulmón. Las formulaciones para administración nasal incluyen las que contienen dextrano o ciclodextrano. También se contempla la administración por transporte a través de otras membranas mucosas.

Dosificaciones. El régimen de dosificación implicado en un método para el tratamiento de las afecciones anterior descritas será determinado por el médico responsable, teniendo en cuenta diversos factores que modifican la acción de los fármacos, p. ej., la edad, la condición, el peso corporal, el sexo y la dieta del paciente, la gravedad de cualquier infección, el tiempo de administración y otros factores clínicos. Por lo general, el régimen diario debería estar comprendido en el rango de 0,1-1000 microgramos del compuesto de la invención por kilogramo de peso corporal, preferiblemente de 0,1-150 microgramos por kilogramo.

Realizaciones específicas preferibles

Los autores de la invención han determinado estructuras preferibles para los péptidos preferibles que se recogen en la Tabla 4 más abajo. El símbolo "A" puede ser cualquiera de los enlazadores descritos en el presente o puede representar simplemente un enlace peptídico normal (es decir, sin ningún enlazador presente). Las repeticiones y enlazadores en tándem se muestran separados por guiones para una mayor claridad.

Tabla 4 – Realizaciones preferibles

Secuencia/estructura	SEC. ID. N°:
LPGCKWDLLIKQWVCDPL- Λ -V ¹	44
V ¹ - Λ -LPGCKWDLLIKQWVCDPL	45
LPGCKWDLLIKQWVCDPL - Λ - LPGCKWDLLIKQWVCDPL - Λ -V ¹	46
V ¹ - Λ -LPGCKWDLLIKQWVCDPL - Λ - LPGCKWDLLIKQWVCDPL	47
SADCYFDILTKSDVCTSS- Λ -V ¹	48
V ¹ - Λ -SADCYFDILTKSDVCTSS	49
SADCYFDILTKSDVTSS- Λ -SADCYFDILTKSDVTSS - Λ -V ¹	50
V ¹ - Λ -SADCYFDILTKSDVTSS - Λ - SADCYFDILTKSDVTSS	51
FHDCKWDLLTKQWVCHGL- Λ -V ¹	52
V ¹ - Λ -FHDCKWDLLTKQWVCHGL	53
FHDCKWDLLTKQWVCHGL - Λ - FHDCKWDLLTKQWVCHGL - Λ -V ¹	54
V ¹ - Λ -FHDCKWDLLTKQWVCHGL - Λ - FHDCKWDLLTKQWVCHGL	55

"V¹" es un dominio Fc como el definido anteriormente en el presente. Además de los recogidos en la Tabla 4, los autores de la invención contemplan también heterodímeros en los que cada una de las cadenas de un dímero Fc está unida a una secuencia peptídica diferente; por ejemplo, donde cada Fc está unido a una secuencia diferente seleccionada de la Tabla 2.

Todos los compuestos de esta invención se pueden preparar mediante los métodos descritos en la solicitud PCT n° WO99/25044. La invención se describirá ahora también a través de los siguientes ejemplos prácticos, que tienen un carácter ilustrativo y no limitador. Cualquier ejemplo que no corresponda al ámbito de aplicación de las reivindicaciones se ofrece con fines comparativos únicamente.

EJEMPLO 1

Péptidos

Péptidos con presentación de fagos

1. Preparación de perlas magnéticas

A. Inmovilización de Fc-TALL-1 en perlas magnéticas

La proteína Fc-TALL-1 recombinante se inmovilizó en Protein A Dynabeads (Dyna) a una concentración de 8 µg de Fc-TALL-1 por 100 µl del producto de perlas del fabricante. Arrastrando las perlas a un lado de un tubo utilizando un imán y retirando el líquido, las perlas se lavaron dos veces con la solución salina de fosfato (PBS) y se resuspendieron en PBS. Se añadió la proteína Fc-TALL-1 a las perlas lavadas a la concentración indicada y se incubaron por rotación durante una hora a temperatura ambiente. Las perlas de Fc-TALL-1 recubiertas fueron entonces bloqueadas añadiendo albúmina de suero bovino (BSA) a una concentración final del 1% y se incubaron durante una noche a 4°C con rotación. Las perlas recubiertas de Fc-TALL-1 resultantes se lavaron entonces dos veces con PBST (PBS con 0,05% de Tween-20), antes de someterlas a los procedimientos de selección.

B. Preparación de perlas para selección negativa

También se prepararon perlas adicionales para selecciones negativas. Para cada condición de las bandejas, 250 µl del producto de perlas del fabricante se sometió al anterior procedimiento (sección 1A), salvo por el hecho de que se omitió el paso de incubación con Fc-TALL-1. En el último paso de lavado, las perlas se dividieron en cinco alícuotas de 50 µl.

2. Selección del fago de unión de TALL-1

A. Estrategia general

Para seleccionar el fago de unión a TALL-1, se emplearon dos bibliotecas de fagos filamentosos: TN8-IX-(5X10⁹ transformantes independientes) y TN12-1 (1,4X10⁹ transformantes independientes) (Dyax Corp.). Cada biblioteca se sometió a una elución de pH 2 o a una "elución de perlas" (sección 2E). Por tanto, se prepararon cuatro condiciones de bandejas diferentes para el proyecto TALL-1 (TN8-IX utilizando el método de elución de pH 2, TN8-IX utilizando

el método de elución de perlas, TN12-I utilizando el método de elución de pH 2 y TN12-I utilizando el método de elución de perlas). Se realizaron tres rondas de selección para cada condición.

B. Selección negativa

5 Para cada condición de bandeja, del producto de la biblioteca se dividieron en partes alícuotas unos 100 equivalentes aleatorios de la biblioteca (5×10^{11} pfu para TN8-IX y 1.4×10^{11} pfu para TN12-I) y se diluyeron en 300 μ l con PBST. Después de retirar el último líquido de lavado de la primera alícuota de 50 μ l de las perlas preparadas para selecciones negativas (Sección 1B), los 300 μ l del producto de la biblioteca diluido se añadieron a las perlas. La mezcla resultante se incubó durante 10 minutos a temperatura ambiente con rotación. Se retiró el supernatante del fago utilizando el imán y se añadió a la segunda alícuota de 50 μ l para otro paso de selección negativa. De este modo, se realizaron cinco pasos de selección negativa.

C. Selección utilizando las perlas recubiertas de proteína Fc-TALL-1

15 El supernatante del fago después del último paso de selección negativa (sección 1B) se añadió a las perlas recubiertas de Fc-TALL-1 después del último paso de lavado (Sección 1A). Esta mezcla se incubó con rotación durante dos horas a temperatura ambiente, permitiendo que el fago específico se uniese a la proteína diana. Tras desechar el supernatante, las perlas se lavaron siete veces con PBST.

D. Elución de pH2 del fago de unión

20 Después del último paso de lavado (sección 2C), los fagos de unión fueron eluidos de las perlas magnéticas añadiendo 200 μ l de CBST (50 mM de citrato de sodio, 150 mM de cloruro de sodio, 0,05% de Tween-20, pH2). Tras cinco minutos de incubación a temperatura ambiente, el líquido que contenía el fago eluido fue retirado y transferido a otro tubo. El paso de elución se repitió una vez más, añadiendo 200 μ l de CBST e incubando durante cinco minutos. Se juntaron los líquidos de los dos pasos de elución y se añadieron 100 μ l de solución 2 M Tris (pH 8) para neutralizar el pH. Se añadieron 500 μ l de solución Min A Salts (60 mM K_2HPO_4 , 33 mM KH_2PO_4 , 7,6 mM $(NH_4)_2SO_4$, y 1,7 mM de citrato de sodio) para conseguir el volumen final de 1 ml.

E. “Elución de perlas”

25 Después de retirar el líquido de lavado final (sección 2C), se añadió 1 ml de solución de sales Min A a las perlas. Esta mezcla de las perlas se añadió directamente a una muestra de bacterias concentrada para la infección (sección 3A y 3B).

3. Amplificación

A. Preparación de células en placas

30 Un cultivo fresco de *E. Coli*. (XL-1 Blue MRF⁺) se desarrolló a $OD_{600} = 0,5$ en medios LB que contenían 12,5 μ g/ml de tetraciclina. Para cada condición de bandeja, se enfriaron 20 ml de este cultivo sobre hielo y se centrifugaron. El gránulo de la bacteria se resuspendió en 1 ml de la solución Min A Salts.

B. Transducción

35 Cada mezcla de los diferentes métodos de elución (sección 2D y 2E) se añadió a una muestra de bacterias concentrada (sección 3A) y se incubó a 37 °C durante 15 minutos. Se añadieron 2 ml de medios NZCYM (2XNZCYM, 50 μ g/ml de ampicilina) a cada mezcla y se incubaron a temperatura ambiente durante 15 minutos. La solución de 4 ml resultante se colocó en una placa grande de agar NZCYM que contenía 50 μ g/ml de ampicilina y se incubó durante una noche a 37 °C.

C. Recolección de fagos

40 Cada una de las mezclas de bacterias/fagos se cultivó durante una noche en una placa grande de agar NZCYM (sección 3B), se rasparon en 35 ml de medios LB, y la placa de agar fue posteriormente enjuagada con otros 35 ml de medios LB. La mezcla de bacterias/fagos resultante en medios LB se centrifugó para separar los gránulos de bacterias. Se transfirieron 50 ml del supernatante de fagos a un tubo limpio, se añadieron 12,5 ml de solución PEG (20% PEG8000, 3,5M de acetato de amonio) y se incubó sobre hielo durante dos horas para precipitar los fagos. Los fagos precipitados fueron centrifugados y resuspendidos en 6 ml de la solución de resuspensión de fagos (250 mM de NaCl, 100 mM de Tris pH8, 1 mM de EDTA). Esta solución de fagos fue posteriormente purificada mediante centrifugado para retirar las bacterias restantes y precipitando el fago por segunda vez mediante la adición de 1,5 ml de la solución PEG. Tras un paso de centrifugado, los gránulos del fago se resuspendieron en 400 μ l de PBS. Esta solución se sometió a un centrifugado final para eliminar los últimos restos de bacterias. La preparación de fagos resultante fue titulada mediante un ensayo estándar de formación de placas (Molecular Cloning, Maniatis et al., 3rd Edition).

4. Dos rondas más de selección y amplificación.

55 En la segunda ronda, el fago amplificado (10^{10} pfu) de la primera ronda (sección 3C) se utilizó como fago administrado para realizar los pasos de selección y amplificación (secciones 2 y 3). El fago amplificado (10^{10} pfu) de la segunda ronda se utilizó, a su vez, como fago administrado para realizar la tercera ronda de selección y

amplificación (secciones 2 y 3). Después de los pasos de elución (secciones 2D y 2E) de la tercera ronda, una pequeña fracción del fago eluido se colocó en placas como en el ensayo de formación de placas (sección 3C). Las placas individuales se recogieron y se colocaron en placas de microtitulación de 96 pocillos que contenían 100 µl de solución tampón de TE en cada pocillo. Estas placas principales se incubaron en una incubadora a 37°C durante una hora para permitir la elución de los fagos en la solución tampón de TE.

5. Análisis clonal (secuenciación y ensayo ELISA de fagos)

Los clones de fagos fueron analizados mediante métodos de secuenciación y ensayo ELISA de fagos. Las secuencias se clasificaron basándose en los resultados combinados de estos dos ensayos.

A. ELISA de fagos

Se realizó un cultivo de XL-1 Blue MRF hasta que OD₆₀₀ alcanzó 0,5. 30 µl de este cultivo fueron divididos en alícuotas en cada uno de los pocillos de la placa de microtitulación de 96 pocillos. Se añadieron 10 µl de fagos eluidos (sección 4) a cada pocillo y se permitió la infección por bacterias durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se añadieron 130 µl de medios LB que contenían 12,5 µg/ml de tetraciclina y 50 µg/ml de ampicilina a cada pocillo. Después la placa de microtitulación se incubó durante una noche a 37°C. Se permitió el recubrimiento de la proteína TALL-1 recombinante (1 µg/ml en PBS) en placas Maxisorp de 96 pocillos (NUNC) durante una noche a 4°C. Como control, la proteína Fc-Trail recombinante se recubrió en una placa Maxisorp separada a la misma concentración molar que la proteína TALL-1.

Al día siguiente, los líquidos de las placas Maxisorp recubiertas de proteína se descartaron y cada pocillo fue bloqueado con 300 µl de solución BSA al 2% a 37 °C durante una hora. Se desechó la solución BSA y los pocillos se lavaron tres veces con la solución PBST. Después del último paso de lavado, se añadieron 50 µl de PBST a cada pocillo de las placas Maxisorp recubierto de proteína. Cada uno de los 50 µl cultivados durante una noche en la placa de microtitulación de 96 pocillos fue transferido a los correspondientes pocillos de las placas recubiertas de TALL-1, así como a las placas de control recubiertas de Fc-Trail. Las mezclas de 100 µl de los dos tipos de placas se incubaron durante una hora a temperatura ambiente. Se desechó el líquido de las placas Maxisorp y los pocillos se lavaron cinco veces con PBST. El anticuerpo anti-M13 conjugado con HRP (Pharmacia) se diluyó hasta un ratio de 1:7.500, y se añadieron 100 µl de la solución diluida a cada pocillo de las placas Maxisorp para una hora de incubación a temperatura ambiente. El líquido fue desechado de nuevo y los pocillos se lavaron siete veces con PBST. Se añadieron 100 µl de sustrato de tetrametilbencidina (TMB) (Sigma) a cada pocillo para desarrollar la reacción del color, y la reacción se detuvo con 50 µl de la solución de 5 N H₂SO₄. Los valores de OD₄₅₀ se leyeron en un lector de placas (Molecular Devices).

B. Secuenciación de los clones de fagos.

Para cada clon de fago, se preparó la plantilla de secuenciación a través de un método PCR. Se utilizó el siguiente par de oligonucleótidos para amplificar unos 500 fragmentos de nucleótido:

cebador #1 (5'-CGGCGCAACTATCGGTATCAAGCTG-3') (SEC. ID. N°: 56)

y cebador #2 (5'-CATGTACCGTAACACTGAGTTTGGTC-3') (SEC. ID. N°: 57)

Se preparó la siguiente mezcla para cada clon.

Reactivos	volumen (µL) / tubo
dH ₂ O	26,25
50% glicerol	10
10B PCR tampón (sin MgCl ₂)	5
25 mM MgCl ₂	4
10 mM dNTP mix	1
100 µM cebador 1	0,25
100 µM cebador 2	0,25
Taq polimerasa	0,25
Fago en TE (sección 4)	3
Volumen de la reacción final	50

Se utilizó el termociclador (GeneAmp PCR System 9700, Applied Biosystems) para ejecutar el siguiente programa: 94°C durante 5 min; [94°C durante 30 seg., 55°C durante 30 seg., 72°C durante 45 seg.] x30 ciclos; 72°C durante 7 min; frío a 4°C. El producto de la PCR se comprobó poniendo 5 µl de cada reacción PCR en un gel de agarosa al 1%. El producto de la PCR en los restantes 45 µl de cada reacción se limpiaron utilizando el kit QIAquick Multiwell PCR Purification kit (Qiagen), siguiendo el protocolo del fabricante. El producto resultante fue después secuenciado utilizando el ABI 377 Sequencer (Perkin-Elmer), siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante.

6. Clasificación de secuencias y determinación de la secuencia de consenso

A. Clasificación de secuencias

Las secuencias del péptido que se tradujeron de secuencias de nucleótidos variables (sección 5B) fueron correlacionadas con los datos del ensayo ELISA. Los clones que demostraron un elevado OD₄₅₀ en los pocillos recubiertos de TALL-1 y un bajo OD₄₅₀ en los pocillos recubiertos de Fc-Trail se consideraron más importantes. Las secuencias que ocurren múltiples veces se consideraron también importantes secuencias candidatas cuando se elegían basándose en estos criterios para un posterior análisis como péptidos o peptidocuerpos. Se seleccionaron cinco y nueve secuencias de péptidos candidatas de las bibliotecas de TN8-IX y TN I2-1, respectivamente.

B. Determinación de la secuencia de consenso

La mayoría de las secuencias seleccionadas de la biblioteca de TN12-I contenían un motivo de DBL muy conservado. Este motivo se observó también en secuencias seleccionadas de la biblioteca de TN8-1B. Otro motivo, PFPWE (SEC. ID. N°: 110) también se observó en las secuencias obtenidas de la biblioteca de TN8-1B.

Un péptido de consenso, FHDCKWDLTKQWVCHGL (SEC. ID. N°: 58), se diseñó basándose en el motivo de DBL. Dado que los péptidos obtenidos de la biblioteca de TN12-I eran los más activos, las 26 secuencias de péptidos principales basándose en los anteriores criterios de clasificación (sección 5A) fueron alineadas por el motivo de DBL. La "secuencia de aminoácidos central" subrayada se obtuvo determinando el aminoácido que más ocurre en cada posición. Las dos cisteínas adyacentes a las secuencias centrales eran aminoácidos fijados en la biblioteca de TN12. El resto de la secuencia de aminoácido en el péptido de consenso se toma de uno de los péptidos candidatos, TALL-1-12-10 (Tabla 2, SEC. ID. N°: 37). El péptido y el peptidocuerpo que se obtuvo de esta secuencia de consenso eran sumamente activos en el ensayo de proliferación de células B.

EJEMPLO 2

Peptidocuerpos

Se construyó un conjunto de 12 peptidocuerpos inhibidores de TALL-1 (Tabla 5) en los que un monómero de cada péptido se fusionó estructuralmente con la región Fc de la IgG1 humana. Cada peptidocuerpo inhibidor de TALL-1 se construyó anillando los pares de oligonucleótidos mostrados en la Tabla 6 para generar un dúplex que codifica el péptido y un enlazador compuesto por cinco residuos de glicina y un residuo de valina como un fragmento NdeI de Sall. Estas moléculas dúplex se unieron en un vector (pAMG21-ANK-Fc, descrito en el presente) que contenía el gen Fc humano, también digerido con NdeI y Sall. Las mezclas de unión resultantes se transformaron mediante electroporación en las células 2596 de la cadena de E. coli (GM221, descritas en el presente). Se comprobó la capacidad de los clones para producir el producto de la proteína recombinante y para poseer la fusión de genes que cuenta con la secuencia de nucleótidos correcta. Se seleccionó uno solo de estos clones para cada uno de los péptidos. El nucleótido y las secuencias de aminoácidos de las proteínas de fusión se muestran en la Figura 4A a 4F.

Tabla 5. Secuencias de péptidos y oligonucleótidos empleados para generar peptidocuerpos inhibidores de TALL-1.

Peptidocuerpo	Peptidocuerpo SEC. ID. N°	Secuencia peptídica	Oligonucleótido o sentido	Oligonucleótido o antisentido
TALL-1-8-1-a	29	PGTCFPPFWECTHA	2517-24	2517-25
TALL-1-8-2-a	30	WGACWPPFWECFKE	2517-26	2517-27
TALL-1-8-4-a	31	VPFCDLLTKHCFEA	2517-28	2517-29
TALL-1-12-4-a	32	GSRCKYKWDVLTKQCFHH	2517-30	2517-31
TALL-1-12-3-a	33	LPGCKWDLLIKQWCDPL	2517-32	2517-33
TALL-1-12-5-a	34	SADCYFDILTKSDVCTSS	2517-34	2517-35
TALL-1-12-8-a	35	SDDCMYDQLTRMFICSNL	2517-36	2517-37
TALL-1-12-9-a	36	DLNCKYDELTKEWCQFN	2521-92	2521-93
TALL-1-12-10-a	37	FHDCKYDILLTRQMVCHGL	2521-94	2521-95
TALL-1-12-11-a	38	RNHCWFWDHLLKQDIPCSP	2521-96	2521-97
TALL-1-12-14-a	39	ANQCWWDLSLTKKNVCEFF	2521-98	2521-99
TALL-1-consensus	58	FHDCKWDLTKQWVCHGL	2551-48	2551-49

Tabla 5B. Peptidocuerpos inhibidores de TALL-1

Peptidocuerpo	Peptidocuerpo SEC. ID. N°	Secuencia peptídica
TALL-1-8-1-a	111	MPGTCFPPFW ECTHAGGGGG VDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPPVL SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
TALL-1-8-2-a	112	MWGACWPPFW ECFKEGGGGG VDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPPVL SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
TALL-1-8-4-a	113	MVPFCDLLTK HCFEAGGGGG VDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPPVL SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
TALL-1-12-4-a	114	MGSRCYKWD VLTQCFHHG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTTP PVLDSGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK
TALL-1-12-3-a	115	MLPGCKWDLI IKQWCDPLG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTTP PVLDSGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK
TALL-1-12-5-a	116	MSADCYFDIL TKSDVCTSSG GGGG VDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTTP PVLDSGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK
TALL-1-12-8-a	117	MSDDCMYDQL TRMFICSNLG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTTP

		PVLDSGDSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNNH YTQKSLSLSP GK
TALL-1-12-9-a	118	MDLNCKYDEL TYKEWCQFNG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTT PVLDSGDSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNNH YTQKSLSLSP GK
TALL-1-12-10-a	119	MFHDCKYDHL TRQMVCHGLG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTT PVLDSGDSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNNH YTQKSLSLSP GK
TALL-1-12-11-a	120	MRNHCFWDHL LRQDICPSPG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTT PVLDSGDSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNNH YTQKSLSLSP GK
TALL-1-12-14-a	121	MANQCWWDLSL TKNVCEFFG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTT PVLDSGDSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNNH YTQKSLSLSP GK
consenso de TALL-1	122	MFHDCKWDLL TKQWVCHGLG GGGGVDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTT PVLDSGDSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNNH YTQKSLSLSP GK
dímero en tándem TALL-1 12-3	123	MLPGCKWDL I KQWVCDPLG SGSATGGSGS TASSGSGSAT HMLPGCKWDL LIKQWVCDPL GGGGVDKTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS RDELTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSGDSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSLS PGK
dímero en tándem de consenso	124	MFHDCKWDL TKQWVCHGLG SGSATGGSGS TASSGSGSAT HMFHDCKWDL LTKQWVCHGL GGGGVDKTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS RDELTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSGDSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSLS PGK

Tabla 6. Secuencias de oligonucleótidos utilizadas en la construcción del peptidocuerpo.

Oligonucleótido ID nº	SEC. ID. Nº	Secuencia
2517-24	71	TAT GCC GGG TAC TTG TTT CCC GTT CCC GTG GGA ATG CAC TCA CGC TGG TGG AGG CGG TGG GG
2517-25	72	TCG ACC CCA CCG CCT CCT GGA GCG TGA GTG CAT TCC CAC GGG AAG CCG AAA CAA GTA CCC GGC A
2517-26	73	TAT GTG GGG TGC TTG TTG GCC GTT CCC GTG GGA ATG TTT CAA AGA AGG TGG AGG CGG TGG GG
2517-27	74	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCT TCT TTG AAA CAT TCC CACGGG AAC GGC CAA CAAGCA CCC CAC A
2517-28	75	TAT GGT TCC GTT CTG TGA CCT GCT GAC TAA ACA CTG TTT CGA AGC TGG TGG AGG CGG TGG GG
2517-29	76	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCA GCT TCG AAA CAG TGT TTA GTC AGC AGG TCA CAGAAC GGA ACC A
2517-30	77	TAT GGG TTC TCG TTG TAA ATA CAA ATG GGA CGT TCT GAC TAA ACA GTG TTT CCA CCA CGG TGG AGG CGG TGG GG
2517-31	78	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCG TGG TGG AAA CAC TGT TTA GTC AGA ACG TCC CAT TTG TAT TTA CAA CGA GAA CCC A
2517-32	79	TAT GCT GCC GGG TTG TAA ATG GGA CCT GCT GAT CAA ACA GTG GGT TTG TGA CCC GCT GGG TGG AGG CGG TGG GG
2517-33	80	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCC AGC GGG TCA CAA ACC CAC TGT TTG ATC AGC AGG TCC CAT TTA CAA CCC GGC AGC A
2517-34	81	TAT GTC TGC TGA CTG TTA CTT CGA CAT CCT GAC TAA ATC TGA CGT TTG TAC TTC TTC TGG TGG AGG CGG TGG GG
2517-35	82	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCA GAA GAA GTA CAA ACG TCA GAT TTA GTC AGG ATG TCG AAG TAA CAG TCA GCA GAC A
2517-36	83	TAT GTC TGA CGA CTG TAT GTA CGA CCA GCT GAC TCG TAT GTT CAT CTG TTC TAA CCT GGG TGG AGG CGG TGG GG
2517-37	84	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCC AGG TTA GAA CAG ATG AAC ATA CGA GTC AGC TGG TCG TAC ATA CAG TCG TCA GAC A
2521-92	85	TAT GGA CCT GAA CTG TAA ATA CGA CGA ACT GAC TTA CAA AGA ATG GTG TCA GTT CAA CGG TGG AGG CGG TGG GG
25221-93	86	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCG TTG AAC TGA CAC CAT TCT TTG TAA GTC AGTTTCG TCG TAT TTA CAG TTC AGG TCC A
2521-94	87	TAT GTT CCA CGA CTG TAA ATA CGA CCT GCT GAC TCG TCA GAT GGT TTG TCA CGG TCT GGG TGG AGG CGG TGG GG
2521-95	88	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCC AGA CCG TGA CAA ACC ATC TGA CGA GTC AGC AGG TCG TAT TTA CAG TCG TGG AAC A
2521-96	89	TAT GCG TAA CCA CTG TTT CTG GGA CCA CCT GCT GAA ACA

		GGA CAT CTG TCC GTC TCC GGG TGG AGG CGG TGG GG
2521-97	90	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCC GGA GAC GGA CAG ATG TCC TGT TTC AGC AGG TGG TCC CAG AAA CAG TGG TTA CGC A
2521-98	91	TAT GGC TAA CCA GTG TTG GTG GGA CTC TCT GCT GAA AAA AAA CGT TTG TGA ATT CTT CGG TGG AGG CGG TGG GG
2521-99	92	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCG AAG AAT TCA CAA ACG TTT TTT TTC AGC AGA GAG TCC CAC CAA CAC TGG TTA GCC A
2551-48	93	TAT GTT CCA CGA CTG CAA ATG GGA CCT GCT GAC CAA ACA GTG GGT TTG CCA CGG TCT GGG TGG AGG CGG TGG GG
2551-49	94	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCC AGA CCG TGG CAA ACC CAC TGT TTG GTC AGC AGG TCC CAT TTG CAG TCG TGG AAC A

Vector pAMG21-RANK-Fc

pAMG21. El plásmido de expresión pAMG21 (nº de acceso ATCC 98113) se puede obtener del vector de expresión de Amgen pCFM1656 (ATCC #69576) que, a su vez, se puede obtener del sistema del vector de expresión de Amgen descrito en la Patente estadounidense nº 4.710.473. El plásmido pCFM1656 se puede obtener del plásmido pCFM836 descrito (Patente estadounidense nº 4.710.473) de la siguiente manera:

- destruyendo los dos sitios de restricción endógenos de NdeI, rellenando el extremo con la enzima de la polimerasa T4 seguida de la unión al extremo romo;
- sustituyendo la secuencia de ADN entre los sitios de restricción únicos AatII y ClaI que contienen el promotor sintético PL por un fragmento similar obtenido de pCFM636 (patente nº 4.710.473) que contiene el promotor P_L (véase la SEC. ID. Nº: 95 más abajo); y
- sustituyendo la secuencia de ADN pequeña entre los sitios de restricción únicos ClaI y KpnI por el oligonucleótido que tiene la secuencia de la SEC. ID. Nº: 96

SEC. ID. Nº: 95

AatII
 5' CTAATTCGCTCTCACCTACCAACAATGCCCCCTGCAAAAAATAAATTCATAT-
 3' TGCAGATTAAAGCGAGAGTGGATGGTTGTACGGGGGACGTTTTTATTTAAGTATA-
 -AAAAACATACAGATAACCATCTGCGGTGATAAATTATCTCTGGCGGTGTGACATAAA-
 -TTTTTGTATGTCTATTGGTAGACGCCACTATTTAATAGAGACGCCACAACGTATTT-
 -TACCACTGGCGGTGATACTGAGCACAT 3'
 -ATGGTGACCGCCACTATGACTCGTGTAGC 5'
ClaI

SEC. ID. Nº: 96

5' CGATTTGATTCTAGAAGGAGGAATAACATATGGTTAACGCGTTGGAATTCGGTAC
 3' TAAACTAAGATCTTCCTCCTTATTGTATACCAATTGCGCAACCTTAAGC 5'
ClaI KpnI

El plásmido de expresión pAMG21 se puede obtener entonces de pCFM1656 haciendo una serie de cambios básicos orientados al sitio mediante PCR, solapando la mutagénesis de oligonucleótidos con las sustituciones de la secuencia de ADN. Comenzando por el sitio BglII (plásmido bp # 180) inmediatamente 5' al promotor de replicación del plásmido P_{copB} y continuando por los genes de replicación del plásmido, los cambios de los pares básicos se muestran en la Tabla 7 a continuación.

Tabla 7—Cambios en los pares básicos resultantes en pAMG21

<u>pAMG21 bp #</u>	<u>bp in pCFM1656</u>	<u>bp modificado en in-Pamg21</u>	
# 204	T/A	C/G	
# 428	A/T	G/C	
# 509	G/C	A/T	
# 617	- -	insertar dos bp G/C	bp
# 679	G/C	T/A	
# 980	T/A	C/G	
# 994	G/C	A/T	
# 1004	A/T	C/G	
# 1007	C/G	T/A	
# 1028	A/T	T/A	
# 1047	C/G	T/A	
# 1178	G/C	T/A	
# 1466	G/C	T/A	
# 2028	G/C	delección de bp 1	
# 2187	C/G	T/A	
# 2480	A/T	T/A	
# 2499-2502	<u>AGTG</u> TCAC	<u>GTCA</u> CAGT	
# 2642	<u>TCCGAGC</u> AGGCTCG	delección de 7 bp	ion
# 3435	G/C	A/T	
# 3446	G/C	A/T	
# 3643	A/T	T/A	

- 5 La secuencia de ADN entre los sitios de restricción únicos AatII (posición #4364 en pCFM1656) y SacII (posición #4585 en pCFM1656) es sustituida por la secuencia de ADN siguiente (SEC. ID. N°: 97):.

(extremo adherente AatII 5' GCGTAACGTATGCATGGTCTCC-
(posición #4358 en pAMG21 3' TGCACGCATTGCATACGTACCAGAGG-

-CCATGCGAGAGTAGGGAACTGCCAGGCATCAAATAAAACGAAAGGCTCAGTCGAAAGACT-
-GGTACGCTCTCATCCCTTGACGGTCCGTAGTTTATTTTGCTTCCGAGTCAGCTTTCTGA-

-GGGCCTTTTCGTTTATCTGTTGTTTGTGTCGGTGAACGCTCTCCTGAGTAGGACAAATCCGC-
-CCCGGAAAGCAAAATAGACAACAAACAGCCACTTGCGAGAGGACTCATCCTGTTTAGGCG-

-CGGGAGCGGATTTGAACGTTGCGAAGCAACGGCCCGGAGGGTGGCGGGCAGGACGCCCGC-
-GCCCTCGCCTAAACTTGCAACGCTTCGTTGCCGGGCCTCCACCGCCCGTCTGCGGGCG-

-CATAAACTGCCAGGCATCAAATTAAGCAGAAGGCCATCCTGACGGATGGCCTTTTTGCGT-
-GTATTTGACGGTCCGTAGTTTAATTCGTCTCCGGTAGGACTGCCTACCGGAAAAACGCA-

AatII

-TTCTACAACTCTTTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGGACGTCGTACTTAAAC-
-AAGATGTTTGAGAAAACAAATAAAAAGATTTATGTAAGTTTATACCTGCAGCATGAATTG-

-TTTTAAAGTATGGGCAATCAATTGCTCCTGTTAAAATTGCTTTAGAAATACTTTGGCAGC-
-AAAATTTATACCCGTTAGTTAACGAGGACAATTTAACGAAATCTTTATGAAACCGTCG-

-GGTTTGTTGTATTGAGTTTCATTTGCGCATTTGGTTAAATGGAAAGTGACCGTGCGCTTAC-
-CCAAACAACATAACTCAAAGTAAACGCGTAACCAATTTACCTTTCACTGGCACGCGAATG-

-TACAGCCTAATATTTTTGAAATATCCCAAGAGCTTTTTCTTCGCATGCCCACGCTAAAC-
-ATGTCGGATTATAAAAACTTTATAGGGTTCTCGAAAAAGGAAGCGTACGGGTGCGATTG-

-ATTCTTTTTCTCTTTTGTTAAATCGTTGTTTGATTATTATTGCTATATTTATTTTTTC-
-TAAGAAAAAGAGAAAACCAATTTAGCAACAACTAAATAATAAACGATATAAATAAAAAG-

-GATAATTATCAACTAGAGAAGGAACAATTAATGGTATGTTTCATACACGCATGTAAAAATA-
-CTATTAATAGTTGATCTCTTCCTTGTTAATTACCATAACAAGTATGTGCGTACATTTTTAT-

-AACTATCTATATAGTTGTCTTTCTCTGAATGTGCAAACTAAGCATTCGGAAGCCATTAT-
-TTGATAGATATATCAACAGAAAGAGACTTACACGTTTTGATTTCGTAAGGCTTCGGTAATA-

-TAGCAGTATGAATAGGGAACTAAACCCAGTGATAAGACCTGATGATTTCGCTTCTTTAA-
-ATCGTCATACTTATCCCTTTGATTTGGGTCACTATTCTGGACTACTAAAGCGAAGAAAT-

-TTACATTTGGAGATTTTTTATTTACAGCATTGTTTTCAAATATATTCCAATTAATCGGTG-
-AATGTAAACCTCTAAAAATAAATGTGCGTAACAAAAGTTTATATAAGGTTAATTAGCCAC-

-AATGATTGGAGTTAGAATAATCTACTATAGGATCATATTTTATTAAATTAGCGTCATCAT-
-TTACTAACCTCAATCTTATTAGATGATATCCTAGTATAAAATAATTTAATCGCAGTAGTA-

-AATATTGCCTCCATTTTTTAGGGTAATTATCCAGAATTGAAATATCAGATTTAACCATAG-
-TTATAACGGAGGTAAAAAATCCCATTAATAGGTCTTAACCTTTATAGTCTAAATTGGTATC-

-AATGAGGATAAATGATCGCGAGTAAATAATATTCACAATGTACCATTTTAGTCATATCAG-
-TTACTCCTATTTACTAGCGCTCATTATTATAAGTGTTACATGGTAAAATCAGTATAGTC-

-ATAAGCATTGATTAAATATCATTATTGCTTCTACAGGCTTTAATTTTATTAATTATTCGT-
-TATTCGTAACATAATTATAGTAATAACGAAGATGTCCGAAATTAAAAATAATTAATAAGACA-

-AAGTGTCGTCGGCATTTATGTCTTTCATACCCATCTCTTTATCCTTACCTATTGTTTGTC-
-TTCACAGCAGCCGTAAATACAGAAAGTATGGGTAGAGAAATAGGAATGGATAACAAACAG-

-GCAAGTTTTGCGTGTTATATATCATTAACGCGTAATAGATTGACATTTGATTCTAATAA-
-CGTTCAAAACGCACAATATATAGTAATTTTGCCATTATCTAACTGTAAACTAAGATTATT-

-ATTGGATTTTTGTACACTATTATATCGCTTGAAATACAATTGTTTAACATAAGTACCTG-
-TAACCTAAAAACAGTGTGATAATATAGCGAATTTATGTTAACAAATTGTATTCATGGAC-

-TAGGATCGTACAGGTTTACGCAAGAAAATGGTTTGTATAGTCGATTAATCGATTTGATT-
-ATCCTAGCATGTCCAAATGCGTCTTTTACCAACAATATCAGCTAATTAGCTAAACTAA-

-CTAGATTTGTTTTAACTAATTAAAGGAGGAATAACATATGGTTAACGCGTTGGAATTCGA-
-GATCTAAACAAAATTGATTAATTTCCCTCCTTATTGTATACCAATTGCGCAACCTTAAGCT-

SacII

-GCTCACTAGTGTTCGACCTGCAGGTACCATGGAAGCTTACTCGAGGATCCGCGGAAAAGAA-
-CGAGTGATCACAGCTGGACGTCCCATGGTACCTTCGAATGAGCTCCTAGGCGCCTTCTCT-

-GAAGAAGAAGAAGAAAGCCCGAAAGGAAGCTGAGTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATA-
-CTTCTTCTTCTTCTTTCGGGCTTTCCTTCGACTCAACCGACGACGGTGGCGACTCGTTAT-

-ACTAGCATAACCCCTTGGGGCTCTAAACGGGTCTTGAGGGGTTTTTGTCTGAAAGGAGG-
-TGATCGTATTGGGGAACCCCGAGATTGCGCCAGAACTCCCCAAAAACGACTTTCCTCC-

-AACCGCTCTTCACGCTCTTCACGC 3' extremo adherente SacII
-TTGGCGAGAAGTGCGAGAAGTG 5' (position #5904 in pAMG21)

Durante la unión de los extremos adherentes de esta secuencia de ADN de sustitución, los sitios fuera de AatII y SacII son destruidos. Hay sitios de AatII y SacII únicos en el ADN sustituido.

- Un gen que codifica el RANK humano fusionado al extremo N-terminal de Fc se unió a pAMG21 como un fragmento NdeI a BamHI para generar la Cadena Amgen #4125. Esta estructura fue modificada para insertar un codón de valina en la unión de RANK y Fc. Los codones de valina y aspartato adyacentes crean un sitio Sall único. Esto permite la fusión de los péptidos en el extremo N-terminal de Fc3 entre los sitios únicos NdeI y Sall. La secuencia RANK se somete a delección tras la inserción de un nuevo fragmento NdeI-Sall. La secuencia del vector se proporciona en la Figura 5A a 5M.
- GM221 (Amgen #2596"). La cadena hospedadora de Amgen #2596 es una cadena K-12 de E. coli K-12 obtenida de la cadena de Amgen #393, que es un derivado de E. coli W1485 obtenido del E. coli Genetic Stock Center, Universidad de Yale, New Haven, Connecticut (cadena CGSC 6159). Ha sido modificado para contener tanto el represor lambda sensible a la temperatura cl857s7 en la región ebg temprana como el represor lacIQ en la región ebg tardía (68 minutos). La presencia de estos dos genes represores permite el uso de este hospedador en diversos sistemas de expresión, aunque ambos represores son irrelevantes para la expresión desde luxPR. El hospedador no transformado no tiene ninguna resistencia antibiótica.
- El sitio de unión ribosomal del gen cl857s7 ha sido modificado para incluir un RBS potenciado. Ha sido insertado en el operón ebg entre la posición del nucleótido 1170 y 1411 conforme a la numeración del nº de acceso Genbank M64441Gb_Ba con delección de la secuencia ebg interviniente. La secuencia del elemento insertado se muestra a continuación en minúsculas que representan las secuencias ebg que flanquean el elemento insertado mostrado a continuación (SEC. ID. N°: 98):

```
ttatttctgTCGGGCCGACCAATTATCACCGCCAGAGGTAAACTAGTCAACACGCACGGTGTAGATAT
TTATCCCTTTCGGGTGATAGATTGAGCACATCGATTGATTCTAGAAGGAGGGATAATATATGAG
CACAAAAAAGAAACCATTAACACAAGAGCAGCTTGAGGACGCACGTCGCCTTAAAGCAATTTA
TGAAAAAAGAAAAATGAACCTGGCTTATCCCAAGGAATCTGTGCGCAGACAAGATGGGGATGGG
GCAGTCAGGCGTTGGTGCTTTATTTAATGGCATCAATGCATTAAATGCTTATAACGCCGATTGC
TTACAAAAATTCCTCAAAGTTAGCGTTGAAGAATTTAGCCCTTCAATCGCCAGAGAATCTACGAG
ATGTATGAAGCGGTTAGTATGTCAGCCGTCATTAGAAGTGAGTATGAGTACCCTGTTTTTCTCA
TGTTACAGGCAGGGATGTTCTCACTAAGCTTAGAACCTTTACCAAAGGTGATGCGGAGAGATGG
GTAAGCACAAACCAAAAAAGCCAGTGATTCTGCATTCTGGCTTGAGGTTGAAGGTAATTCATGA
CCGCACCAACAGGCTCCAAGCCAAGCTTTCCTGACGGAATGTTAATTCGTTGACCTGAGCA
GGCTGTTGAGCCAGGTGATTCTGCATAGCCAGACTTGGGGGTGATGAGTTACCTTCAAGAAA
CTGATCAGGGATAGCGGTCAGGTGTTTTTACAACCACTAAACCCACAGTACCCAATGATCCCAT
GCAATGAGAGTTGTTCCGTTGTGGGGAAAGTTATCGCTAGTCAGTGGCCTGAAGAGACGTTTGG
CTGATAGACTAGTGGATCCACTAGTgtttgccc
```

- La estructura se administró en el cromosoma utilizando un fago recombinante llamado MMeBg-cl857s7 potenciado RBS #4 en Ftet/393. Tras la recombinación y la resolución solamente el elemento insertado del cromosoma se mantiene en la célula. Fue rebautizado como F'tet/GM101. F'tet/GM101 fue entonces modificado mediante la administración de una estructura lacI^Q en el operón ebg entre la posición del nucleótido 2493 y 2937 conforme a la numeración del número de acceso de Genbank M64441Gb_Ba con la delección de la secuencia ebg interviniente. La secuencia del elemento insertado se muestra a continuación en minúsculas que representan las secuencias ebg que flanquean el elemento insertado (SEC. ID. N°: 99) que se muestra a continuación:

ggcggaaaccGACGTCCATCGAATGGTGCAAAACCTTTTCGCGGTATGGCATGATAGCGCCGGGAAGA
 GAGTCAATTCAGGGTGGTGAATGTGAAACCAGTAACGTTATACGATGTCCAGAGTATGCGGGT
 GTCTCTTATCAGACCGTTTCCCGCGTGGTGAACCAGGCCAGCCACGTTTCTGCGAAAACGCGGG
 AAAAAAGTCGAAGCGGCGATGGCGGAGCTGAATTACATTCCCAACCGCGTGGCACAACAACCTGG
 CGGGCAAAACAGTCGCTCTGATTGGCGTTGCCACCTCCAGTCTGGCCCTGCACGCGCGCTCGCA
 AATTGTGCGGCGGATTAAATCTCGCGCCGATCAACTGGGTGCCAGCGTGGTGGTGTGATGGTA
 GAACGAAGCGGCGTCCGAAGCCTGTAAAGCGCGGTGCACAATCTTCTCGCGCAACGCGTCACTG
 GGCTGATCATTAACCTATCCGCTGGATGACCAGGATGCCATTGCTGTGGAAGCTGCCTGCACTAA
 TGTTCGCGCGTTATTTCTTGATGTCTCTGACCAGACACCCATCAACAGTATTATTTTCTCCCATGA
 AGACGGTACGCGACTGGGCGTGGAGCATCTGGTCCGATTGGGTACCCAGCAAAATCGCGCTGTTA
 GCGGGCCCATTAAGTTCTGTCTCGGCGCGTCTGCGTCTGGCTGGCTGGCATAAATATCTCACTCG
 CAATCAAATTCAGCCGATAGCGGAACGGGAAGGCGACTGGAGTGCCATGTCCGGTTTCAACAA
 ACCATGCAAATGCTGAATGAGGGCATCGTTCCCACTGCGATGCTGGTTGCCAACGATCAGATGG
 CGCTGGGCGCAATGCGCGCCATTACCGAGTCCGGGCTGCGCGTTGGTGGGATATCTCGGTAGT
 GGGATACGACGATACCGAAGACAGCTCATGTTATATCCCGCGTTAACCACCATCAAACAGGAT
 TTTGCGCTGCTGGGGCAAACCAGCGTGGACCGCTTGCTGCAACTCTCTCAGGGGCCAGGCGGTGA

AGGGCAATCAGCTGTTGCCCGTCTCACTGGTGAAAAGAAAAACCACCTGGCGCCCAATACGCA
 AACCGCTCTCCCGCGCGTTGGCCGATTATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGG
 AAAGCGGACAGTAAGGTACCATAGGATCCagggcacagga

La estructura se administró en el cromosoma utilizando un fago recombinante denominado AGebg-LacIQ#5 en F'tet/GM101. Tras la recombinación y resolución solamente el elemento insertado del cromosoma anteriormente descrito se mantiene en la célula. Fue rebautizado como F'tet/GM221. El episoma F'tet se obtuvo de la cadena utilizando naranja de acridina a una concentración de 25 µg/ml en LB. La cadena obtenida se identificó como sensible a la tetraciclina y se almacenó como GM221.

Expresión en *E. coli*. Los cultivos de cada una de las estructuras de fusión pAMG21-Fc en *E. coli* GM221 se cultivaron a 37 °C en un medio de Luria Broth. La inducción de la expresión del producto genético del promotor luxPR se consiguió tras la adición del autoinductor sintético N-(3-oxohexanoil)-DL-homoserina lactona al medio de cultivo a una concentración final de 20 ng/ml. Los cultivos se incubaron a 37 °C durante tres horas más. Después de tres horas, los cultivos bacterianos se examinaron al microscopio para comprobar la presencia de cuerpos de inclusión y se recogieron mediante centrifugado. Se observaron cuerpos de inclusión retráctiles en cultivos inducidos, lo que indica que las fusiones de Fc se produjeron más probablemente en la fracción no soluble de *E. coli*. Los gránulos de las células fueron lisados directamente mediante resuspensión en una solución tampón de Laemmli que contenía 10% de β-mercaptoetanol y se analizaron mediante SDS-PAGE. En cada caso, se observó una intensa banda de tinción de Coomassie del peso molecular apropiado sobre un gel SDS-PAGE.

EJEMPLO 3

El peptidocuerpo TALL-1 inhibe la proliferación de células B mediada por TALL-1

Los linfocitos B de ratón fueron aislados de bazo C57BL/6 mediante selección negativa. (MACS CD43 (Ly-48) Microbeads, Miltenyi Biotec, Auburn, CA). Las células B purificadas (10^5) se cultivaron en MEM, un 10% de FCS inactivado por calor, 5×10^{-5} M 2-mercaptoetanol, 100 U/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomicina por triplicado en placas de cultivo de tejidos de fondo plano de 96 pocillos con 10 ng/ml de proteína TALL-1 y 2 µg/ml de F(ab')₂ de cabra anti IgM de ratón (Jackson ImmunoResearch Laboratory, West Grove, Pennsylvania) con la cantidad indicada del peptidocuerpo TALL-1 recombinante durante un período de cuatro días a 37°C, 5% CO₂. La proliferación se midió por la absorción de timidina radiactiva [³H] tras un período de incubación de 18 horas

EJEMPLO 4

El peptidocuerpo TALL-1 bloquea la unión de TALL-1 a sus receptores

El Reacti-Gel 6x (Pierce) se recubrió previamente con AGP3 humana (también conocida como TALL-1, Khare et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97:3370-3375, 2000) y se bloqueó con BSA. 100 pM y 40 pM de muestras del peptidocuerpo AGP3 se incubaron con diversas concentraciones indicadas de AGP3 humana a temperatura ambiente durante 8 horas, antes de pasar a las perlas recubiertas de AGP3 humana. La cantidad de peptidocuerpo unido a las perlas se cuantificó mediante anticuerpo de cabra anti-Fc humano fluorescente (Cy5) (Jackson Immuno Research). La señal de unión es proporcional a la concentración de peptidocuerpo libre en el equilibrio de unión. La constante del equilibrio de disociación (K_D) se obtuvo de una regresión no lineal de las curvas de competencia, utilizando un modelo de unión homogéneo de doble curva en un sitio (software KinEx™). K_D es de unos 4 pM por peptidocuerpo de AGP3 (SEC. ID. N°: 123) unión con AGP3 humana (Figura 9)

Para determinar si este peptidocuerpo de AGP3 puede neutralizar la unión de AGP3 murina así como de AGP3 humana, se utilizó un ensayo de neutralización de BIAcore. Todos los experimentos se realizaron en un BIAcore 3000 a temperatura ambiente. La proteína humana TACI-Fc (Xia et al., *J. Exp. Med.* 192,137-144, 2000) se inmovilizó en un chip B1, utilizando 10 mM de acetato a un pH de 4.0 hasta un nivel de 2900RU. Se utilizó una célula

de flujo en blanco como control de fondo. Utilizando una solución tampón corriente de PBS (sin calcio ni magnesio) que contenía 0,005% P20, 1 nM de AGP3 humana recombinante (en solución tampón corriente más 0,1 mg/ml de BSA) se incubó sin y con diversas cantidades indicadas de pepticuerpo AGP3 (eje x) antes de su inyección sobre la superficie del receptor. La regeneración se realizó utilizando 8 mM de glicina a un pH de 1.5 durante un minuto, 25 mM de ácido 3-[ciclohexilamino]-1-propanosulfónico (CAPS) a un pH 10.5, 1 M NaCl durante un minuto. Para la determinación de la unión de AGP3 murina, se inmovilizó la TACI humana marcada con his en 1000 RU en la mencionada solución tampón. Se incubaron 5 nM de AGP3 murina recombinante (en solución tampón corriente más 0,1 mg/ml de BSA) sin y con las diversas cantidades indicadas en la Figura 11 de pepticuerpo AGP3 (eje x), antes de la inyección sobre la superficie del receptor. La regeneración se realizó con 10 mM de HCl de pH2, en dos ocasiones durante 30 segundos. Se midió la unión relativa tanto de la AGP3 humana como murina en presencia/ausencia del pepticuerpo AGP3 (SEC. ID. N°: 123) (eje Y). La respuesta de unión relativa se determinó como (RU-RU en blanco)/(RUo-RU en blanco). El pepticuerpo AGP3 (SEC. ID. N°: 123) inhibió tanto la unión de la AGP3 humana como de la murina a su TACI receptor (Figura 10).

Para examinar si este pepticuerpo AGP3 bloquea la unión de AGP3 a los tres receptores (TACI, BCMA y BAFFR), las proteínas TACI, BCMA y BAFFR del receptor soluble recombinante se inmovilizaron en el chip CM5. Utilizando 10 mM de acetato de pH4, se inmovilizó el TACI-Fc humano en 6300 RU, el BCMA-Fc humano en 5000 RU, y el BAFFR-Fc en 6000 RU. 1 nM de AGP3 humana recombinante (en solución tampón corriente con 0,1 mg/ml de BSA y 0,1 mg/ml de heparina) o 1 nM de proteína APRIL recombinante (Yu, et al., Nat. Immunol., 1:252-256, 2000) se incubaron con la cantidad indicada de pepticuerpo de AGP3, antes de la inyección sobre la superficie de cada receptor. La regeneración para el experimento de AGP3 se realizó con 8 mM de glicina de pH 1.5, durante un minuto, seguido de 25 mM de CAPS de pH 10.5, 1M NaCl durante un minuto. La regeneración para el experimento de APRIL se realizó con 8 mM de glicina de pH 2, durante un minuto, seguido de 25 mM de CAPS de pH 10.5, 1M NaCl durante un minuto. Se midió la unión relativa de AGP3 o APRIL. El pepticuerpo de AGP3 (SEC. ID. N° 123) bloqueó la unión de AGP3 a los tres receptores (Figura 11A). El pepticuerpo de AGP3 no afectó a la unión de APRIL a los receptores (Figura 11B).

EJEMPLO 5

El pepticuerpo de AGP3 bloquea la proliferación de células B mediada por AGP3

Los linfocitos B de ratón fueron aislados de bazo C57BL/6 mediante selección negativa. (MACS CD43 (Ly-48) Microbeads, Miltenyi Biotech, Auburn, CA). Las células B purificadas (10^5) se cultivaron en un medio esencial mínimo (MEM), un 10% de suero bovino fetal (FCS) inactivado por calor, 5×10^{-5} M 2-mercaptoetanol, 100 U/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomina) por triplicado en placas de cultivo de fondo plano de 96 pocillos con 10 ng/ml de proteína AGP3 (TALL-1) y 2 µg/ml de F(ab')₂ de cabra anti IgM de ratón (Jackson ImmunoResearch Laboratory, West Grove, Pennsylvania) con la cantidad indicada del pepticuerpo de AGP3 recombinante (SEC. ID. N°: 123) durante un período de cuatro días a 37 °C, 5% CO₂. La proliferación se midió por la absorción de timidina radiactiva [³H] tras un período de incubación de 18 horas.

EJEMPLO 6

Pepticuerpo de AGP3 sobre la producción de Ig estimulada por AGP3 en ratones

Los ratones (hembras Balb/c de 9-14 semanas de edad y 19-21 g de peso) se adquirieron a Charles River Laboratories, Wilmington, MA. Los ratones (n = 10) se trataron intraperitonealmente con 1 mg/Kg de AGP3 humana una vez al día durante cinco días consecutivos, seguido de 5 mg/Kg o 0,5 mg/Kg de pepticuerpo de AGP3 (SEC. ID. N°: 123) o de suero salino o de 5 mg/Kg Fc humano. Otros ratones quedaron sin tratar. Los ratones fueron sacrificados al sexto día para medir la IgM e IgA sérica, donde se midieron mediante un ensayo ELISA. Dicho brevemente, las placas se recubrieron con anticuerpos de captura específicos para IgM o IgA (Southern Biotechnology Associates, Birmingham, AL), se bloquearon, y se añadieron diluciones de muestras estándar (IgM de Calbiochem, San Diego, CA e IgA de Southern Biotechnology Associates) o muestras de prueba. La Ig capturada se reveló utilizando anticuerpos biotinilados específicos para IgM o IgA (Southern Biotechnology Associates), peroxidasa conjugada con neutravidina (Pierce, Rockford, IL), y sustrato de peroxidasa por pocillo (KPL, Gaithersburg, MD) / tetrametilbencidina (TMB). Las densidades ópticas se cuantificaron en un lector de ELISA Thermomax ELISA (Molecular Devices, Menlo Park, CA).

El aumento estimulado por AGP3 humana de los niveles séricos de IgM e IgA se bloqueó mediante 5 mg/Kg del pepticuerpo anti-AGP3 (SEC. ID. N°: 123) y no mediante 0,5mg/Kg (Figuras 12A y 12B).

EJEMPLO 7

El pepticuerpo de AGP3 redujo el número de células B del bazo en ratones

Los ratones (como anteriormente, n = 7) se trataron intraperitonealmente durante siete días consecutivos con 5 mg/Kg o 1,5 mg/Kg o 0,5 mg/Kg del pepticuerpo de AGP3 (SEC. ID. N°: 123) o de suero salino o de 5 mg/Kg Fc humano. Los ratones fueron sacrificados al octavo día para contar el número de células B del bazo. Los bazos se recogieron en suero salino y se manipularon con cuidado mediante homogenización manual para producir la

suspensión de células. El número total de células se obtuvo con un contador HIE (Technicon, Tarrytown, NY). Los porcentajes de células B se obtuvieron mediante tinción doble de inmunofluorescencia y citometría de flujo, utilizando un conjugado de isotiocianato de fluoresceína (FTTC) y un conjugado de ficoeritrina (PE) Ab frente a CD3 y B220, respectivamente (PharMingen, San Diego, CA) y un analizador FACScan (Becton and Dickinson, Mountain View, CA). Las células B se identificaron por ser CD3-B220+. A todas las dosis, el pepticuerpo de AGP3 (SEC. ID. N°: 123) redujo el número de células B en el bazo en forma de respuesta a la dosis (Figuras 12A y 12B) (SEC. ID. N°: 123).

El tratamiento con pepticuerpo de AGP3 redujo el número de células B en ratones. Los ratones Balb/c recibieron siete inyecciones intraperitoneales diariamente de la cantidad indicada de pepticuerpo de AGP3 (SEC. ID. N°: 123) o proteínas Fc humanas. El día 8 recopilamos los bazos y se sometieron a análisis FAC para comprobar la presencia de células B B220+ como se recoge en la Tabla 8.

Tabla 8

AGP3 Pb reduce el número de células B en ratones normales

n=7	dosis (l/dayx7)	Células B bazo (1x10 ⁶)	SD	Test t
salino		51,3	9,6	
Fc	5mg/Kg	45,5	7,1	
pepticuerpo	5mg/Kg	20,1	3,8	1,37856E-05
	1,5mg/Kg	22,6	6,9	5,10194E-05
	0,5mg/Kg	25,8	3,6	0,000111409

EJEMPLO 8**El pepticuerpo AGP3 redujo la gravedad de la artritis en el modelo de ratón CIA**

Los ratones DBA/1 de ocho a doce semanas de edad (obtenidos de Jackson Laboratories, Bar Harbor, ME) fueron inmunizados intradermalmente, en la base de la cola, con colágeno bovino de tipo II (bC II) (adquirido en la Universidad de Utah), emulsionado en adyuvante completo de Freund (Difco). Cada inyección era de 100 µl que contenían 100 µg de bCII. Los ratones recibieron una inmunización de refuerzo tres semanas después de la inmunización inicial con bCII emulsionado en adyuvante incompleto de Freund. El tratamiento comenzó a partir del día de la inmunización de refuerzo durante cuatro semanas. Los ratones fueron examinados para comprobar el desarrollo de la artritis. Como se ha descrito anteriormente (Khare et al., *J. Immunol.* 155:3653-9, 1995), se asignó una puntuación de 0-3 a cada una de las cuatro patas. Por tanto, la gravedad de la artritis podría variar de 0 a 12 en cada animal. El tratamiento con el pepticuerpo de AGP3 (SEC. ID. N°: 123) redujo notablemente la gravedad de las puntuaciones de la artritis (Figura 13).

Se tomaron muestras de suero una semana después del tratamiento final (día 35) para el análisis del nivel de anticuerpo anti-colágeno. Se recubrieron las placas de ELISA de alta unión (Immulon, Nunc) con 50 µl de 4 µg/ml de solución de bCII en solución tampón de carbonato y las placas se mantuvieron en frío durante la noche en el frigorífico. Las placas se lavaron tres veces con agua fría. Se utilizaron 75 µl de solución de bloqueo compuesta por PBS/0.5% Tween 20/1% BSA para bloquear la unión no específica durante una hora. Las muestras se diluyeron (en solución tampón de bloqueo) en placas de dilución a 1:25, 1:100, 1:400, y 1:1600 y 25 µl de estas muestras se añadieron a cada pocillo de la placa ELISA para una dilución final de 100, 400, 1600, y 6400 con un volumen final de 100 µl/pocillo. Tras la incubación a temperatura ambiente durante tres horas, las placas se lavaron tres veces de nuevo. 100 µl del anticuerpo secundario diluidos en solución tampón de bloqueo (IgM de rata anti-ratón, IgG2a, IgG2b, IgG1, IgG3-HRP) se añadieron a cada uno de los pocillos y las placas se incubaron durante al menos dos horas. Las placas se lavaron cuatro veces. 100 µl de solución TMB (Sigma) se añadieron a cada pocillo y la reacción se detuvo utilizando 50 µl de ácido sulfúrico al 25%. Se leyeron las placas utilizando un lector de placas ELISA a 450 nm. Se comparó el OD con un grupo estándar que representa unidades/ml. El tratamiento con el pepticuerpo de AGP3 (SEC. ID. N°: 123) redujo los niveles séricos de IgG1, IgG3, IgG2a e IgG2b anti-colágeno en comparación con los grupos del tratamiento de control con PBS o Fc (Figura 14).

El tratamiento con pepticuerpo de AGP3 redujo el número de células B en ratones. Los ratones Balb/c recibieron siete inyecciones intraperitoneales diariamente de la cantidad indicada de pepticuerpo de AGP3 (SEC. ID. N°: 123) o proteínas Fc humanas. El día 8 se recopilaron los bazos y se sometieron a análisis FAC para comprobar la presencia de células B B220+ como se recoge en la Tabla 8.

Tabla 8

AGP3 Pb reduce el número de células B en ratones normales

n=7	dosis (l/dayx7)	Célula B bazo (lx10e6)	SD	Test t
salino		51,3	9,6	
Fc	5mg/KR	45,5	7,1	
Pepticuerpo	5mg/Kg	20,1	3,8	1,37856E-05
	1,5mg/Kg	22,6	6,9	5,10194E-05
	0,5mg/Kg	25,8	3,6	0,000111409

En la invención que ahora se está describiendo por completo, resultará evidente para una persona con conocimientos en el campo que se pueden introducir numerosos cambios y modificaciones en la misma, sin desviarse de la invención recogida en el presente.

La divulgación se definirá ahora por las siguientes cláusulas

1. Una composición de unión a TALL-1 objeto del presente que comprende una secuencia de aminoácidos Dz^2Lz^4 , donde z^2 es un residuo de aminoácido y z^4 es T o I, y donde la composición objeto del presente no comprende un fragmento de TACI, BCMA ni BAFFR (SEC. ID. N°: 195.196 y 197).

2. La composición objeto de la cláusula 1, donde z^4 es T.

3. Una composición de unión a TALL-1 objeto del presente que comprende una secuencia de aminoácidos Dz^2 , donde z^2 es un residuo de aminoácido.

4. La composición objeto de la cláusula 1 que comprende una secuencia de aminoácido de la fórmula:



donde:

a^1 , a^2 , y a^3 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes.

a^6 es un residuo de aminoácido;

a^8 es T o I;

a^9 es un residuo hidrófobo o básico;

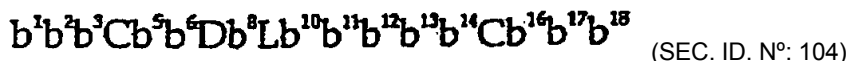
a^{12} es un residuo polar neutro; y

a^{13} y a^{14} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes.

5. La composición objeto de la cláusula 4 donde a^8 es T y a^9 es un residuo básico.

6. La composición objeto de la cláusula 4 donde a^9 es K y a^{12} es F

7. La composición objeto de la cláusula 1 que comprende una secuencia de aminoácido de la fórmula:



donde:

b^1 y b^2 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes;

b^3 es un residuo ácido o amida;

b^5 es un residuo de aminoácido;

b^6 es un residuo aromático;

b^8 es un residuo de aminoácido;

b^{10} es T o I;

b^{11} es un residuo básico;

b^{12} y b^{13} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos;

b^{14} es un residuo polar neutro; y

b^{16} , b^{17} y b^{18} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes.

8. La composición objeto de la cláusula 7 donde:

- 5 b^3 es D, Q, o E;
 b^6 es W o Y;
 b^{10} es T;
 b^{11} es K o R; y
 b^{14} es V o L.

9. La composición objeto de la cláusula 1 que comprende una secuencia de aminoácido de la fórmula:

10 $c^1 c^2 c^3 C c^5 D c^7 L c^9 c^{10} c^{11} c^{12} c^{13} c^{14} C c^{16} c^{17} c^{18}$ (SEC. ID. N°: 105)

donde:

- c^1 , c^2 , y c^3 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes.
 c^5 es un residuo de aminoácido;
 c^7 es un residuo de aminoácido;
15 c^9 es T o I;
 c^{10} es un residuo básico;
 c^{11} y c^{12} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos;
 c^{13} es un residuo polar neutro;
 c^{14} es un residuo de aminoácido;
20 c^{16} es un residuo de aminoácido;
 c^{17} es un residuo polar neutro; y
 c^{18} es un residuo de aminoácido o está ausente.

10. La composición objeto de la cláusula 9 donde:

- c^9 es T;
25 c^{10} es K o R;
 c^{13} es I, L, o V; y
 c^{17} es A o L

11. La composición objeto de la cláusula 1 que comprende una secuencia de aminoácido de la fórmula:

30 $d^1 d^2 d^3 C d^5 d^6 d^7 W D d^{10} L d^{12} d^{13} d^{14} C d^{15} d^{16} d^{17}$ (SEC. ID. N°: 106)

donde:

- d^1 , d^2 , y d^3 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o están ausentes;
 d^5 , d^6 , y d^7 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos;
 d^{10} es un residuo de aminoácido;
 d^{13} es T o I;
35 d^{14} es un residuo de aminoácido; y
 d^{16} , d^{17} y d^{18} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes.

12. La composición objeto de la cláusula 1 que comprende una secuencia de aminoácido de la fórmula:

$e^1 e^2 e^3 C e^5 e^6 e^7 D e^9 L e^{11} K e^{13} e^{14} e^{15} e^{16} e^{17}$ (SEC. ID. N°: 107)

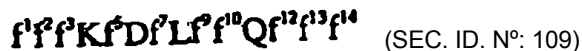
donde:

- 40 e^1 , e^2 , y e^3 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes.
 e^5 , e^6 , e^7 , e^9 , y e^{13} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos;

e^{11} es T o I; y

e^{15} , e^{16} y e^{17} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o están ausentes.

13. La composición objeto de la cláusula 1 que comprende una secuencia de aminoácido de la fórmula:



5 donde:

f^1 , f^2 y f^3 son residuos de aminoácidos o están ausentes:

f^5 es W, Y, o ;

f^7 es un residuo de aminoácido;

f^9 es T o I;

10 f^{10} es K, R, o H;

f^{12} es C, un residuo polar neutro, o un residuo básico (preferiblemente W, C o R);

f^{13} es C, un residuo polar neutro o está ausente; y

f^{14} es cualquier residuo de aminoácido o está ausente;

siempre que solamente uno de f^1 , f^2 , o f^3 , pueda ser C, y solamente uno de f^{12} , f^{13} y f^{14} pueda ser C.

15 14. La composición objeto de la cláusula 13, donde f^5 es W.

15. La composición objeto de la cláusula 13, donde f^7 es L.

16. La composición objeto de la cláusula 13, donde f^9 es T.

17. La composición objeto de la cláusula 13, donde f^{10} es K.

18. La composición objeto de la cláusula 13, donde f^{12} es C y uno de f^1 , f^2 , o f^3 es C.

20 19. La composición objeto de la cláusula 13, donde f^{13} es V.

20. La composición objeto del presente de la cláusula 13 que comprende una secuencia de aminoácido de la fórmula:



25 21. La composición objeto de la cláusula 20 que comprende una secuencia de aminoácido seleccionada del grupo compuesto por SEC. ID. N°: 32,33,58, 60,63,66,67,69,114,115,122,123,124,147-150,152-177,179,180 y 187.

22. La composición objeto del presente de la cláusula 20 que comprende una secuencia de aminoácido de la fórmula:



23. Una composición objeto del presente que comprende una secuencia de aminoácidos de la fórmula:



30

donde:

g^1 , g^2 y g^3 son, cada uno de ellos e independientemente, residuos de aminoácidos o están ausentes;

g^5 es un residuo polar neutro;

g^8 es un residuo polar neutro;

35 g^{10} es un residuo ácido;

g^{12} y g^{13} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos; y

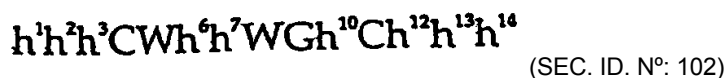
g^{14} es un residuo de aminoácido o está ausente.

24. La composición objeto de la cláusula 23 donde:

g^2 es G;
 g^5 es W;
 g^8 es P;
 g^{10} es E; y

5 g^{13} es un residuo básico;

25. Una composición objeto del presente que comprende una secuencia de aminoácidos de la fórmula:



donde:

h^1 , h^2 y h^3 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes.

10 h^6 es un residuo hidrófobo;

h^7 es un residuo hidrófobo;

h^{10} es un residuo hidrófobo polar o ácido; y

h^{12} , h^{13} , y h^{14} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes.

26. La composición objeto de la cláusula 25 donde:

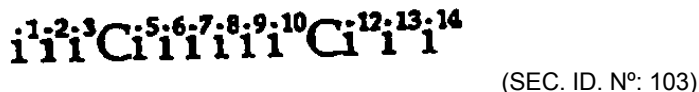
15 h^1 es G;

h^6 es A;

h^7 es un residuo polar neutro; y

h^{10} es un residuo ácido.

27. Una composición objeto del presente que comprende una secuencia de aminoácidos de la fórmula:



20

donde:

i^1 es un residuo de aminoácido o está ausente;

i^2 es un residuo polar neutro;

i^3 es un residuo de aminoácido;

25 i^5 , i^6 , i^7 , y i^8 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos;

i^9 es un residuo ácido;

i^{10} es un residuo de aminoácido;

i^{12} e i^{13} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos; y

i^{14} es un residuo polar neutro.

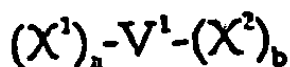
30 28. La composición objeto de la cláusula 27 donde:

i^2 es W; y

i^{14} es W.

29. Un compuesto de unión a TALL-1 objeto del presente que comprende una secuencia de aminoácidos de la fórmula PFPWE (SEC. ID. N°: 110).

35 30. La composición objeto de la cláusula 1 que tiene la siguiente fórmula:



y multímeros de la misma, donde:

V^1 es un vehículo

40 X^1 y X^2 son, cada uno de ellos independientemente, seleccionados de entre $-(L^1)_C-P^1$, $-(L^1)_C-P^1-(L^2)_D-P^2$, $-(L^1)_C-P^1-(L^2)_D-P^2-(L^3)_E-P^3$, and $-(L^1)_C-P^1-(L^2)_D-P^2-(L^3)_E-P^3-(L^4)_F-P^4$

Uno o más de P^1 , P^2 , P^3 y P^4 , cada uno de ellos independientemente, comprenden:

Dz^2Lz^4 ;

L^1 , L^2 , L^3 , y L^4 son, cada uno de ellos independientemente, enlazadores; y

a,b,c,d,e y f son, cada uno de ellos independientemente, 0 o 1, siempre que al menos uno de a o b sea 1.

- 5 31. La composición objeto de la cláusula 30 de la siguiente fórmula:

$$P^1-(L^1)_c-P^2-(L^2)_d-V^1.$$

32. La composición objeto de la cláusula 30 de la siguiente fórmula:

$$V^1-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2.$$

33. La composición objeto de la cláusula 30, donde V^1 es un dominio Fc.

- 10 34. La composición objeto de la cláusula 30, donde V^1 es un dominio Fc de IgG.

35. La composición objeto de la cláusula 30, donde V^1 es un dominio Fc de IgG1.

36. La composición objeto de la cláusula 30, donde V^1 comprende la secuencia de SEC. ID. N°: 2.

37. La composición objeto de la cláusula 30 donde uno o más de P^1 , P^2 , P^3 , y P^4 , cada uno de ellos independientemente, comprende una secuencia seleccionada de:

15

$a^1a^2a^3CDa^6La^8a^9a^{10}Ca^{12}a^{13}a^{14}$ (SEC. ID. N°: 100)

$b^1b^2b^3Cb^5b^6Db^8Lb^{10}b^{11}b^{12}b^{13}b^{14}Cb^{16}b^{17}b^{18}$ (SEC. ID. N°: 104)

$c^1c^2c^3Cc^5Dc^7Lc^9c^{10}c^{11}c^{12}c^{13}c^{14}Cc^{16}c^{17}c^{18}$ (SEC. ID. N°: 105)

$d^1d^2d^3Cd^5d^6d^7WDd^{10}Ld^{13}d^{14}d^{15}Cd^{16}d^{17}d^{18}$ (SEC. ID. N°: 106)

20 $e^1e^2e^3Ce^5e^6e^7De^9Le^{11}Ke^{13}Ce^{15}e^{16}e^{17}e^{18}$ (SEC. ID. N°: 107)

$f^1f^2f^3Kf^5Df^7Lf^9f^{10}Qf^{12}f^{13}f^{14}$ (SEC. ID. N°: 109)

$g^1g^2g^3Cg^5Pfg^8Wg^{10}Cg^{11}g^{12}g^{13}$ (SEC. ID. N°: 101)

$h^1h^2h^3CWh^6h^7Wgh^{10}Ch^{12}h^{13}h^{14}$ (SEC. ID. N°: 102), y

$i^{1,2,3}Ci^{5,6,7,8,9,10}Ci^{12,13,14}$ (SEC. ID. N°: 103)

25 donde:

a^1 , a^2 , y a^3 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes.

a^6 es un residuo de aminoácido;

a^9 es un residuo básico o hidrófobo;

a^8 es treonilo o isoleucilo;

30 a^{12} es un residuo polar neutro; y

a^{13} y a^{14} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes.

b^1 y b^2 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes;

- 5 b^3 es un residuo ácido o amida;
 b^5 es un residuo de aminoácido;
 b^6 es un residuo aromático;
 b^8 es un residuo de aminoácido;
 b^{10} es T o I;
 b^{11} es un residuo básico;
 b^{12} y b^{13} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos;
 b^{14} es un residuo polar neutro; y
 b^{16} , b^{17} y b^{18} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes.
- 10 c^1 , c^2 , y c^3 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes.
 c^5 es un residuo de aminoácido;
 c^7 es un residuo de aminoácido;
 c^9 es T o I;
 c^{10} es un residuo básico;
- 15 c^{11} y c^{12} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos;
 c^{13} es un residuo polar neutro;
 c^{14} es un residuo de aminoácido;
 c^{16} es un residuo de aminoácido;
 c^{17} es un residuo polar neutro; y
- 20 c^{18} es un residuo de aminoácido o está ausente.
 d^1 , d^2 , y d^3 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o están ausentes;
 d^5 , d^6 , y d^7 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos;
 d^{10} es un residuo de aminoácido;
 d^{12} es T o I;
- 25 d^{13} es un residuo de aminoácido; y
 d^{16} , d^{17} y d^{18} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes.
 e^1 , e^2 , y e^3 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes.
 e^5 , e^6 , e^7 , e^9 , y e^{13} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos;
 e^{11} es T o I; y
- 30 e^{15} , e^{16} y e^{17} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes;
 f^1 , f^2 y f^3 son residuos de aminoácidos o ausentes;
 f^5 es W, Y, o F;
 f^7 es un residuo de aminoácido;
 f^9 es T o I;
- 35 f^{10} es K, R, o H;
 f^{12} es C, un residuo polar neutro, o un residuo básico;
 f^{13} es C, un residuo polar neutro o está ausente; y
 f^{14} es cualquier residuo de aminoácido o está ausente;
siempre que solamente uno de f^1 , f^2 , o f^3 , pueda ser C, y solamente uno de f^{12} , f^{13} y f^{14} pueda ser C.
- 40 g^1 , g^2 y g^3 son, cada uno de ellos e independientemente, residuos de aminoácidos o están ausentes;
 g^5 es un residuo polar neutro;
 g^8 es un residuo polar neutro;
 g^{10} es un residuo ácido;
 g^{12} y g^{13} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos; y
- 45 g^{14} es un residuo de aminoácido o está ausente.
 h^1 , h^2 y h^3 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes.

h^6 es un residuo hidrófobo;
 h^7 es un residuo hidrófobo;
 h^{10} es un residuo hidrófobo polar o ácido; y
 h^{12} , h^{13} , y h^{14} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes.

5 i^1 es un residuo de aminoácido o está ausente;
 i^2 es un residuo polar neutro;
 i^3 es un residuo de aminoácido;
 i^5 , i^6 , i^7 , y i^8 son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos;
 i^9 es un residuo ácido;
10 i^{10} es un residuo de aminoácido;
 i^{12} e i^{13} son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos; y
 i^{14} es un residuo polar neutro.

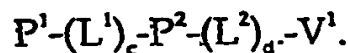
38. La composición objeto de la cláusula 37 donde:

15 a^9 es un residuo básico;
 b^3 es D, Q, o E;
 b^6 es W o Y;
 b^{11} es K o R; y
 b^{14} es V o L.
 c^{10} es K o R;
20 c^{13} es I, L, o V; y
 c^{17} es A o L;
 f^5 es W;
 f^7 es L; f^8 es K; y f^{10} es V.

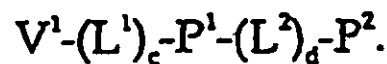
25 39. La composición objeto de la cláusula 37, donde uno o más de P^1 , P^2 , P^3 y P^4 , cada uno de ellos independientemente, comprende:



40. La composición objeto de la Reivindicación 39 de la siguiente fórmula:



41. La composición objeto de la cláusula 39 de la siguiente fórmula:



30 42. La composición objeto de la cláusula 39 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEC. ID. N°: 122, 123 y 124.

43. La composición objeto de la cláusula 40 donde L^2 es mayor de 5 aminoácidos.

44. La composición objeto de la cláusula 43 donde L^2 se selecciona de:

35 **GSGSATGGSGSTASSGSGSAT x^1x^2**
(SEC. ID. N°: 193)

y

GSGSATGGSGSTASSGSGSAT x^1x^2 GSGSATGGSGSTASSGSGSAT x^3x^4
(SEC. ID. N°: 194).

donde x^1 y x^3 son, cada uno de ellos independientemente, residuos básicos o hidrófobos, y x^2 y x^4 son, cada uno de ellos e independientemente, residuos hidrófobos.

45. La composición objeto de la Reivindicación 41 donde L^2 se selecciona de:

GSGSATGGSGSTASSGSGSATH

(SEC. ID. N°: 59).

5 **GSGSATGGSGSTASSGSGSATGM** (SEC. ID. N°: 190).

GSGSATGGSGSTASSGSGSATGS

(SEC. ID. N°: 191) y

GSGSATGGSGSTASSGSGSATHMGSGSATGGSGSTASSGSGSATHM

(SEC. ID. N°: 192).

10 46. La composición objeto de la cláusula 28 que comprende una secuencia seleccionada de la Tabla 2 (SEC. ID. N°: 29-39,30-70, y 126-188).

47. La composición objeto de la cláusula 30 que comprende una secuencia seleccionada de la Tabla 4 (SEC. ID. N°: 44-55).

48. La composición objeto de la cláusula 46, donde V^1 es un dominio Fc.

49. La composición objeto de la cláusula 46, donde V^1 es un dominio Fc de IgG.

15 50. La composición objeto de la cláusula 46, donde V^1 es un dominio Fc de IgG1.

51. Un ADN que codifica una composición objeto de la cláusula. 34.

52. Un vector de expresión que comprende el ADN de la cláusula 51.

53. Una célula hospedadora que comprende el vector de expresión de la cláusula. 52.

54. La célula de la cláusula 53, donde la célula es una célula de E. coli.

20 55. Un método para tratar una enfermedad autoinmune mediada por células B, que comprende la administración de una composición objeto de la cláusula 1.

56. Un método para tratar una enfermedad autoinmune mediada por células B, que comprende la administración de una composición objeto de la cláusula 13.

57. Un método para tratar el lupus, que comprende la administración de una composición objeto de la cláusula 1.

25 58. Un método para tratar el lupus, que comprende la administración de una composición objeto de la cláusula 13

59. Un método para tratar un cáncer mediado por células B, que comprende la administración de una composición objeto de la cláusula

60. Un método para tratar un cáncer mediado por células B, que comprende la administración de una composición objeto de la cláusula 13.

30 61. Un método para tratar el linfoma de células B, que comprende la administración de una composición objeto de la cláusula 1.

62. Un método para tratar el linfoma de células B, que comprende la administración de una composición objeto de la cláusula 13.

35

40

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> AMGEN INC.
 <120> PÉPTIDOS Y MOLÉCULAS RELACIONADAS QUE SE UNEN A TALL-1
 5 <130> A-743 (PCT)
 <140> PCT/US 02/15273
 <141> 2002-05-13
 <150> US 60/290,196
 <151> 2001-05-11
 10 <160> 197
 <170> Patente en versión 3.2
 <210> 1
 <211> 684
 <212> ADN
 15 <213> Homo sapiens

 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(684)

 <400> 1
 atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg 48
 Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 1 5 10 15

 ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc 96
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 20 25 30

 atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc 144
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 35 40 45

 cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag 192
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 50 55 60

 gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc acg 240
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 65 70 75 80

 tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat 288
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 85 90 95

 ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc 336
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 100 105 110

atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag	384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln	
115 120 125	
gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac cag gtc	432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val	
130 135 140	
agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg	480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val	
145 150 155 160	
gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct	528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro	
165 170 175	
ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc	576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr	
180 185 190	
gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg	624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val	
195 200 205	
atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg	672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu	
210 215 220	
tct ccg ggt aaa	684
Ser Pro Gly Lys	
225	

<210> 2

<211> 288

5 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 2

Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1 5 10 15

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
20 25 30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
35 40 45

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
50 55 60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

65		70		75		80									
Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn
				85					90					95	
Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro
			100					105					110		
Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln
		115					120					125			
Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val
	130					135					140				
Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val
145					150					155					160
Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro
				165					170					175	
Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr
			180					185					190		
Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val
		195					200					205			
Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu
	210					215					220				
Ser	Pro	Gly	Lys												
225															

<210> 3

<211> 62

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Fragmento Ndel a Sall

10 <220>

<221> CDS

<222> (2)...(61)

<400> 3

5

```

t atg ccg ggt act tgt ttc ccg ttc ccg tgg gaa tgc act cac gct ggt      49
Met Pro Gly Thr Cys Phe Pro Phe Pro Trp Glu Cys Thr His Ala Gly
1      5      10      15

gga ggc ggt ggg g      62
Gly Gly Gly Gly
      20
    
```

10 <210> 4

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Estructura sintética

<400> 4

```

Met Pro Gly Thr Cys Phe Pro Phe Pro Trp Glu Cys Thr His Ala Gly
1      5      10      15

Gly Gly Gly Gly
      20
    
```

20 <210> 5

<211> 62

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Fragmento NdeI a Sall

<220>

<221> CDS

30 <222> (2)...(61)

<400> 5
t atg tgg ggt gct tgt tgg ccg ttc ccg tgg gaa tgt ttc aaa gaa ggt 49
Met Trp Gly Ala Cys Trp Pro Phe Pro Trp Glu Cys Phe Lys Glu Gly .
1 5 10 15

gga ggc ggt ggg g 62
Gly Gly Gly Gly
20

<210> 6

<211> 20

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Estructura sintética

<400> 6

Met Trp Gly Ala Cys Trp Pro Phe Pro Trp Glu Cys Phe Lys Glu Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly
20

10

<210> 7

<211> 62

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Fragmento NdeI a Sall

<220>

20 <221> CDS

<222> (2)...(61)

<400> 7
t atg gtt ccg ttc tgt gac ctg ctg act aaa cac tgt ttc gaa gct ggt 49
Met Val Pro Phe Cys Asp Leu Leu Thr Lys His Cys Phe Glu Ala Gly
1 5 10 15

gga ggc ggt ggg g 62
Gly Gly Gly Gly
20

<210> 8

<211> 20

25 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Estructura sintética

<400> 8

Met Val Pro Phe Cys Asp Leu Leu Thr Lys His Cys Phe Glu Ala Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly
20

5 <210> 9

<211> 74

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Fragmento NdeI a Sall

<220>

<221> CDS

15 <222> (2)...(73)

<400> 9

t atg ggt tct cgt tgt aaa tac aaa tgg gac gtt ctg act aaa cag tgt 49
Met Gly Ser Arg Cys Lys Tyr Lys Trp Asp Val Leu Thr Lys Gln Cys
1 5 10 15

ttc cac cac ggt gga ggc ggt ggg g 74
Phe His His Gly Gly Gly Gly Gly
20

<210> 10

<211> 24

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Estructura sintética

25

<400> 10

Met Gly Ser Arg Cys Lys Tyr Lys Trp Asp Val Leu Thr Lys Gln Cys
1 5 10 15

Phe His His Gly Gly Gly Gly Gly
20

<210>11

<211> 74

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Fragmento NdeI a Sall

<220>

<221> CDS

<222> (2)...(73)

10

```

<400> 11
t atg ctg ccg ggt tgt aaa tgg gac ctg ctg atc aaa cag tgg gtt tgt 49
Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys
1 5 10 15

gac ccg ctg ggt gga ggc ggt ggg g 74
Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly Gly
20

```

<210> 12

<211> 24

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Estructura sintética

```

<400> 12
Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys
1 5 10 15

Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly Gly
20

```

20

<210> 13

<211> 74

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Fragmento NdeI a Sall

<220>

30 <221> CDS

<222> (2)...(73)

<400> 13
t atg tct gct gac tgt tac ttc gac atc ctg act aaa tct gac gtt tgt 49
Met Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Cys
1 5 10 15

act tct tct ggt gga ggc ggt ggg g 74
Thr Ser Ser Gly Gly Gly Gly Gly
20

<210> 14

<211> 24

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Estructura sintética

<400> 14

Met Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Cys
1 5 10 15

10

Thr Ser Ser Gly Gly Gly Gly Gly
: 20

<210> 15

<211> 74

<212> ADN

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Fragmento NdeI a Sall

20 <220>

<221> CDS

<222> (2)...(73)

<400> 15
t atg tct gac gac tgt atg tac gac cag ctg act cgt atg ttc atc tgt 49
Met Ser Asp Asp Cys Met Tyr Asp Gln Leu Thr Arg Met Phe Ile Cys
1 5 10 15

tct aac ctg ggt gga ggc ggt ggg g 74
Ser Asn Leu Gly Gly Gly Gly Gly
20

<210> 16

25 <211> 24

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Estructura sintética

Met Ser Asp Asp Cys Met Tyr Asp Gln Leu Thr Arg Met Phe Ile Cys
1 5 10 15

Ser Asn Leu Gly Gly Gly Gly Gly
20

5

<210> 17

<211> 76

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Fragmento NdeI a Sall

<220>

15 <221> CDS

<222> (2)...(73)

<400> 17

t atg gac ctg aac tgt aaa tac gac gaa ctg act tac aaa gaa tgg tgt 49
Met Asp Leu Asn Cys Lys Tyr Asp Glu Leu Thr Tyr Lys Glu Trp Cys
1 5 10 15

cag ttc aac ggg gtg gag gcg gtg ggg 76
Gln Phe Asn Gly Val Glu Ala Val
20

<210> 18

20 <211> 24

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Estructura sintética

<400> 18

Met Asp Leu Asn Cys Lys Tyr Asp Glu Leu Thr Tyr Lys Glu Trp Cys
1 5 10 15

Gln Phe Asn Gly Val Glu Ala Val
20

<210> 19

<211> 74

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Fragmento NdeI a Sall

<220>

<221> CDS

<222> (2)...(73)

10

```

<400> 19
t atg ttc cac gac tgt aaa tac gac ctg ctg act cgt cag atg gtt tgt 49
Met Phe His Asp Cys Lys Tyr Asp Leu Leu Thr Arg Gln Met Val Cys
1 5 10 15

cac ggt ctg ggt gga ggc ggt ggg g 74
His Gly Leu Gly Gly Gly Gly Gly
20

```

<210> 20

<211> 24

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Estructura sintética

```

Met Phe His Asp Cys Lys Tyr Asp Leu Leu Thr Arg Gln Met Val Cys
1 5 10 15

His Gly Leu Gly Gly Gly Gly Gly
20

```

20

<210> 21

<211> 74

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Fragmento NdeI a Sall

<220>

30 <221> CDS

<222> (2)...(73)

<400> 21
t atg cgt aac cac tgt ttc tgg gac cac ctg ctg aaa cag gac atc tgt 49
Met Arg Asn His Cys Phe Trp Asp His Leu Leu Lys Gln Asp Ile Cys
1 5 10 15

ccg tct ccg ggt gga ggc ggt ggg g 74
Pro Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly
20

<210> 22

<211> 24

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Estructura sintética

<400> 22

Met Arg Asn His Cys Phe Trp Asp His Leu Leu Lys Gln Asp Ile Cys
1 5 10 15

Pro Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly
20

10 <210> 23

<211> 74

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Fragmento NdeI a Sall

<220>

<221> CDS

20 <222> (2)...(73)

<400> 23
t atg gct aac cag tgt tgg tgg gac tct ctg ctg aaa aaa aac gtt tgt 49
Met Ala Asn Gln Cys Trp Trp Asp Ser Leu Leu Lys Lys Asn Val Cys
1 5 10 15

gaa ttc ttc ggt gga ggc ggt ggg g 74
Glu Phe Phe Gly Gly Gly Gly Gly
20

<210> 24

<211> 24

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Estructura sintética

Met Ala Asn Gln Cys Trp Trp Asp Ser Leu Leu Lys Lys Asn Val Cys
 1 5 10 15
 Glu Phe Phe Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 25

<211> 74

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Fragmento NdeI a Sall

10

<220>

<221> CDS

<222> (2)...(73)

<400> 25
 t atg ttc cac gac tgc aaa tgg gac ctg ctg acc aaa cag tgg gtt tgc 49
 Met Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys
 1 5 10 15
 cac ggt ctg ggt gga ggc ggt ggg g 74

His Gly Leu Gly Gly Gly Gly Gly
 20

15

<210> 26

<211> 24

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Estructura sintética

<400> 26

Met Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys
 1 5 10 15

His Gly Leu Gly Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 27

25 <211> 7285

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Vector pAMG21-Rank-Fc

```

<400>  27
gatcagcagt ccccggaaca tcgtagctga cgccttcgcg ttgctcagtt gtccaacccc      60
ggaaacggga aaaagcaagt tttccccgct cccggcggtt caataactga aaaccatact    120
atctcacagt ttaaatacaca ttaaacgaca gtaatccccg ttgatttggt cgccaacaca    180
gatcttcgtc acaattctca agtcgctgat ttcaaaaaac tgtagtatcc tctgcgaaac    240
gatccctggt tgagtattga ggaggcgaga tgtcgcagac agaaaatgca gtgacttcct    300
cattgagtca aaagcgggtt gtgcgcagag gtaagcctat gactgactct gagaaacaaa    360
tgcccggtgt tgcaagaaaa cgtcttacac acaaagagat aaaagttttt gtcaaaaatc    420
ctctgaagga tctcatgggt gagtactgcg agagagaggg gataacacag gctcagttcg    480
ttgagaaaat catcaaagat gaactgcaaa gactggatat actaaagtaa agactttact    540
ttgtggcgta gcatgctaga ttactgatcg ttaaggaat ttgtggctg gccacgccgt    600
aagggtggcaa ggaactgggt ctgatgtgga ttacaggag ccagaaaagc aaaaaccccg    660
ataatcttct tcaacttttg cgagtacgaa aagattaccg gggccactt aaaccgtata    720
gccacaatt cagctatgcg gggagtatag ttatatgccc ggaaaagttc aagacttctt    780

```

tctgtgctcg ctccttctgc gcattgtaag tgcaggatgg tgtgactgat cttcaccaaa	840
cgtattaccg ccaggtaaag aaccggaatc cgggtgtttac accccgtgaa ggtgcaggaa	900
cgctgaagtt ctgcgaaaaa ctgatggaaa aggcgggtggg cttcacttcc cgttttgatt	960
tcgccattca tgtggcgcac gcccgttcgc gtgatctgcg tcgccgtatg ccaccagtgc	1020
tgcgtcgtcg ggctattgat gcgctcttgc aggggctgtg tttccactat gaccgcgtgg	1080
ccaaccgcgt ccagtgtccc atcaccacgc tggccattga gtgcggactg ggcacggagt	1140
ctgctgccgg aaaactctcc atcaccctgt ccaccctgtc cctgacgttc ctgtcagagc	1200
tgggactgat tacctaccag acggaatatg acccgcttat cgggtgctac attccgaccg	1260
atatcacgtt cacatctgca ctgtttgctg ccctcgatgt atcagaggag gcagtggccg	1320
ccgcgcgccg cagccgtgtg gtatgggaaa acaacaacg caaaaagcag gggctggata	1380
ccctgggcat ggatgaactg atagcgaaag cctggcgttt tgttcgtgag cgttttcgca	1440
gttatcagac agagcttaag tcccgtggaa taaagcgtgc ccgtggcggt cgtgatgcgg	1500
acagggaaacg tcaggatatt gtcaccctgg tgaaacggca gctgacgcgc gaaatcgcg	1560
aagggcgctt cactgccaat cgtgaggcgg taaaacgcga agttgagcgt cgtgtgaagg	1620
agcgcatgat tctgtcacgt aaccgtaatt acagccggct ggccacagct tccccctgaa	1680
agtacctcc tctgaataat ccggcctgcg ccggaggctt ccgcacgtct gaagcccgac	1740
agcgcaaaaa aaatcagcac cacatacaaa aaacaacctc atcatccagc ttctgggtgca	1800
tccggccccc cctgttttctg atacaaaaa cgcctcacag acgggggaatt ttgcttatcc	1860
acattaaact gcaagggact tcccataag gttacaaccg ttcattgcat aaagcgccat	1920
ccgccagcgt tacaggggtg aatgtatctt ttaaaccact gtttatatct cctttaaact	1980
acttaattac attcatttaa aaagaaaacc tattcactgc ctgtccttgg acagacagat	2040
atgcacctcc caccgcaagc ggcgggcccc taccggagcc gctttagtta caaactcag	2100
acacaaccac cagaaaaacc ccggtccagc gcagaactga aaccacaaag cccctccctc	2160
ataactgaaa agcgggcccc ccccggtccg aagggccgga acagagtcgc ttttaattat	2220
gaatgttgta actacttcat catcgctgtc agtcttctcg ctggaagttc tcagtacacg	2280
ctcgtaagcg gccctgacgg cccgctaacg cggagatacg ccccgacttc gggtaaacc	2340
tcgtcgggac cactccgacc gcgcacagaa gctctctcat ggctgaaagc gggatatgtc	2400
tggcagggct ggggatgggt aaggtgaaat ctatcaatca gtaccggctt acgccgggct	2460
tcggcggttt tactcctgtt tcatatatga aacaacaggt caccgccttc catgccgtg	2520

atgcggcata	tcttggtaac	gatattctgaa	ttgttatata	tgtgtatata	cgtggtaatg	2580
acaaaaatag	gacaagttaa	aaattttacag	gcgatgcaat	gattcaaaca	cgtaatcaat	2640
atcggggggtg	ggcgaagaac	tccagcatga	gatccccgcg	ctggaggatc	atccagccgg	2700
cgtccccgaa	aacgattccg	aagcccaacc	tttcatagaa	ggcggcggtg	gaatcgaaat	2760
ctcgtgatgg	caggttgggc	gtcgcttggt	cggtcatttc	gaaccccaga	gtcccgtca	2820
gaagaactcg	tcaagaaggc	gatagaaggc	gatgcgctgc	gaatcgggag	cggcgatacc	2880
gtaaagcacg	aggaagcggg	cagcccattc	gccgccaaagc	tcttcagcaa	tatcacgggt	2940
agccaacgct	atgtcctgat	agcgggtccgc	cacaccacgc	cggccacagt	cgatgaatcc	3000
agaaaagcgg	ccattttcca	ccatgatatt	cggcaagcag	gcatcgccat	gagtcacgac	3060
gagatcctcg	ccgtcgggca	tgcgcgcctt	gagcctggcg	aacagttcgg	ctggcgcgag	3120
cccctgatgc	tcttcgtcca	gatcatcctg	atcgacaaga	ccggcttcca	tccgagtacg	3180
tgctcgcctg	atgcgatggt	tcgcttggtg	gtcgaatggg	caggtagccg	gatcaagcgt	3240
atgcagccgc	cgcattgcat	cagccatgat	ggatactttc	tgggcaggag	caaggtgaga	3300
tgacaggaga	tcttgccccg	gcacttcgcc	caatagcagc	cagtcccttc	ccgcttcagt	3360
gacaacgtcg	agcacagctg	cgcaaggaac	gcccgtcgtg	gccagccacg	atagccgcgc	3420
tgcctcgtcc	tgcaattcat	tcaggacacc	ggacaggctg	gtcttgacaa	aaagaaccgg	3480
gcgcccctgc	gctgacagcc	ggaacacggc	ggcatcagag	cagccgattg	tctgttgtgc	3540
ccagtcatag	ccgaatagcc	tctccaccca	agcggccgga	gaacctgcgt	gcaatccatc	3600
ttgttcaatc	atgcgaaacg	atcctcatcc	tgtctcttga	tctgatcttg	atccccctgcg	3660
ccatcagatc	cttggcggca	agaaagccat	ccagtttact	ttgcagggtt	tcccaacctt	3720
accagagggc	gccccagctg	gcaattccgg	ttcgcttgct	gtccataaaa	ccgcccagtc	3780
tagctatcgc	catgtaagcc	cactgcaagc	tacctgcttt	ctctttgcgc	ttgcgttttc	3840
cctgtgccag	atagcccagt	agctgacatt	catccggggg	cagcaccgtt	tctgcggact	3900
ggctttctac	gtgttccgct	tccttttagca	gcccttgccg	cctgagtgtt	tgcggcagcg	3960
tgaagctaca	tatatgtgat	ccgggcaa	cgctgaatat	tccttttgtc	tccgaccatc	4020
aggcacctga	gtcgctgtct	ttttcgtgac	attcagttcg	ctgcgctcac	ggctctggca	4080
gtgaatgggg	gtaaatggca	ctacaggcgc	cttttatgga	ttcatgcaag	gaaactaccc	4140
ataatacaag	aaaagcccg	cacgggcttc	tcagggcgtt	ttatggcggg	tctgctatgt	4200

ggtgctatct gactttttgc tgttcagcag ttcctgccct ctgattttcc agtctgacca 4260
 cttcggatta tcccgtagaca ggtcattcag actggctaata gcacccagta aggcagcggc 4320
 atcatcaaca ggcttaccgc tcttactgtc gaagacgtgc gtaacgtatg catggctctc 4380
 ccatgcgaga gtagggaact gccaggcatc aaataaaacg aaaggctcag tcgaaagact 4440
 gggcctttcg ttttatctgt tgtttgtcgg tgaacgctct cctgagtagg acaaattccg 4500
 cgggagcggg tttgaacgtt gcgaagcaac ggcccgagg gtggcgggca ggacgccgc 4560
 cataaactgc caggcatcaa attaagcaga aggccatcct gacggatggc ctttttgcgt 4620
 ttctacaaac tcttttgttt atttttctaa atacattcaa atatggacgt cgtacttaac 4680
 ttttaaagta tgggcaatca attgctcctg ttaaaattgc tttagaaata ctttggcagc 4740
 ggtttgttgt attgagtttc atttgcgcat tggtaaattg gaaagtgacc gtgcgcttac 4800
 tacagcctaa tatttttgaa atatcccaag agctttttcc ttcgcatgcc cacgctaaac 4860
 attctttttc tcttttgggt aaatcggtgt ttgatttatt atttgcataa tttatttttc 4920
 gataattatc aactagagaa ggaacaatta atggtatggt catcacgca tgtaaaaata 4980
 aactatctat atagttgtct ttctctgaat gtgcaaaact aagcattccg aagccattat 5040
 tagcagtatg aatagggaaa ctaaaccag tgataagacc tgatgatttc gcttctttaa 5100
 ttacatttgg agatttttta ttacagcat tgttttcaaa tatattcaa ttaatcgggtg 5160
 aatgattgga gttagaataa tctactatag gatcatattt tattaaatta gcgtcatcat 5220
 aatattgcct ccatttttta gggttaattat ccagaattga aatatcagat ttaaccatag 5280
 aatgaggata aatgatcgcg agtaaataat attcacaatg taccatttta gtcatatcag 5340
 ataagcattg attaatatca ttattgcttc tacaggcttt aattttatta attattctgt 5400
 aagtgtcgtc ggcatttatg tctttcatac ccattctttt atccttacct attgtttgtc 5460
 gcaagttttg cgtgttatat atcattaaaa cggtaataga ttgacatttg attctaataa 5520
 attggatttt tgtcacacta ttatatcgct tgaatacaa ttgtttaaca taagtacctg 5580
 taggatcgta caggtttacg caagaaaatg gtttggtata gtcgattaat cgatttgatt 5640
 ctagatttgt ttaactaat taaaggagga ataacatatg atcgctccac catgcaccag 5700
 tgagaagcat tatgagcatc tgggacggtg ctgtaacaaa tgtgaaccag gaaagtacat 5760
 gtcttctaaa tgcactacta cctctgacag tgtatgtctg ccctgtggcc cgatgaata 5820
 cttggatagc tggaaatgaag aagataaatg cttgctgcat aaagtttgtg atacaggcaa 5880
 ggccttggtg gccgtggtcg ccggcaacag tacgacccc cggegtgctg cgtgcacggc 5940

tgggtaccac tggagccagg actgcgagtg ctgccgccgc aacaccgagt gcgcgccggg	6000
cctggggcgcc cagcaccctgt tgcagctcaa caaggacaca gtgtgcaaac cttgccttgc	6060
aggctacttc tctgatgcct tttcctccac ggacaaatgc agaccctgga ccaactgtac	6120
cttccttggg aagagagtag aacatcatgg gacagagaaa tccgatgtgg tttgcagttc	6180
ttctctgccg gctagaaaac caccaaataa accccatgtt tacgtcgaca aaactcacac	6240
atgtccacct tgtccagctc cggaactcct gggggggaccg tcagtcttcc tcttcccccc	6300
aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccttgag gtcacatgag tgggtggtgga	6360
cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca	6420
taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt	6480
cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa	6540
caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggc agccccgaga	6600
accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg accaagaacc aggtcagcct	6660
gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc gtggagtggg agagcaatgg	6720
gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg gactccgacg gctccttctt	6780
cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag caggggaacg tcttctcatg	6840
ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagagcctct ccctgtctcc	6900
gggtaaataa tggatccgcg gaaagaagaa gaagaagaag aaagcccgaa aggaagctga	6960
gttggtgctg gccaccgctg agcaataact agcataaacc cttggggcct ctaaaccgggt	7020
cttgaggggt tttttgctga aaggaggaac cgctcttcac gctcttcacg cggataaata	7080
agtaacgata cggtcagta atgacctcag aactccatct ggatttggtc agaacgctcg	7140
gttgccgccg ggcgtttttt attggtgaga atcgcagcaa cttgtcgcgc caatcgagcc	7200
atgtcgtcgt caacgacccc ccattcaaga acagcaagca gcattgagaa ctttggaatc	7260
cagtcctctt tccacctgct gaccg	7285

<210> 28

<211> 7285

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Vector pAMG21-Rank-Fc

<220>

<221> misc_feature

<223> Xaa (Pos, 1,2,3,15,16,17) son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes;
Xaa (Pos 5,6,7,9,13) son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos.

<400> 28

Gly Ala Thr Cys Ala Gly Cys Ala Gly Thr Cys Cys Cys Cys Gly Gly
1 5 10 15

Ala Ala Cys Ala Thr Cys Gly Thr Ala Gly Cys Thr Gly Ala Cys Gly
20 25 30

Cys Cys Thr Thr Cys Gly Cys Gly Thr Thr Gly Cys Thr Cys Ala Gly
35 40 45

Thr Thr Gly Thr Cys Cys Ala Ala Cys Cys Cys Cys Gly Gly Ala Ala
50 55 60

Ala Cys Gly Gly Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Cys Ala Ala Gly Thr
65 70 75 80

Thr Thr Thr Cys Cys Cys Cys Gly Cys Thr Cys Cys Cys Gly Gly Cys
85 90 95

Gly Thr Thr Thr Cys Ala Ala Thr Ala Ala Cys Thr Gly Ala Ala Ala
100 105 110

Ala Cys Cys Ala Thr Ala Cys Thr Ala Thr Thr Thr Cys Ala Cys Ala
115 120 125

Gly Thr Thr Thr Ala Ala Ala Thr Cys Ala Cys Ala Thr Thr Ala Ala
130 135 140

Ala Cys Gly Ala Cys Ala Gly Thr Ala Ala Thr Cys Cys Cys Cys Gly
145 150 155 160

Thr Thr Gly Ala Thr Thr Thr Gly Thr Gly Cys Gly Cys Cys Ala Ala
165 170 175

Cys Ala Cys Ala Gly Ala Thr Cys Thr Thr Cys Gly Thr Cys Ala Cys
180 185 190

Ala Ala Thr Thr Cys Thr Cys Ala Ala Gly Thr Cys Gly Cys Thr Gly

195	200	205
Ala Thr Thr Thr Cys Ala Ala Ala Ala Ala Ala Cys Thr Gly Thr Ala 210 215 220		
Gly Thr Ala Thr Cys Cys Thr Cys Thr Gly Cys Gly Ala Ala Ala Cys 225 230 235 240		
Gly Ala Thr Cys Cys Cys Thr Gly Thr Thr Thr Gly Ala Gly Thr Ala 245 250 255		
Thr Thr Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Cys Gly Ala Gly Ala Thr Gly 260 265 270		
Thr Cys Gly Cys Ala Gly Ala Cys Ala Gly Ala Ala Ala Ala Thr Gly 275 280 285		
Cys Ala Gly Thr Gly Ala Cys Thr Thr Cys Cys Thr Cys Ala Thr Thr 290 295 300		
Gly Ala Gly Thr Cys Ala Ala Ala Ala Gly Cys Gly Gly Thr Thr Thr 305 310 315 320		
Gly Thr Gly Cys Gly Cys Ala Gly Ala Gly Gly Thr Ala Ala Gly Cys 325 330 335		
Cys Thr Ala Thr Gly Ala Cys Thr Gly Ala Cys Thr Cys Thr Gly Ala 340 345 350		
Gly Ala Ala Ala Cys Ala Ala Ala Thr Gly Gly Cys Cys Gly Thr Thr 355 360 365		
Gly Thr Thr Gly Cys Ala Ala Gly Ala Ala Ala Cys Gly Thr Cys 370 375 380		
Thr Thr Ala Cys Ala Cys Ala Cys Ala Ala Ala Gly Ala Gly Ala Thr 385 390 395 400		
Ala Ala Ala Ala Gly Thr Thr Thr Thr Thr Gly Thr Cys Ala Ala Ala 405 410 415		
Ala Ala Thr Cys Cys Thr Cys Thr Gly Ala Ala Gly Gly Ala Thr Cys 420 425 430		

Thr Cys Ala Thr Gly Gly Thr Thr Gly Ala Gly Thr Ala Cys Thr Gly
435 440 445

Cys Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Thr Ala
450 455 460

Ala Cys Ala Cys Ala Gly Gly Cys Thr Cys Ala Gly Thr Thr Cys Gly
465 470 475 480

Thr Thr Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Thr Cys Ala Thr Cys Ala Ala
485 490 495

Ala Gly Ala Thr Gly Ala Ala Cys Thr Gly Cys Ala Ala Ala Gly Ala
500 505 510

Cys Thr Gly Gly Ala Thr Ala Thr Ala Cys Thr Ala Ala Ala Gly Thr
515 520 525

Ala Ala Ala Gly Ala Cys Thr Thr Thr Ala Cys Thr Thr Thr Gly Thr
530 535 540

Gly Gly Cys Gly Thr Ala Gly Cys Ala Thr Gly Cys Thr Ala Gly Ala
545 550 555 560

Thr Thr Ala Cys Thr Gly Ala Thr Cys Gly Thr Thr Thr Ala Ala Gly
565 570 575

Gly Ala Ala Thr Thr Thr Thr Gly Thr Gly Gly Cys Thr Gly Gly Cys
580 585 590

Cys Ala Cys Gly Cys Cys Gly Thr Ala Ala Gly Gly Thr Gly Gly Cys
595 600 605

Ala Ala Gly Gly Ala Ala Cys Thr Gly Gly Thr Thr Cys Thr Gly Ala
610 615 620

Thr Gly Thr Gly Gly Ala Thr Thr Thr Ala Cys Ala Gly Gly Ala Gly
625 630 635 640

Cys Cys Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Cys Ala Ala Ala Ala Ala Cys
645 650 655

Cys Cys Cys Gly Ala Thr Ala Ala Thr Cys Thr Thr Cys Thr Thr Cys
660 .665 670

Ala Ala Cys Thr Thr Thr Thr Gly Cys Gly Ala Gly Thr Ala Cys Gly
675 680 685

Ala Ala Ala Ala Gly Ala Thr Thr Ala Cys Cys Gly Gly Gly Gly Cys
690 695 700

Cys Cys Ala Cys Thr Thr Ala Ala Ala Cys Cys Gly Thr Ala Thr Ala
705 710 715 720

Gly Cys Cys Ala Ala Cys Ala Ala Thr Thr Cys Ala Gly Cys Thr Ala
725 730 735

Thr Gly Cys Gly Gly Gly Gly Ala Gly Thr Ala Thr Ala Gly Thr Thr
740 745 750

Ala Thr Ala Thr Gly Cys Cys Cys Gly Gly Ala Ala Ala Ala Gly Thr
755 760 765

Thr Cys Ala Ala Gly Ala Cys Thr Thr Cys Thr Thr Thr Cys Thr Gly
770 775 780

Thr Gly Cys Thr Cys Gly Cys Thr Cys Cys Thr Thr Cys Thr Gly Cys
785 790 795 800

Gly Cys Ala Thr Thr Gly Thr Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ala Gly Gly
805 810 815

Ala Thr Gly Gly Thr Gly Thr Gly Ala Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr
820 825 830

Thr Cys Ala Cys Cys Ala Ala Ala Cys Gly Thr Ala Thr Thr Ala Cys
835 840 845

Cys Gly Cys Cys Ala Gly Gly Thr Ala Ala Ala Gly Ala Ala Cys Cys
850 855 860

Cys Gly Ala Ala Thr Cys Cys Gly Gly Thr Gly Thr Thr Thr Ala Cys
865 870 875 880

Ala Cys Cys Cys Cys Gly Thr Gly Ala Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala
885 890 895

Gly Gly Ala Ala Cys Gly Cys Thr Gly Ala Ala Gly Thr Thr Cys Thr
900 905 910

Gly Cys Gly Ala Ala Ala Ala Cys Thr Gly Ala Thr Gly Gly Ala
915 920 925

Ala Ala Ala Gly Gly Cys Gly Gly Thr Gly Gly Gly Cys Thr Thr Cys
930 935 940

Ala Cys Thr Thr Cys Cys Cys Gly Thr Thr Thr Thr Gly Ala Thr Thr
945 950 955 960

Thr Cys Gly Cys Cys Ala Thr Thr Cys Ala Thr Gly Thr Gly Gly Cys
965 970 975

Gly Cys Ala Cys Gly Cys Cys Cys Gly Thr Thr Cys Gly Cys Gly Thr
980 985 990

Gly Ala Thr Cys Thr Gly Cys Gly Thr Cys Gly Cys Cys Gly Thr Ala
995 1000 1005

Thr Gly Cys Cys Ala Cys Cys Ala Gly Thr Gly Cys Thr Gly Cys
1010 1015 1020

Gly Thr Cys Gly Thr Cys Gly Gly Gly Cys Thr Ala Thr Thr Gly
1025 1030 1035

Ala Thr Gly Cys Gly Cys Thr Cys Thr Thr Gly Cys Ala Gly Gly
1040 1045 1050

Gly Gly Cys Thr Gly Thr Gly Thr Thr Thr Cys Cys Ala Cys Thr
1055 1060 1065

Ala Thr Gly Ala Cys Cys Cys Gly Cys Thr Gly Gly Cys Cys Ala
1070 1075 1080

Ala Cys Cys Gly Cys Gly Thr Cys Cys Ala Gly Thr Gly Cys Thr
1085 1090 1095

Cys Cys Ala Thr Cys Ala Cys Cys Ala Cys Gly Cys Thr Gly Gly

1100		1105		1110
Cys Cys Ala Thr Thr Gly Ala Gly Thr Gly Cys Gly Gly Ala Cys				
1115		1120		1125
Thr Gly Gly Cys Gly Ala Cys Gly Gly Ala Gly Thr Cys Thr Gly				
1130		1135		1140
Cys Thr Gly Cys Cys Gly Gly Ala Ala Ala Ala Cys Thr Cys Thr				
1145		1150		1155
Cys Cys Ala Thr Cys Ala Cys Cys Cys Gly Thr Gly Cys Cys Ala				
1160		1165		1170
Cys Cys Cys Gly Thr Gly Cys Cys Cys Thr Gly Ala Cys Gly Thr				
1175		1180		1185
Thr Cys Cys Thr Gly Thr Cys Ala Gly Ala Gly Cys Thr Gly Gly				
1190		1195		1200
Gly Ala Cys Thr Gly Ala Thr Thr Ala Cys Cys Thr Ala Cys Cys				
1205		1210		1215
Ala Gly Ala Cys Gly Gly Ala Ala Thr Ala Thr Gly Ala Cys Cys				
1220		1225		1230
Cys Gly Cys Thr Thr Ala Thr Cys Gly Gly Gly Thr Gly Cys Thr				
1235		1240		1245
Ala Cys Ala Thr Thr Cys Cys Gly Ala Cys Cys Gly Ala Thr Ala				
1250		1255		1260
Thr Cys Ala Cys Gly Thr Thr Cys Ala Cys Ala Thr Cys Thr Gly				
1265		1270		1275
Cys Ala Cys Thr Gly Thr Thr Thr Gly Cys Thr Gly Cys Cys Cys				
1280		1285		1290
Thr Cys Gly Ala Thr Gly Thr Ala Thr Cys Ala Gly Ala Gly Gly				
1295		1300		1305
Ala Gly Gly Cys Ala Gly Thr Gly Gly Cys Cys Gly Cys Cys Gly				
1310		1315		1320

Cys Gly 1325	Cys Gly Cys Cys Gly 1330	Cys Ala Gly Cys Cys Gly Thr Gly 1335
Thr Gly 1340	Gly Thr Ala Thr Gly 1345	Gly Gly Ala Ala Ala Ala Cys Ala 1350
Ala Ala 1355	Cys Ala Ala Cys Gly 1360	Cys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Cys 1365
Ala Gly 1370	Gly Gly Gly Cys Thr 1375	Gly Gly Ala Thr Ala Cys Cys Cys 1380
Thr Gly 1385	Gly Gly Cys Ala Thr 1390	Gly Gly Ala Thr Gly Ala Ala Cys 1395
Thr Gly 1400	Ala Thr Ala Gly Cys 1405	Gly Ala Ala Ala Gly Cys Cys Thr 1410
Gly Gly 1415	Cys Gly Thr Thr Thr 1420	Thr Gly Thr Thr Cys Gly Thr Gly 1425
Ala Gly 1430	Cys Gly Thr Thr Thr 1435	Thr Cys Gly Cys Ala Gly Thr Thr 1440
Ala Thr 1445	Cys Ala Gly Ala Cys 1450	Ala Gly Ala Gly Cys Thr Thr Ala 1455
Ala Gly 1460	Thr Cys Cys Cys Gly 1465	Thr Gly Gly Ala Ala Thr Ala Ala 1470
Ala Gly 1475	Cys Gly Thr Gly Cys 1480	Cys Cys Gly Thr Gly Cys Gly Cys 1485
Gly Thr 1490	Cys Gly Thr Gly Ala 1495	Thr Gly Cys Gly Gly Ala Cys Ala 1500
Gly Gly 1505	Gly Ala Ala Cys Gly 1510	Thr Cys Ala Gly Gly Ala Thr Ala 1515
Thr Thr 1520	Gly Thr Cys Ala Cys 1525	Cys Cys Thr Gly Gly Thr Gly Ala 1530

Ala Ala	Cys Gly Gly Cys	Ala	Gly Cys Thr	Gly Ala	Cys Gly Cys
1535		1540		1545	
Gly Cys	Gly Ala Ala Ala	Thr	Cys Gly Cys Gly	Gly	Ala Ala Gly
1550		1555		1560	
Gly Gly	Cys Gly Cys Thr	Thr	Cys Ala Cys Thr	Gly	Cys Cys Ala
1565		1570		1575	
Ala Thr	Cys Gly Thr Gly	Ala	Gly Gly Cys Gly	Gly	Thr Ala Ala
1580		1585		1590	
Ala Ala	Cys Gly Cys Gly	Ala	Ala Gly Thr Thr	Gly	Ala Gly Cys
1595		1600		1605	
Gly Thr	Cys Gly Thr Gly	Thr	Gly Ala Ala Gly	Gly	Ala Gly Cys
1610		1615		1620	
Gly Cys	Ala Thr Gly Ala	Thr	Thr Cys Thr Gly	Thr	Cys Ala Cys
1625		1630		1635	
Gly Thr	Ala Ala Cys Cys	Gly	Thr Ala Ala Thr	Thr	Ala Cys Ala
1640		1645		1650	
Gly Cys	Cys Gly Gly Cys	Thr	Gly Gly Cys Cys	Ala	Cys Ala Gly
1655		1660		1665	
Cys Thr	Thr Cys Cys Cys	Cys	Cys Thr Gly Ala	Ala	Ala Gly Thr
1670		1675		1680	
Gly Ala	Cys Cys Thr Cys	Cys	Thr Cys Thr Gly	Ala	Ala Thr Ala
1685		1690		1695	
Ala Thr	Cys Cys Gly Gly	Cys	Cys Thr Gly Cys	Gly	Cys Cys Gly
1700		1705		1710	
Gly Ala	Gly Gly Cys Thr	Thr	Cys Cys Gly Cys	Ala	Cys Gly Thr
1715		1720		1725	
Cys Thr	Gly Ala Ala Gly	Cys	Cys Cys Gly Ala	Cys	Ala Gly Cys
1730		1735		1740	

Gly Cys 1745	Ala Cys Ala Ala Ala	Ala Ala Ala Thr Cys 1750	Ala Gly Cys 1755
Ala Cys 1760	Cys Ala Cys Ala Thr	Ala Cys Ala Ala Ala 1765	Ala Ala Ala 1770
Cys Ala 1775	Ala Cys Cys Thr Cys	Ala Thr Cys Ala Thr 1780	Cys Cys Ala 1785
Gly Cys 1790	Thr Thr Cys Thr Gly	Gly Thr Gly Cys Ala 1795	Thr Cys Cys 1800
Gly Gly 1805	Cys Cys Cys Cys Cys	Cys Cys Thr Gly Thr 1810	Thr Thr Thr 1815
Cys Gly 1820	Ala Thr Ala Cys Ala	Ala Ala Ala Cys Ala 1825	Cys Gly Cys 1830
Cys Thr 1835	Cys Ala Cys Ala Gly	Ala Cys Gly Gly Gly 1840	Gly Ala Ala 1845
Thr Thr 1850	Thr Thr Gly Cys Thr	Thr Ala Thr Cys Cys 1855	Ala Cys Ala 1860
Thr Thr 1865	Ala Ala Ala Cys Thr	Gly Cys Ala Ala Gly 1870	Gly Gly Ala 1875
Cys Thr 1880	Thr Cys Cys Cys Cys	Ala Thr Ala Ala Gly 1885	Gly Thr Thr 1890
Ala Cys 1895	Ala Ala Cys Cys Gly	Thr Thr Cys Ala Thr 1900	Gly Thr Cys 1905
Ala Thr 1910	Ala Ala Ala Gly Cys	Gly Cys Cys Ala Thr 1915	Cys Cys Gly 1920
Cys Cys 1925	Ala Gly Cys Gly Thr	Thr Ala Cys Ala Gly 1930	Gly Gly Thr 1935
Gly Cys 1940	Ala Ala Thr Gly Thr	Ala Thr Cys Thr Thr 1945	Thr Thr Ala 1950
Ala Ala	Cys Ala Cys Cys Thr	Gly Thr Thr Thr Ala	Thr Ala Thr

1955	1960	1965
Cys Thr 1970	Cys Cys Thr Thr Thr 1975	Ala Ala Ala Cys Thr 1980
Thr Ala 1985	Ala Thr Thr Cys 1990	Ala Cys Thr 1995
Ala Ala 2000	Ala Ala Ala Gly Ala 2005	Cys Cys Thr Ala Thr 2010
Thr Cys 2015	Ala Cys Thr Gly Cys 2020	Cys Thr Gly Thr Cys 2025
Gly Gly 2030	Ala Cys Ala Gly Ala 2035	Thr Ala Thr Gly 2040
Cys Ala 2045	Cys Cys Thr Cys Cys 2050	Gly Cys Ala Ala 2055
Gly Cys 2060	Gly Gly Cys Gly Gly 2065	Cys Cys Cys Cys Cys 2070
Cys Gly 2075	Gly Ala Gly Cys Cys 2080	Gly Cys Thr Thr Thr 2085
Thr Ala 2090	Cys Ala Ala Cys Ala 2095	Cys Thr Cys Ala Gly 2100
Cys Ala 2105	Ala Cys Cys Ala Cys 2110	Cys Ala Gly Ala Ala 2115
Cys Cys 2120	Cys Cys Gly Gly Thr 2125	Cys Cys Ala Gly Cys 2130
Gly Ala 2135	Ala Cys Thr Gly Ala 2140	Ala Ala Cys Cys Ala 2145
Ala Gly 2150	Cys Cys Cys Cys Thr 2155	Cys Cys Cys Thr Cys 2160
Ala Cys 2165	Thr Gly Ala Ala Ala 2170	Gly Cys Cys Cys 2175

Cys Gly 2180	Cys Cys Cys Cys Gly 2185	Gly Thr Cys Cys Gly 2190	Ala Ala Gly
Gly Gly 2195	Cys Cys Gly Gly Ala 2200	Ala Cys Ala Gly Ala 2205	Gly Thr Cys
Gly Cys 2210	Thr Thr Thr Thr Ala 2215	Ala Thr Thr Ala Thr 2220	Gly Ala Ala
Thr Gly 2225	Thr Thr Gly Thr Ala 2230	Ala Cys Thr Ala Cys 2235	Thr Thr Cys
Ala Thr 2240	Cys Ala Thr Cys Gly 2245	Cys Thr Gly Thr Cys 2250	Ala Gly Thr
Cys Thr 2255	Thr Cys Thr Cys Gly 2260	Cys Thr Gly Gly Ala 2265	Ala Gly Thr
Thr Cys 2270	Thr Cys Ala Gly Thr 2275	Ala Cys Ala Cys Gly 2280	Cys Thr Cys
Gly Thr 2285	Ala Ala Gly Cys Gly 2290	Gly Cys Cys Cys Thr 2295	Gly Ala Cys
Gly Gly 2300	Cys Cys Cys Gly Cys 2305	Thr Ala Ala Cys Gly 2310	Cys Gly Gly
Ala Gly 2315	Ala Thr Ala Cys Gly 2320	Cys Cys Cys Cys Gly 2325	Ala Cys Thr
Thr Cys 2330	Gly Gly Gly Thr Ala 2335	Ala Ala Cys Cys Cys 2340	Thr Cys Gly
Thr Cys 2345	Gly Gly Gly Ala Cys 2350	Cys Ala Cys Thr Cys 2355	Cys Gly Ala
Cys Cys 2360	Gly Cys Gly Cys Ala 2365	Cys Ala Gly Ala Ala 2370	Gly Cys Thr
Cys Thr 2375	Cys Thr Cys Ala Thr 2380	Gly Gly Cys Thr Gly 2385	Ala Ala Ala

Gly Cys 2390	Gly Gly Gly Thr	Ala 2395	Thr Gly Gly Thr	Cys 2400	Thr Gly Gly
Cys Ala 2405	Gly Gly Gly Cys	Thr 2410	Gly Gly Gly Gly	Ala 2415	Thr Gly Gly
Gly Thr 2420	Ala Ala Gly Gly	Thr 2425	Gly Ala Ala Ala	Thr 2430	Cys Thr Ala
Thr Cys 2435	Ala Ala Thr Cys	Ala 2440	Gly Thr Ala Cys	Cys 2445	Gly Gly Cys
Thr Thr 2450	Ala Cys Gly Cys	Cys 2455	Gly Gly Gly Cys	Thr 2460	Thr Cys Gly
Gly Cys 2465	Gly Gly Thr Thr	Thr 2470	Thr Ala Cys Thr	Cys 2475	Cys Thr Gly
Thr Thr 2480	Thr Cys Ala Thr	Ala 2485	Thr Ala Thr Gly	Ala 2490	Ala Ala Cys
Ala Ala 2495	Cys Ala Gly Gly	Thr 2500	Cys Ala Cys Cys	Gly 2505	Cys Cys Thr
Thr Cys 2510	Cys Ala Thr Gly	Cys 2515	Cys Gly Cys Thr	Gly 2520	Ala Thr Gly
Cys Gly 2525	Gly Cys Ala Thr	Ala 2530	Thr Cys Cys Thr	Gly 2535	Gly Thr Ala
Ala Cys 2540	Gly Ala Thr Ala	Thr 2545	Cys Thr Gly Ala	Ala 2550	Thr Thr Gly
Thr Thr 2555	Ala Thr Ala Cys	Ala 2560	Thr Gly Thr Gly	Thr 2565	Ala Thr Ala
Thr Ala 2570	Cys Gly Thr Gly	Gly 2575	Thr Ala Ala Thr	Gly 2580	Ala Cys Ala
Ala Ala 2585	Ala Ala Thr Ala	Gly 2590	Gly Ala Cys Ala	Ala 2595	Gly Thr Thr

Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Thr	Thr	Thr	Ala	Cys	Ala	Gly	Gly	Cys	Gly
2600						2605					2610			
Ala	Thr	Gly	Cys	Ala	Ala	Thr	Gly	Ala	Thr	Thr	Cys	Ala	Ala	Ala
2615						2620					2625			
Cys	Ala	Cys	Gly	Thr	Ala	Ala	Thr	Cys	Ala	Ala	Thr	Ala	Thr	Cys
2630						2635					2640			
Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Thr	Gly	Gly	Gly	Cys	Gly	Ala	Ala	Gly	Ala
2645						2650					2655			
Ala	Cys	Thr	Cys	Cys	Ala	Gly	Cys	Ala	Thr	Gly	Ala	Gly	Ala	Thr
2660						2665					2670			
Cys	Cys	Cys	Cys	Gly	Cys	Gly	Cys	Thr	Gly	Gly	Ala	Gly	Gly	Ala
2675						2680					2685			
Thr	Cys	Ala	Thr	Cys	Cys	Ala	Gly	Cys	Cys	Gly	Gly	Cys	Gly	Thr
2690						2695					2700			
Cys	Cys	Cys	Gly	Gly	Ala	Ala	Ala	Ala	Cys	Gly	Ala	Thr	Thr	Cys
2705						2710					2715			
Cys	Gly	Ala	Ala	Gly	Cys	Cys	Cys	Ala	Ala	Cys	Cys	Thr	Thr	Thr
2720						2725					2730			
Cys	Ala	Thr	Ala	Gly	Ala	Ala	Gly	Gly	Cys	Gly	Gly	Cys	Gly	Gly
2735						2740					2745			
Thr	Gly	Gly	Ala	Ala	Thr	Cys	Gly	Ala	Ala	Ala	Thr	Cys	Thr	Cys
2750						2755					2760			
Gly	Thr	Gly	Ala	Thr	Gly	Gly	Cys	Ala	Gly	Gly	Thr	Thr	Gly	Gly
2765						2770					2775			
Gly	Cys	Gly	Thr	Cys	Gly	Cys	Thr	Thr	Gly	Gly	Thr	Cys	Gly	Gly
2780						2785					2790			
Thr	Cys	Ala	Thr	Thr	Thr	Cys	Gly	Ala	Ala	Cys	Cys	Cys	Cys	Ala
2795						2800					2805			
Gly	Ala	Gly	Thr	Cys	Cys	Cys	Gly	Cys	Thr	Cys	Ala	Gly	Ala	Ala

2810	2815	2820
Gly Ala Ala Cys Thr Cys Gly Thr Cys Ala Ala Gly Ala Ala Gly		
2825	2830	2835
Gly Cys Gly Ala Thr Ala Gly Ala Ala Gly Gly Cys Gly Ala Thr		
2840	2845	2850
Gly Cys Gly Cys Thr Gly Cys Gly Ala Ala Thr Cys Gly Gly Gly		
2855	2860	2865
Ala Gly Cys Gly Gly Cys Gly Ala Thr Ala Cys Cys Gly Thr Ala		
2870	2875	2880
Ala Ala Gly Cys Ala Cys Gly Ala Gly Gly Ala Ala Gly Cys Gly		
2885	2890	2895
Gly Thr Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Thr Thr Cys Gly Cys Cys		
2900	2905	2910
Gly Cys Cys Ala Ala Gly Cys Thr Cys Thr Thr Cys Ala Gly Cys		
2915	2920	2925
Ala Ala Thr Ala Thr Cys Ala Cys Gly Gly Gly Thr Ala Gly Cys		
2930	2935	2940
Cys Ala Ala Cys Gly Cys Thr Ala Thr Gly Thr Cys Cys Thr Gly		
2945	2950	2955
Ala Thr Ala Gly Cys Gly Gly Thr Cys Cys Gly Cys Cys Ala Cys		
2960	2965	2970
Ala Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Gly Gly Cys Cys Ala Cys Ala		
2975	2980	2985
Gly Thr Cys Gly Ala Thr Gly Ala Ala Thr Cys Cys Ala Gly Ala		
2990	2995	3000
Ala Ala Ala Gly Cys Gly Gly Cys Cys Ala Thr Thr Thr Thr Cys		
3005	3010	3015
Cys Ala Cys Cys Ala Thr Gly Ala Thr Ala Thr Thr Cys Gly Gly		
3020	3025	3030

Cys Ala	Ala Gly Cys Ala Gly	Gly Cys Ala Thr Cys	Gly Cys Cys
3035		3040	3045
Ala Thr	Gly Ala Gly Thr Cys	Ala Cys Gly Ala Cys	Gly Ala Gly
3050		3055	3060
Ala Thr	Cys Cys Thr Cys Gly	Cys Cys Gly Thr Cys	Gly Gly Gly
3065		3070	3075
Cys Ala	Thr Gly Cys Gly Cys	Gly Cys Cys Thr Thr	Gly Ala Gly
3080		3085	3090
Cys Cys	Thr Gly Gly Cys Gly	Ala Ala Cys Ala Gly	Thr Thr Cys
3095		3100	3105
Gly Gly	Cys Thr Gly Gly Cys	Gly Cys Gly Ala Gly	Cys Cys Cys
3110		3115	3120
Cys Thr	Gly Ala Thr Gly Cys	Thr Cys Thr Thr Cys	Gly Thr Cys
3125		3130	3135
Cys Ala	Gly Ala Thr Cys Ala	Thr Cys Cys Thr Gly	Ala Thr Cys
3140		3145	3150
Gly Ala	Cys Ala Ala Gly Ala	Cys Cys Gly Gly Cys	Thr Thr Cys
3155		3160	3165
Cys Ala	Thr Cys Cys Gly Ala	Gly Thr Ala Cys Gly	Thr Gly Cys
3170		3175	3180
Thr Cys	Gly Cys Thr Cys Gly	Ala Thr Gly Cys Gly	Ala Thr Gly
3185		3190	3195
Thr Thr	Thr Cys Gly Cys Thr	Thr Gly Gly Thr Gly	Gly Thr Cys
3200		3205	3210
Gly Ala	Ala Thr Gly Gly Gly	Cys Ala Gly Gly Thr	Ala Gly Cys
3215		3220	3225
Cys Gly	Gly Ala Thr Cys Ala	Ala Gly Cys Gly Thr	Ala Thr Gly
3230		3235	3240

Cys Ala Gly Cys Cys Gly Cys Cys Gly Cys Ala Thr Thr Gly Cys
 3245 3250 3255
 Ala Thr Cys Ala Gly Cys Cys Ala Thr Gly Ala Thr Gly Gly Ala
 3260 3265 3270
 Thr Ala Cys Thr Thr Thr Cys Thr Cys Gly Gly Cys Ala Gly Gly
 3275 3280 3285
 Ala Gly Cys Ala Ala Gly Gly Thr Gly Ala Gly Ala Thr Gly Ala
 3290 3295 3300
 Cys Ala Gly Gly Ala Gly Ala Thr Cys Cys Thr Gly Cys Cys Cys
 3305 3310 3315
 Cys Gly Gly Cys Ala Cys Thr Thr Cys Gly Cys Cys Cys Ala Ala
 3320 3325 3330
 Thr Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Ala Gly Thr Cys Cys Cys Thr
 3335 3340 3345
 Thr Cys Cys Cys Gly Cys Thr Thr Cys Ala Gly Thr Gly Ala Cys
 3350 3355 3360
 Ala Ala Cys Gly Thr Cys Gly Ala Gly Cys Ala Cys Ala Gly Cys
 3365 3370 3375
 Thr Gly Cys Gly Cys Ala Ala Gly Gly Ala Ala Cys Gly Cys Cys
 3380 3385 3390
 Cys Gly Thr Cys Gly Thr Gly Gly Cys Cys Ala Gly Cys Cys Ala
 3395 3400 3405
 Cys Gly Ala Thr Ala Gly Cys Cys Gly Cys Gly Cys Thr Gly Cys
 3410 3415 3420
 Cys Thr Cys Gly Thr Cys Cys Thr Gly Cys Ala Ala Thr Thr Cys
 3425 3430 3435
 Ala Thr Thr Cys Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Gly Gly Ala
 3440 3445 3450

Cys Ala Gly Gly Thr Cys Gly Gly Thr Cys Thr Thr Gly Ala Cys
 3455 3460 3465
 Ala Ala Ala Ala Ala Gly Ala Ala Cys Cys Gly Gly Gly Cys Gly
 3470 3475 3480
 Cys Cys Cys Cys Thr Gly Cys Gly Cys Thr Gly Ala Cys Ala Gly
 3485 3490 3495
 Cys Cys Gly Gly Ala Ala Cys Ala Cys Gly Gly Cys Gly Gly Cys
 3500 3505 3510
 Ala Thr Cys Ala Gly Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Gly Ala Thr
 3515 3520 3525
 Thr Gly Thr Cys Thr Gly Thr Thr Gly Thr Gly Cys Cys Cys Ala
 3530 3535 3540
 Gly Thr Cys Ala Thr Ala Gly Cys Cys Gly Ala Ala Thr Ala Gly
 3545 3550 3555
 Cys Cys Thr Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys Cys Ala Ala Gly Cys
 3560 3565 3570
 Gly Gly Cys Cys Gly Gly Ala Gly Ala Ala Cys Cys Thr Gly Cys
 3575 3580 3585
 Gly Thr Gly Cys Ala Ala Thr Cys Cys Ala Thr Cys Thr Thr Gly
 3590 3595 3600
 Thr Thr Cys Ala Ala Thr Cys Ala Thr Gly Cys Gly Ala Ala Ala
 3605 3610 3615
 Cys Gly Ala Thr Cys Cys Thr Cys Ala Thr Cys Cys Thr Gly Thr
 3620 3625 3630
 Cys Thr Cys Thr Thr Gly Ala Thr Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr
 3635 3640 3645
 Thr Gly Ala Thr Cys Cys Cys Cys Thr Gly Cys Gly Cys Cys Ala
 3650 3655 3660
 Thr Cys Ala Gly Ala Thr Cys Cys Thr Thr Gly Gly Cys Gly Gly

3665	3670	3675
Cys Ala Ala Gly Ala Ala Ala Gly Cys Cys Ala Thr Cys Cys Ala		
3680	3685	3690
Gly Thr Thr Thr Ala Cys Thr Thr Thr Gly Cys Ala Gly Gly Gly		
3695	3700	3705
Cys Thr Thr Cys Cys Cys Ala Ala Cys Cys Thr Thr Ala Cys Cys		
3710	3715	3720
Ala Gly Ala Gly Gly Gly Cys Gly Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys		
3725	3730	3735
Thr Gly Gly Cys Ala Ala Thr Thr Cys Cys Gly Gly Thr Thr Cys		
3740	3745	3750
Gly Cys Thr Thr Gly Cys Thr Gly Thr Cys Cys Ala Thr Ala Ala		
3755	3760	3765
Ala Ala Cys Cys Gly Cys Cys Cys Ala Gly Thr Cys Thr Ala Gly		
3770	3775	3780
Cys Thr Ala Thr Cys Gly Cys Cys Cys Ala Thr Gly Thr Ala Ala Gly		
3785	3790	3795
Cys Cys Cys Ala Cys Thr Gly Cys Ala Ala Gly Cys Thr Ala Cys		
3800	3805	3810
Cys Thr Gly Cys Thr Thr Thr Cys Thr Cys Thr Thr Thr Gly Cys		
3815	3820	3825
Gly Cys Thr Thr Gly Cys Gly Thr Thr Thr Thr Cys Cys Cys Thr		
3830	3835	3840
Thr Gly Thr Cys Cys Ala Gly Ala Thr Ala Gly Cys Cys Cys Ala		
3845	3850	3855
Gly Thr Ala Gly Cys Thr Gly Ala Cys Ala Thr Thr Cys Ala Thr		
3860	3865	3870
Cys Cys Gly Gly Gly Gly Thr Cys Ala Gly Cys Ala Cys Cys Gly		
3875	3880	3885

Thr Thr	Thr Cys Thr Gly Cys	Gly Gly Ala Cys Thr	Gly Gly Cys
3890	3895	3900	
Thr Thr	Thr Cys Thr Ala Cys	Gly Thr Gly Thr Thr	Cys Cys Gly
3905	3910	3915	
Cys Thr	Thr Cys Cys Thr Thr	Thr Ala Gly Cys Ala	Gly Cys Cys
3920	3925	3930	
Cys Thr	Thr Gly Cys Gly Cys	Cys Cys Thr Gly Ala	Gly Thr Gly
3935	3940	3945	
Cys Thr	Thr Gly Cys Gly Gly	Cys Ala Gly Cys Gly	Thr Gly Ala
3950	3955	3960	
Ala Gly	Cys Thr Ala Cys Ala	Thr Ala Thr Ala Thr	Gly Thr Gly
3965	3970	3975	
Ala Thr	Cys Cys Gly Gly Gly	Cys Ala Ala Ala Thr	Cys Gly Cys
3980	3985	3990	
Thr Gly	Ala Ala Thr Ala Thr	Thr Cys Cys Thr Thr	Thr Thr Gly
3995	4000	4005	
Thr Cys	Thr Cys Cys Gly Ala	Cys Cys Ala Thr Cys	Ala Gly Gly
4010	4015	4020	
Cys Ala	Cys Cys Thr Gly Ala	Gly Thr Cys Gly Cys	Thr Gly Thr
4025	4030	4035	
Cys Thr	Thr Thr Thr Thr Cys	Gly Thr Gly Ala Cys	Ala Thr Thr
4040	4045	4050	
Cys Ala	Gly Thr Thr Cys Gly	Cys Thr Gly Cys Gly	Cys Thr Cys
4055	4060	4065	
Ala Cys	Gly Gly Cys Thr Cys	Thr Gly Gly Cys Ala	Gly Thr Gly
4070	4075	4080	
Ala Ala	Thr Gly Gly Gly Gly	Gly Thr Ala Ala Ala	Thr Gly Gly
4085	4090	4095	

Cys Ala	Cys Thr	Ala Cys	Ala	Gly Gly	Cys Gly	Cys	Cys Thr	Thr
4100				4105			4110	
Thr Thr	Ala Thr	Gly Gly	Ala	Thr Thr	Cys Ala	Thr	Gly Cys	Ala
4115			4120				4125	
Ala Gly	Gly Ala	Ala Ala	Cys	Thr Ala	Cys Cys	Cys	Ala Thr	Ala
4130			4135				4140	
Ala Thr	Ala Cys	Ala Ala	Gly	Ala Ala	Ala Ala	Gly	Cys Cys	Cys
4145			4150				4155	
Gly Thr	Cys Ala	Cys Gly	Gly	Gly Cys	Thr Thr	Cys	Thr Cys	Ala
4160			4165				4170	
Gly Gly	Gly Cys	Gly Thr	Thr	Thr Thr	Ala Thr	Gly	Gly Cys	Gly
4175			4180				4185	
Gly Gly	Thr Cys	Thr Gly	Cys	Thr Ala	Thr Gly	Thr	Gly Gly	Thr
4190			4195				4200	
Gly Cys	Thr Ala	Thr Cys	Thr	Gly Ala	Cys Thr	Thr	Thr Thr	Thr
4205			4210				4215	
Gly Cys	Thr Gly	Thr Thr	Cys	Ala Gly	Cys Ala	Gly	Thr Thr	Cys
4220			4225				4230	
Cys Thr	Gly Cys	Cys Cys	Thr	Cys Thr	Gly Ala	Thr	Thr Thr	Thr
4235			4240				4245	
Cys Cys	Ala Gly	Thr Cys	Thr	Gly Ala	Cys Cys	Ala	Cys Thr	Thr
4250			4255				4260	
Cys Gly	Gly Ala	Thr Thr	Ala	Thr Cys	Cys Cys	Gly	Thr Gly	Ala
4265			4270				4275	
Cys Ala	Gly Gly	Thr Cys	Ala	Thr Thr	Cys Ala	Gly	Ala Cys	Thr
4280			4285				4290	
Gly Gly	Cys Thr	Ala Ala	Thr	Gly Cys	Ala Cys	Cys	Cys Ala	Gly
4295			4300				4305	

Thr Ala Ala Gly Gly Cys Ala Gly Cys Gly Gly Thr Ala Thr Cys
 4310 4315 4320
 Ala Thr Cys Ala Ala Cys Ala Gly Gly Cys Thr Thr Ala Cys Cys
 4325 4330 4335
 Cys Gly Thr Cys Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr Cys Gly Ala Ala
 4340 4345 4350
 Gly Ala Cys Gly Thr Gly Cys Gly Thr Ala Ala Cys Gly Thr Ala
 4355 4360 4365
 Thr Gly Cys Ala Thr Gly Gly Thr Cys Thr Cys Cys Cys Cys Ala
 4370 4375 4380
 Thr Gly Cys Gly Ala Gly Ala Gly Thr Ala Gly Gly Gly Ala Ala
 4385 4390 4395
 Cys Thr Gly Cys Cys Ala Gly Gly Cys Ala Thr Cys Ala Ala Ala
 4400 4405 4410
 Thr Ala Ala Ala Ala Cys Gly Ala Ala Ala Gly Gly Cys Thr Cys
 4415 4420 4425
 Ala Gly Thr Cys Gly Ala Ala Ala Gly Ala Cys Thr Gly Gly Gly
 4430 4435 4440
 Cys Cys Thr Thr Thr Cys Gly Thr Thr Thr Thr Ala Thr Cys Thr
 4445 4450 4455
 Gly Thr Thr Gly Thr Thr Thr Gly Thr Cys Gly Gly Thr Gly Ala
 4460 4465 4470
 Ala Cys Gly Cys Thr Cys Thr Cys Cys Thr Gly Ala Gly Thr Ala
 4475 4480 4485
 Gly Gly Ala Cys Ala Ala Ala Thr Cys Cys Gly Cys Cys Gly Gly
 4490 4495 4500
 Gly Ala Gly Cys Gly Gly Ala Thr Thr Thr Gly Ala Ala Cys Gly
 4505 4510 4515
 Thr Thr Gly Cys Gly Ala Ala Gly Cys Ala Ala Cys Gly Gly Cys

4520	4525	4530
Cys Cys Gly Gly Ala Gly Gly	Gly Thr Gly Gly Cys	Gly Gly Gly
4535	4540	4545
Cys Ala Gly Gly Ala Cys Gly	Cys Cys Cys Gly Cys	Cys Ala Thr
4550	4555	4560
Ala Ala Ala Cys Thr Gly Cys	Cys Ala Gly Gly Cys	Ala Thr Cys
4565	4570	4575
Ala Ala Ala Thr Thr Ala Ala	Gly Cys Ala Gly Ala	Ala Gly Gly
4580	4585	4590
Cys Cys Ala Thr Cys Cys Thr	Gly Ala Cys Gly Gly	Ala Thr Gly
4595	4600	4605
Gly Cys Cys Thr Thr Thr Thr	Thr Gly Cys Gly Thr	Thr Thr Cys
4610	4615	4620
Thr Ala Cys Ala Ala Ala Cys	Thr Cys Thr Thr Thr	Thr Gly Thr
4625	4630	4635
Thr Thr Ala Thr Thr Thr Thr	Thr Cys Thr Ala Ala	Ala Thr Ala
4640	4645	4650
Cys Ala Thr Thr Cys Ala Ala	Ala Thr Ala Thr Gly	Gly Ala Cys
4655	4660	4665
Gly Thr Cys Gly Thr Ala Cys	Thr Thr Ala Ala Cys	Thr Thr Thr
4670	4675	4680
Thr Ala Ala Ala Gly Thr Ala	Thr Gly Gly Gly Cys	Ala Ala Thr
4685	4690	4695
Cys Ala Ala Thr Thr Gly Cys	Thr Cys Cys Thr Gly	Thr Thr Ala
4700	4705	4710
Ala Ala Ala Thr Thr Gly Cys	Thr Thr Thr Ala Gly	Ala Ala Ala
4715	4720	4725
Thr Ala Cys Thr Thr Thr Gly	Gly Cys Ala Gly Cys	Gly Gly Thr
4730	4735	4740

Thr	Thr	Gly	Thr	Thr	Gly	Thr	Ala	Thr	Thr	Gly	Ala	Gly	Thr	Thr
4745						4750					4755			
Thr	Cys	Ala	Thr	Thr	Thr	Gly	Cys	Gly	Cys	Ala	Thr	Thr	Gly	Gly
4760						4765					4770			
Thr	Thr	Ala	Ala	Ala	Thr	Gly	Gly	Ala	Ala	Ala	Gly	Thr	Gly	Ala
4775						4780					4785			
Cys	Cys	Gly	Thr	Gly	Cys	Gly	Cys	Thr	Thr	Ala	Cys	Thr	Ala	Cys
4790						4795					4800			
Ala	Gly	Cys	Cys	Thr	Ala	Ala	Thr	Ala	Thr	Thr	Thr	Thr	Thr	Gly
4805						4810					4815			
Ala	Ala	Ala	Thr	Ala	Thr	Cys	Cys	Cys	Ala	Ala	Gly	Ala	Gly	Cys
4820						4825					4830			
Thr	Thr	Thr	Thr	Thr	Cys	Cys	Thr	Thr	Cys	Gly	Cys	Ala	Thr	Gly
4835						4840					4845			
Cys	Cys	Cys	Ala	Cys	Gly	Cys	Thr	Ala	Ala	Ala	Cys	Ala	Thr	Thr
4850						4855					4860			
Cys	Thr	Thr	Thr	Thr	Thr	Cys	Thr	Cys	Thr	Thr	Thr	Thr	Gly	Gly
4865						4870					4875			
Thr	Thr	Ala	Ala	Ala	Thr	Cys	Gly	Thr	Thr	Gly	Thr	Thr	Thr	Gly
4880						4885					4890			
Ala	Thr	Thr	Thr	Ala	Thr	Thr	Ala	Thr	Thr	Thr	Gly	Cys	Thr	Ala
4895						4900					4905			
Thr	Ala	Thr	Thr	Thr	Ala	Thr	Thr	Thr	Thr	Thr	Cys	Gly	Ala	Thr
4910						4915					4920			
Ala	Ala	Thr	Thr	Ala	Thr	Cys	Ala	Ala	Cys	Thr	Ala	Gly	Ala	Gly
4925						4930					4935			
Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Ala	Cys	Ala	Ala	Thr	Thr	Ala	Ala	Thr	Gly
4940						4945					4950			

Gly Thr 4955	Ala Thr Gly Thr Thr	Cys Ala Thr Ala Cys	Ala Cys Gly 4965
Cys Ala 4970	Thr Gly Thr Ala Ala	Ala Ala Ala Thr Ala	Ala Ala Cys 4980
Thr Ala 4985	Thr Cys Thr Ala Thr	Ala Thr Ala Gly Thr	Thr Gly Thr 4995
Cys Thr 5000	Thr Thr Cys Thr Cys	Thr Gly Ala Ala Thr	Gly Thr Gly 5010
Cys Ala 5015	Ala Ala Ala Cys Thr	Ala Ala Gly Cys Ala	Thr Thr Cys 5025
Cys Gly 5030	Ala Ala Gly Cys Cys	Ala Thr Thr Ala Thr	Thr Ala Gly 5040
Cys Ala 5045	Gly Thr Ala Thr Gly	Ala Ala Thr Ala Gly	Gly Gly Ala 5055
Ala Ala 5060	Cys Thr Ala Ala Ala	Cys Cys Cys Ala Gly	Thr Gly Ala 5070
Thr Ala 5075	Ala Gly Ala Cys Cys	Thr Gly Ala Thr Gly	Ala Thr Thr 5085
Thr Cys 5090	Gly Cys Thr Thr Cys	Thr Thr Thr Ala Ala	Thr Thr Ala 5100
Cys Ala 5105	Thr Thr Thr Gly Gly	Ala Gly Ala Thr Thr	Thr Thr Thr 5115
Thr Ala 5120	Thr Thr Thr Ala Cys	Ala Gly Cys Ala Thr	Thr Gly Thr 5130
Thr Thr 5135	Thr Cys Ala Ala Ala	Thr Ala Thr Ala Thr	Thr Cys Cys 5145
Ala Ala 5150	Thr Thr Ala Ala Thr	Cys Gly Gly Thr Gly	Ala Ala Thr 5160

Gly	Ala	Thr	Thr	Gly	Gly	Ala	Gly	Thr	Thr	Ala	Gly	Ala	Ala	Thr
5165							5170				5175			
Ala	Ala	Thr	Cys	Thr	Ala	Cys	Thr	Ala	Thr	Ala	Gly	Gly	Ala	Thr
5180						5185					5190			
Cys	Ala	Thr	Ala	Thr	Thr	Thr	Thr	Ala	Thr	Thr	Ala	Ala	Ala	Thr
5195						5200					5205			
Thr	Ala	Gly	Cys	Gly	Thr	Cys	Ala	Thr	Cys	Ala	Thr	Ala	Ala	Thr
5210						5215					5220			
Ala	Thr	Thr	Gly	Cys	Cys	Thr	Cys	Cys	Ala	Thr	Thr	Thr	Thr	Thr
5225						5230					5235			
Thr	Ala	Gly	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Thr	Thr	Ala	Thr	Cys	Cys	Ala
5240						5245					5250			
Gly	Ala	Ala	Thr	Thr	Gly	Ala	Ala	Ala	Thr	Ala	Thr	Cys	Ala	Gly
5255						5260					5265			
Ala	Thr	Thr	Thr	Ala	Ala	Cys	Cys	Ala	Thr	Ala	Gly	Ala	Ala	Thr
5270						5275					5280			
Gly	Ala	Gly	Gly	Ala	Thr	Ala	Ala	Ala	Thr	Gly	Ala	Thr	Cys	Gly
5285						5290					5295			
Cys	Gly	Ala	Gly	Thr	Ala	Ala	Ala	Thr	Ala	Ala	Thr	Ala	Thr	Thr
5300						5305					5310			
Cys	Ala	Cys	Ala	Ala	Thr	Gly	Thr	Ala	Cys	Cys	Ala	Thr	Thr	Thr
5315						5320					5325			
Thr	Ala	Gly	Thr	Cys	Ala	Thr	Ala	Thr	Cys	Ala	Gly	Ala	Thr	Ala
5330						5335					5340			
Ala	Gly	Cys	Ala	Thr	Thr	Gly	Ala	Thr	Thr	Ala	Ala	Thr	Ala	Thr
5345						5350					5355			
Cys	Ala	Thr	Thr	Ala	Thr	Thr	Gly	Cys	Thr	Thr	Cys	Thr	Ala	Cys
5360						5365					5370			
Ala	Gly	Gly	Cys	Thr	Thr	Thr	Ala	Ala	Thr	Thr	Thr	Thr	Ala	Thr

5375		5380		5385
Thr Ala	Ala Thr Thr Ala	Thr	Thr Cys Thr Gly	Thr Ala Ala Gly
5390		5395		5400
Thr Gly	Thr Cys Gly Thr	Cys	Gly Gly Cys Ala	Thr Thr Thr Ala
5405		5410		5415
Thr Gly	Thr Cys Thr Thr	Thr	Cys Ala Thr Ala	Cys Cys Cys Ala
5420		5425		5430
Thr Cys	Thr Cys Thr Thr	Thr	Ala Thr Cys Cys	Thr Thr Ala Cys
5435		5440		5445
Cys Thr	Ala Thr Thr Gly	Thr	Thr Thr Gly Thr	Cys Gly Cys Ala
5450		5455		5460
Ala Gly	Thr Thr Thr Thr	Gly	Cys Gly Thr Gly	Thr Thr Ala Thr
5465		5470		5475
Ala Thr	Ala Thr Cys Ala	Thr	Thr Ala Ala Ala	Ala Cys Gly Gly
5480		5485		5490
Thr Ala	Ala Thr Ala Gly	Ala	Thr Thr Gly Ala	Cys Ala Thr Thr
5495		5500		5505
Thr Gly	Ala Thr Thr Cys	Thr	Ala Ala Thr Ala	Ala Ala Thr Thr
5510		5515		5520
Gly Gly	Ala Thr Thr Thr	Thr	Thr Gly Thr Cys	Ala Cys Ala Cys
5525		5530		5535
Thr Ala	Thr Thr Ala Thr	Ala	Thr Cys Gly Cys	Thr Thr Gly Ala
5540		5545		5550
Ala Ala	Thr Ala Cys Ala	Ala	Thr Thr Gly Thr	Thr Thr Ala Ala
5555		5560		5565
Cys Ala	Thr Ala Ala Gly	Thr	Ala Cys Cys Thr	Gly Thr Ala Gly
5570		5575		5580
Gly Ala	Thr Cys Gly Thr	Ala	Cys Ala Gly Gly	Thr Thr Thr Ala
5585		5590		5595

Cys Gly 5600	Cys Ala Ala Gly 5605	Ala Ala Ala Thr 5610	Gly Gly Thr Thr
Thr Gly 5615	Thr Thr Ala Thr 5620	Ala Gly Thr Cys Gly 5625	Ala Thr Thr Ala
Ala Thr 5630	Cys Gly Ala Thr 5635	Thr Thr Gly Ala Thr 5640	Cys Thr Ala
Gly Ala 5645	Thr Thr Thr Gly 5650	Thr Thr Thr Ala 5655	Ala Cys Thr Ala
Ala Thr 5660	Thr Ala Ala Ala 5665	Gly Gly Ala Gly Gly 5670	Ala Thr Ala
Ala Cys 5675	Ala Thr Ala Thr 5680	Gly Ala Thr Cys Gly 5685	Cys Thr Cys Cys
Ala Cys 5690	Cys Ala Thr Gly 5695	Cys Ala Cys Cys Ala 5700	Gly Thr Gly Ala
Gly Ala 5705	Ala Gly Cys Ala 5710	Thr Thr Ala Thr Gly 5715	Ala Gly Cys Ala
Thr Cys 5720	Thr Gly Gly Gly 5725	Ala Cys Gly Gly Thr 5730	Gly Cys Thr Gly
Thr Ala 5735	Ala Cys Ala Ala 5740	Ala Thr Gly Thr Gly 5745	Ala Cys Cys
Ala Gly 5750	Gly Ala Ala Ala 5755	Gly Thr Ala Cys Ala 5760	Thr Gly Thr Cys
Thr Thr 5765	Cys Thr Ala Ala 5770	Ala Thr Gly Cys Ala 5775	Cys Thr Ala Cys
Thr Ala 5780	Cys Cys Thr Cys 5785	Thr Gly Ala Cys Ala 5790	Gly Thr Gly Thr
Ala Thr 5795	Gly Thr Cys Thr 5800	Gly Cys Cys Cys Thr 5805	Thr Gly Gly

Cys Cys	Cys Gly Gly Ala Thr	Gly Ala Ala Thr Ala	Cys Thr Thr
5810	5815	5820	
Gly Gly	Ala Thr Ala Gly Cys	Thr Gly Gly Ala Ala	Thr Gly Ala
5825	5830	5835	
Ala Gly	Ala Ala Gly Ala Thr	Ala Ala Ala Thr Gly	Cys Thr Thr
5840	5845	5850	
Gly Cys	Thr Gly Cys Ala Thr	Ala Ala Ala Gly Thr	Thr Thr Gly
5855	5860	5865	
Thr Gly	Ala Thr Ala Cys Ala	Gly Gly Cys Ala Ala	Gly Gly Cys
5870	5875	5880	
Cys Cys	Thr Gly Gly Thr Gly	Gly Cys Cys Gly Thr	Gly Gly Thr
5885	5890	5895	
Cys Gly	Cys Cys Gly Gly Cys	Ala Ala Cys Ala Gly	Thr Ala Cys
5900	5905	5910	
Gly Ala	Cys Cys Cys Cys Cys	Cys Gly Gly Cys Gly	Cys Thr Gly
5915	5920	5925	
Cys Gly	Cys Gly Thr Gly Cys	Ala Cys Gly Gly Cys	Thr Gly Gly
5930	5935	5940	
Gly Thr	Ala Cys Cys Ala Cys	Thr Gly Gly Ala Gly	Cys Cys Ala
5945	5950	5955	
Gly Gly	Ala Cys Thr Gly Cys	Gly Ala Gly Thr Gly	Cys Thr Gly
5960	5965	5970	
Cys Cys	Gly Cys Cys Gly Cys	Ala Ala Cys Ala Cys	Cys Gly Ala
5975	5980	5985	
Gly Thr	Gly Cys Gly Cys Gly	Cys Cys Gly Gly Gly	Cys Cys Thr
5990	5995	6000	
Gly Gly	Gly Cys Gly Cys Cys	Cys Ala Gly Cys Ala	Cys Cys Cys
6005	6010	6015	

Gly Thr Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Cys Ala Ala Cys Ala Ala
 6020 6025 6030

Gly Gly Ala Cys Ala Cys Ala Gly Thr Gly Thr Gly Cys Ala Ala
 6035 6040 6045

Ala Cys Cys Thr Thr Gly Cys Cys Thr Thr Gly Cys Ala Gly Gly
 6050 6055 6060

Cys Thr Ala Cys Thr Thr Cys Thr Cys Thr Gly Ala Thr Gly Cys
 6065 6070 6075

Cys Thr Thr Thr Thr Cys Cys Thr Cys Cys Ala Cys Gly Gly Ala
 6080 6085 6090

Cys Ala Ala Ala Thr Gly Cys Ala Gly Ala Cys Cys Cys Thr Gly
 6095 6100 6105

Gly Ala Cys Cys Ala Ala Cys Thr Gly Thr Ala Cys Cys Thr Thr
 6110 6115 6120

Cys Cys Thr Thr Gly Gly Ala Ala Ala Gly Ala Gly Ala Gly Thr
 6125 6130 6135

Ala Gly Ala Ala Cys Ala Thr Cys Ala Thr Gly Gly Gly Ala Cys
 6140 6145 6150

Ala Gly Ala Gly Ala Ala Ala Thr Cys Cys Gly Ala Thr Gly Thr
 6155 6160 6165

Gly Gly Thr Thr Thr Gly Cys Ala Gly Thr Thr Cys Thr Thr Cys
 6170 6175 6180

Thr Cys Thr Gly Cys Cys Ala Gly Cys Thr Ala Gly Ala Ala Ala
 6185 6190 6195

Ala Cys Cys Ala Cys Cys Ala Ala Ala Thr Gly Ala Ala Cys Cys
 6200 6205 6210

Cys Cys Ala Thr Gly Thr Thr Thr Ala Cys Gly Thr Cys Gly Ala
 6215 6220 6225

Cys Ala Ala Ala Ala Cys Thr Cys Ala Cys Ala Cys Ala Thr Gly

6230	6235	6240
Thr Cys Cys Ala Cys Cys	Thr Thr Gly Thr Cys Cys	Ala Gly Cys
6245	6250	6255
Thr Cys Cys Gly Gly Ala Ala	Cys Thr Cys Cys Thr	Gly Gly Gly
6260	6265	6270
Gly Gly Gly Ala Cys Cys	Gly Thr Cys Ala Gly Thr	Cys Thr Thr
6275	6280	6285
Cys Cys Thr Cys Thr Thr	Cys Cys Cys Cys Cys	Ala Ala Ala
6290	6295	6300
Ala Cys Cys Cys Ala Ala	Gly Gly Ala Cys Ala Cys	Cys Cys Thr
6305	6310	6315
Cys Ala Thr Gly Ala Thr	Cys Thr Cys Cys Cys Gly	Gly Ala Cys
6320	6325	6330
Cys Cys Cys Thr Gly Ala	Gly Thr Cys Ala Cys	Ala Thr Gly
6335	6340	6345
Cys Gly Thr Gly Gly Thr	Gly Thr Gly Gly Ala	Cys Gly Thr
6350	6355	6360
Gly Ala Gly Cys Cys Ala	Cys Gly Ala Ala Gly Ala	Cys Cys Cys
6365	6370	6375
Thr Gly Ala Gly Gly Thr	Cys Ala Ala Gly Thr Thr	Cys Ala Ala
6380	6385	6390
Cys Thr Gly Gly Thr Ala	Cys Gly Thr Gly Gly Ala	Cys Gly Gly
6395	6400	6405
Cys Gly Thr Gly Gly Ala	Gly Thr Gly Cys Ala	Thr Ala Ala
6410	6415	6420
Thr Gly Cys Cys Ala Ala	Gly Ala Cys Ala Ala Ala	Gly Cys Cys
6425	6430	6435
Gly Cys Gly Gly Gly Ala	Gly Gly Ala Gly Cys Ala	Gly Thr Ala
6440	6445	6450

Cys Ala	Ala Cys Ala Gly	Cys	Ala Cys Gly Thr	Ala	Cys Cys Gly
6455		6460		6465	
Thr Gly	Thr Gly Gly Thr	Cys	Ala Gly Cys Gly	Thr	Cys Cys Thr
6470		6475		6480	
Cys Ala	Cys Cys Gly Thr	Cys	Cys Thr Gly Cys	Ala	Cys Cys Ala
6485		6490		6495	
Gly Gly	Ala Cys Thr Gly	Gly	Cys Thr Gly Ala	Ala	Thr Gly Gly
6500		6505		6510	
Cys Ala	Ala Gly Gly Ala	Gly	Thr Ala Cys Ala	Ala	Gly Thr Gly
6515		6520		6525	
Cys Ala	Ala Gly Gly Thr	Cys	Thr Cys Cys Ala	Ala	Cys Ala Ala
6530		6535		6540	
Ala Gly	Cys Cys Cys Thr	Cys	Cys Cys Ala Gly	Cys	Cys Cys Cys
6545		6550		6555	
Cys Ala	Thr Cys Gly Ala	Gly	Ala Ala Ala Ala	Cys	Cys Ala Thr
6560		6565		6570	
Cys Thr	Cys Cys Ala Ala	Ala	Gly Cys Cys Ala	Ala	Ala Gly Gly
6575		6580		6585	
Gly Cys	Ala Gly Cys Cys	Cys	Cys Gly Ala Gly	Ala	Ala Cys Cys
6590		6595		6600	
Ala Cys	Ala Gly Gly Thr	Gly	Thr Ala Cys Ala	Cys	Cys Cys Thr
6605		6610		6615	
Gly Cys	Cys Cys Cys Cys	Ala	Thr Cys Cys Cys	Gly	Gly Gly Ala
6620		6625		6630	
Thr Gly	Ala Gly Cys Thr	Gly	Ala Cys Cys Ala	Ala	Gly Ala Ala
6635		6640		6645	
Cys Cys	Ala Gly Gly Thr	Cys	Ala Gly Cys Cys	Thr	Gly Ala Cys
6650		6655		6660	

Cys 6665	Thr	Gly	Cys	Cys	Thr	Gly 6670	Gly	Thr	Cys	Ala	Ala 6675	Ala	Gly	Gly
Cys 6680	Thr	Thr	Cys	Thr	Ala	Thr 6685	Cys	Cys	Cys	Ala	Gly 6690	Cys	Gly	Ala
Cys 6695	Ala	Thr	Cys	Gly	Cys	Cys 6700	Gly	Thr	Gly	Gly	Ala 6705	Gly	Thr	Gly
Gly 6710	Gly	Ala	Gly	Ala	Gly	Cys 6715	Ala	Ala	Thr	Gly	Gly 6720	Gly	Cys	Ala
Gly 6725	Cys	Cys	Gly	Gly	Ala	Gly 6730	Ala	Ala	Cys	Ala	Ala 6735	Cys	Thr	Ala
Cys 6740	Ala	Ala	Gly	Ala	Cys	Cys 6745	Ala	Cys	Gly	Cys	Cys 6750	Thr	Cys	Cys
Cys 6755	Gly	Thr	Gly	Cys	Thr	Gly 6760	Gly	Ala	Cys	Thr	Cys 6765	Cys	Gly	Ala
Cys 6770	Gly	Gly	Cys	Thr	Cys	Cys 6775	Thr	Thr	Cys	Thr	Thr 6780	Cys	Cys	Thr
Cys 6785	Thr	Ala	Cys	Ala	Gly	Cys 6790	Ala	Ala	Gly	Cys	Thr 6795	Cys	Ala	Cys
Cys 6800	Gly	Thr	Gly	Gly	Ala	Cys 6805	Ala	Ala	Gly	Ala	Gly 6810	Cys	Ala	Gly
Gly 6815	Thr	Gly	Gly	Cys	Ala	Gly 6820	Cys	Ala	Gly	Gly	Gly 6825	Gly	Ala	Ala
Cys 6830	Gly	Thr	Cys	Thr	Thr	Cys 6835	Thr	Cys	Ala	Thr	Gly 6840	Cys	Thr	Cys
Cys 6845	Gly	Thr	Gly	Ala	Thr	Gly 6850	Cys	Ala	Thr	Gly	Ala 6855	Gly	Gly	Cys
Thr 6860	Cys	Thr	Gly	Cys	Ala	Cys 6865	Ala	Ala	Cys	Cys	Ala 6870	Cys	Thr	Ala

Cys Ala 6875	Cys Gly	Cys Ala	Gly 6880	Ala Ala Gly Ala Gly 6885	Cys Cys Thr
Cys Thr 6890	Cys Cys	Cys Thr	Gly 6895	Thr Cys Thr Cys Cys 6900	Gly Gly Gly
Thr Ala 6905	Ala Ala	Thr Ala	Ala 6910	Thr Gly Gly Ala Thr 6915	Cys Cys Gly
Cys Gly 6920	Gly Ala	Ala Ala	Gly 6925	Ala Ala Gly Ala Ala 6930	Gly Ala Ala
Gly Ala 6935	Ala Gly	Ala Ala	Gly 6940	Ala Ala Ala Gly Cys 6945	Cys Cys Gly
Ala Ala 6950	Ala Gly	Gly Ala	Ala 6955	Gly Cys Thr Gly Ala 6960	Gly Thr Thr
Gly Gly 6965	Cys Thr	Gly Cys	Thr 6970	Gly Cys Cys Ala Cys 6975	Cys Gly Cys
Thr Gly 6980	Ala Gly	Cys Ala	Ala 6985	Thr Ala Ala Cys Thr 6990	Ala Gly Cys
Ala Thr 6995	Ala Ala	Cys Cys	Cys 7000	Cys Thr Thr Gly Gly 7005	Gly Gly Cys
Cys Thr 7010	Cys Thr	Ala Ala	Ala 7015	Cys Gly Gly Gly Thr 7020	Cys Thr Thr
Gly Ala 7025	Gly Gly	Gly Gly	Thr 7030	Thr Thr Thr Thr Thr 7035	Gly Cys Thr
Gly Ala 7040	Ala Ala	Gly Gly	Ala 7045	Gly Gly Ala Ala Cys 7050	Cys Gly Cys
Thr Cys 7055	Thr Thr	Cys Ala	Cys 7060	Gly Cys Thr Cys Thr 7065	Thr Cys Ala
Cys Gly 7070	Cys Gly	Gly Ala	Thr 7075	Ala Ala Ala Thr Ala 7080	Ala Gly Thr
Ala Ala	Cys Gly	Ala Thr	Cys	Cys Gly Gly Thr Cys	Cys Ala Gly

7085	7090	7095
Thr Ala Ala Thr Gly Ala Cys	Cys Thr Cys Ala Gly	Ala Ala Cys
7100	7105	7110
Thr Cys Cys Ala Thr Cys Thr	Gly Gly Ala Thr Thr	Thr Gly Thr
7115	7120	7125
Thr Cys Ala Gly Ala Ala Cys	Gly Cys Thr Cys Gly	Gly Thr Thr
7130	7135	7140
Gly Cys Cys Gly Cys Cys Gly	Gly Gly Cys Gly Thr	Thr Thr Thr
7145	7150	7155
Thr Thr Ala Thr Thr Gly Gly	Thr Gly Ala Gly Ala	Ala Thr Cys
7160	7165	7170
Gly Cys Ala Gly Cys Ala Ala	Cys Thr Thr Gly Thr	Cys Gly Cys
7175	7180	7185
Gly Cys Cys Ala Ala Thr Cys	Gly Ala Gly Cys Cys	Ala Thr Gly
7190	7195	7200
Thr Cys Gly Thr Cys Gly Thr	Cys Ala Ala Cys Gly	Ala Cys Cys
7205	7210	7215
Cys Cys Cys Cys Ala Thr Thr	Cys Ala Ala Gly Ala	Ala Cys Ala
7220	7225	7230
Gly Cys Ala Ala Gly Cys Ala	Gly Cys Ala Thr Thr	Gly Ala Gly
7235	7240	7245
Ala Ala Cys Thr Thr Thr Gly	Gly Ala Ala Thr Cys	Cys Ala Gly
7250	7255	7260
Thr Cys Cys Cys Thr Cys Thr	Thr Cys Cys Ala Cys	Cys Thr Gly
7265	7270	7275
Cys Thr Gly Ala Cys Cys Gly		
7280	7285	

<210> 29

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

5

<400> 29

Pro Gly Thr Cys Phe Pro Phe Pro Trp Glu Cys Thr His Ala
1 5 10

<210> 30

<213> 14

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

15

<400> 30

Trp Gly Ala Cys Trp Pro Phe Pro Trp Glu Cys Phe Lys Glu
1 5 10

<210> 31

<213> 14

20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

25

<400> 31

Val Pro Phe Cys Asp Leu Leu Thr Lys His Cys Phe Glu Ala
1 5 10

<210> 32

<213> 18

30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

35

<400> 32

Gly Ser Arg Cys Lys Tyr Lys Trp Asp Val Leu Thr Lys Gln Cys Phe
1 5 10 15

His His

<210> 33

<213> 18

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

10

<400> 32

Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp
1 5 10 15

Pro Leu

<210> 34

15 <213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 34

Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Cys Thr
1 5 10 15

Ser Ser

25

<210> 35

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 34

Ser Asp Asp Cys Met Tyr Asp Gln Leu Thr Arg Met Phe Ile Cys Ser
1 5 10 15

35

Asn Leu

<210> 36

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 36

10

Asp Leu Asn Cys Lys Tyr Asp Glu Leu Thr Tyr Lys Glu Trp Cys Gln
1 5 10 15

Phe Asn

<210> 37

<213> 18

<212> PRT

15

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

20

<400> 37

Phe His Asp Cys Lys Tyr Asp Leu Leu Thr Arg Gln Met Val Cys His
1 5 10 15

Gly Leu

<210> 38

<213> 18

25

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

30

<400> 38

Arg Asn His Cys Phe Trp Asp His Leu Leu Lys Gln Asp Ile Cys Pro
1 5 10 15

Ser Pro

<210> 39

<213> 18

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

10 <400> 39

Ala Asn Gln Cys Trp Trp Asp Ser Leu Thr Lys Lys Asn Val Cys Glu
1 5 10 15

Phe Phe

<210> 40

<213> 8

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

20

<400> 40

<210> 41

<213> 8

25 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Enlazadores de poliglicina

30

<220>

<221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> N is asparagina

35

<400> 41
gggngssg

<210> 42

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

<220>

10 <223> Enlazadores de poliglicina

<400> 42
gggcggg

15 <210> 43
<213> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Enlazadores de poliglicina

<400> 43

25

Gly Pro Asn Gly Gly
1 5

<210> 44
<213> 19
<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Enlace peptídico

35 <220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(19)
<223> Xaa = un enlace peptídico

Dominio Fc unido en la posición 19 del extremo C-terminal

40

<400> 44

Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp
1 5 10 15

Pro Leu Xaa

<210> 45

<213> 19

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Enlace peptídico

10

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = un enlace peptídico

15 Dominio Fc unido en la posición 1 del extremo N-terminal

<400> 45

Xaa Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys
1 5 10 15

20 Asp Pro Leu

<210> 46

<213> 38

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Enlace peptídico

30 <220>

<221> misc_feature

<222> (38)..(38)

<223> Xaa = un enlace peptídico

Dominio Fc unido en la posición 38 del extremo C-terminal

35

<400> 46

Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp
1 5 10 15

Pro Leu Xaa Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp
20 25 30

Val Cys Asp Pro Leu Xaa
35

<210> 47

<213> 38

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Enlace peptídico

10 <220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = un enlace peptídico

Dominio Fc unido en la posición 1 del extremo N-terminal

15

<220>

<221> misc_feature

<222> (20)..(20)

20

<223> Xaa = un enlace peptídico

<400> 47

Xaa Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys
1 5 10 15

Asp Pro Leu Xaa Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln
20 25 30

Trp Val Cys Asp Pro Leu
35

<210> 48

25 <213> 19

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Enlace peptídico

<220>

<221> misc_feature

5 <222> (19)..(19)

<223> Xaa = un enlace peptídico

Dominio Fc unido en la posición 1 del extremo N-terminal

<400> 48

Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Cys Thr
1 5 10 15

Ser Ser Xaa

10

<210> 49

<213> 19

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Enlace peptídico

<220>

20 <221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = un enlace peptídico

Dominio Fc unido en la posición 1 del extremo N-terminal

<400> 49

25

Xaa Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Cys
1 5 10 15

Thr Ser Ser

<210> 50

<213> 36

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Enlace peptídico

<220>

<221> misc_feature

<222> (18)..(18)

<223> Xaa = un enlace peptídico

5 Dominio Fc unido en la posición 1 del extremo N-terminal

<400> 50

Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Thr Ser
1 5 10 15

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

Thr Ser Ser Xaa
35

<210> 51

<213> 36

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Enlace peptídico

15

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = un enlace peptídico

20 Dominio Fc unido en la posición 1 del extremo N-terminal

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(19)

25 <223> Xaa = un enlace peptídico

<400> 51

Xaa Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Thr
1 5 10 15

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

Val Thr Ser Ser
35

<210> 52
 <213> 19
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Enlace peptídico

 10 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> Xaa = un enlace peptídico
 Dominio Fc unido en la posición 19 del extremo C-terminal

 <400> 52
 Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys His
 1 5 10 15

 Gly Leu Xaa
 15

 <210> 53
 <213> 19
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Enlace peptídico

 25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = un enlace peptídico
 Dominio Fc unido en la posición 1 del extremo N-terminal
 30

 <400> 53
 Xaa Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys
 1 5 10 15

 His Gly Leu

 <210> 54

<213> 38

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Enlace peptídico

<220>

<221> misc_feature

10 <222> (38)..(38)

<223> Xaa = un enlace peptídico

Dominio Fc unido en la posición 38 del extremo C-terminal

<400> 54

Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys His
1 5 10 15

Gly Leu Xaa Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp
20 25 30

Val Cys His Gly Leu Xaa
35

15 <210> 55

<213> 38

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Enlace peptídico

<220>

<221> misc_feature

25 <222> (1)..(1)

<223> Xaa = un enlace peptídico

Dominio Fc unido en la posición 1 del extremo N-terminal

30 <220>

<221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> Xaa = un enlace peptídico

<400> 55

Xaa Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys
1 5 10 15

His Gly Leu Xaa Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln
20 25 30

Trp Val Cys His Gly Leu
35

<210> 56

<213> 25

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Oligonucleótido

10

<400> 56

Cggcgcaact atcggtatca agctg

<210> 57

15 <213> 26

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Oligonucleótido

<400> 57

Catgtaccgt aacactgagt ttcgtc

25 <210> 58

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30 <220>

<223> Péptido de consenso

<400> 58

Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys His
1 5 10 15

Gly Leu

<210> 59

5 <213> 23

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Secuencia de enlazador preferible

<400> 59

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr His Met
20

15

<210> 60

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 60

25

Asn Gln Thr Leu Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Phe Ile Thr
1 5 10 15

Tyr Met

<210> 61

<213> 18

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

5 <400> 61

Pro Val Tyr Gln Gly Trp Trp Asp Thr Leu Thr Lys Leu Tyr Ile Trp
1 5 10 15

Asp Gly

<210> 62

10 <213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 62

Trp Leu Asp Gly Gly Trp Arg Asp Pro Leu Ile Lys Arg Ser Val Gln
1 5 10 15

Leu Gly

<210> 63

20 <213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 63

Gly His Gln Gln Phe Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Gln
1 5 10 15

Ser Asn

30 <210> 64

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 64

Gln Arg Val Gly Gln Phe Trp Asp Val Leu Thr Lys Met Phe Ile Thr
1 5 10 15

Gly Ser

5 <210> 65

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 65

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

Trp Pro

15

<210> 66

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 66

Gly Trp Met His Trp Lys Trp Asp Pro Leu Thr Lys Gln Ala Leu Pro
1 5 10 15

Trp Met

25

<210> 67

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 67

Gly His Pro Thr Tyr Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile Leu
1 5 10 15

Gln Met

<210> 68

<213> 18

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

10

<400> 68

Trp Asn Asn Trp Ser Leu Trp Asp Pro Leu Thr Lys Leu Trp Leu Gln
1 5 10 15

Gln Asn

<210> 69

<213> 18

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

20

<400> 69

Trp Gln Trp Gly Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Gln
1 5 10 15

Gln Gln

<210> 70

25 <213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

30 <223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 70

Gly Gln Met Gly Trp Arg Trp Asp Pro Leu Thr Lys Met Trp Leu Gly
1 5 10 15

Thr Ser

<210> 71

<213> 62

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Oligonucleótidos

<400> 71

tatgccgggt acttgtttcc cgttcccgtg ggaatgcact cacgctggtg gaggcggtgg 60

gg 62

10

<210> 72

<213> 64

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Oligonucleótidos

<400> 72

tcgacccac cgcctcctgg agcgtgagtg cattcccacg ggaagccgaa acaagtaccc 60

ggca 64

20

<210> 73

<213> 62

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Oligonucleótidos

<400> 73

tatgtggggt gcttgttggc cgttcccgtg ggaatgtttc aaagaagggtg gaggcggtgg 60

gg 62

30

<210> 74

	<213> 64	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> Oligonucleótidos	
	<400> 74	
	tcgacccac cgctccacc ttctttgaaa cattcccacg ggaacggcca acaagcacc	60
	caca	64
	<210> 75	
	<213> 62	
10	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótidos	
	<400> 75	
	tatggttccg ttctgtgacc tgctgactaa acactgtttc gaagctggtg gaggcggtgg	60
	gg	62
15	<210> 76	
	<213> 64	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Oligonucleótidos	
	<400> 76	
	tcgacccac cgctccacc agcttcgaaa cagtgtttag tcagcaggtc acagaacgga	60
	acca	64
25	<210> 77	
	<213> 74	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
30	<220>	
	<223> Oligonucleótidos	

	<400> 77	
	tatgggttct cgttgtaaata acaaatggga cgttctgact aaacagtgtt tccaccacgg	60
	tggaggcggt gggg	74
	<210> 78	
	<213> 76	
	<212> ADN	
5	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótidos	
	<400> 78	
	tcgacccac cgcctccacc gtggtggaaa cactgttttag tcagaacgtc ccatttgtat	60
	ttacaacgag aaccca	76
10	<210> 79	
	<213> 74	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Oligonucleótidos	
	<400> 79	
	tatgctgccg ggttgtaaata gggacctgct gatcaaacag tgggtttgtg acccgctggg	60
	tggaggcggt gggg	74
	<210> 80	
	<213> 76	
20	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótidos	
25	<400> 80	
	tcgacccac cgcctccacc cagcgggtca caaacccact gtttgatcag cagggtccat	60
	ttacaacccg gcagca	76
	<210> 81	
	<213> 74	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	

<220>

<223> Oligonucleótidos

<400> 81

tatgtctgct gactgttact tcgacatcct gactaaatct gacgtttgta cttcttctgg 60

tggaggcggt gggg 74

5 <210> 82

<213> 76

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Oligonucleótidos

<400> 82

tcgacccac cgctccacc agaagaagta caaacgtcag atttagtcag gatgtcgaag 60

taacagtcag cagaca 76

<210> 83

15 <213> 74

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Oligonucleótidos

<400> 83

tatgtctgac gactgtatgt acgaccagct gactcgtatg ttcattctgtt ctaacctggg 60

tggaggcggt gggg 74

<210> 84

<213> 76

<212> ADN

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Oligonucleótidos

<400> 84

tcgacccac cgctccacc caggtagaa cagatgaaca tacgagtcag ctggctgtac 60

atacagtcgt cagaca 76

30 <210> 85

	<213> 74	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> Oligonucleótidos	
	<400> 85	
	tatggacctg aactgtaa at acgacgaact gacttacaaa gaatggtgtc agttcaacgg	60
	tggaggcggg gggg	74
	<210> 86	
	<213> 76	
10	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótidos	
	<400> 86	
	tcgacccac cgctccacc gttgaactga caccattctt tgtaagtcag ttcgtcgtat	60
	ttacagttca ggtcca	76
15	<210> 87	
	<213> 74	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Oligonucleótidos	
	<400> 87	
	tatgttccac gactgtaa at acgacctgct gactcgtcag atggtttgtc acggtctggg	60
	tggaggcggg gggg	74
25	<210> 88	
	<213> 76	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
30	<220>	
	<223> Oligonucleótidos	

	<400> 88	
	tcgacccac cgcctccacc cagaccgtga caaaccatct gacgagtcag caggtcgtat	60
	ttacagtcgt ggaaca	76
	<210> 89	
	<213> 74	
	<212> ADN	
5	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótidos	
	<400> 89	
	tatgcgtaac cactgtttct gggaccacct gctgaaacag gacatctgtc cgtctccggg	60
	tggaggcggg gggg	74
10	<210> 90	
	<213> 76	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Oligonucleótidos	
	<400> 90	
	tcgacccac cgcctccacc cggagacgga cagatgtcct gtttcagcag gtggtcccag	60
	aaacagtggg tacgca	76
	<210> 91	
	<213> 74	
20	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótidos	
	<400> 91	
	tatggctaac cagtgttggg gggactctct gctgaaaaaa aacgtttgtg aattcttcgg	60
25	tggaggcggg gggg	74
	<210> 92	
	<213> 76	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
30	<220>	

<223> Oligonucleótidos

<400> 92
tcgacccac cgcctccacc gaagaattca caaacgtttt ttttcagcag agagtccac 60
caacactggt tagcca 76

<210> 93

<213> 74

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Oligonucleótidos

10

<400> 93
tatgttccac gactgcaaat gggacctgct gaccaaacag tgggtttgcc acggtctggg 60
tggaggcggt gggg 74

<210> 94

<213> 76

<212> ADN

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Oligonucleótidos

<400> 94
tcgacccac cgcctccacc cagaccgtgg caaacccact gtttggtcag caggtcccat 60
ttgcagtcgt ggaaca 76

20 <210> 95

<213> 141

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Vector pAMG21-Rank-Fc

<400>95

ctaattccgc tctcacctac caaacaatgc cccctgcaa aaaataaatt catataaaaa 60
acatacagat aaccatctgc ggtgataaat tatctctggc ggtgttgaca taaataccac 120
tggcggtgat actgagcaca t 141

<210> 96

<213> 55

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5

<220>

<223> Vector pAMG21-Rank-Fc

<400> 96

cgatttgatt ctagaaggag gaataacata tgggtaacgc gttggaattc ggtac 55

10

<210> 97

<213> 1546

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> pAMG21

<400> 97

gcgtaacgta tgcattggtct ccccatgcga gagtagggaa ctgccaggca tcaaataaaa 60

cgaaaggctc agtcgaaaga ctgggccttt cgttttatct gttggtttgtc ggtgaacgct 120

ctcctgagta ggacaaatcc gccgggagcg gatttgaacg ttgcgaagca acggccccgga 180

gggtggcggg caggacgccc gccataaact gccaggcatc aaattaagca gaaggccatc 240

ctgacggatg gcctttttgc gtttctacaa actcttttgt ttatttttct aaatacatct 300

aaatatggac gtcgtactta acttttaaag tatgggcaat caattgctcc tgttaaaatt 360

gcttttagaaa tactttggca gcggtttgtt gtattgagtt tcatttgccg attggttaaa 420

tggaaagtga ccgtgcgctt actacagcct aatatttttg aaatatccca agagcttttt 480

ccttcgcatg cccacgctaa acattctttt tctcttttgg ttaaactcgtt gtttgattta 540

ttatttgcta tattttatttt tcgataatta tcaactagag aaggaacaat taatggatatg 600

ttcatacacg catgtaaaaa taaactatct atatagttgt ctttctctga atgtgcaaaa 660

ctaagcattc cgaagccatt attagcagta tgaataggga aactaaaccc agtgataaga 720

cctgatgatt tcgcttcttt aattacattt ggagattttt tatttacagc attggtttca 780

aatatattcc aattaatcgg tgaatgattg gagttagaat aatctactat aggatcatat 840

tttattaaat tagcgtcatc ataattttgc ctccattttt tagggtaatt atccagaatt 900

gaaatatcag atttaaccat agaatgagga taaatgatcg cgagtaaata atattcacaa 960
 tgtaccattt tagtcatatc agataagcat tgattaatat cattattgct tctacaggct 1020
 ttaattttat taattattct gtaagtgtcg tcggcattta tgtctttcat acccatctct 1080
 ttatccttac ctattgtttg tcgcaagttt tgcgtgttat atatcattaa aacggtaata 1140
 gattgacatt tgattctaata aaattggatt tttgtcacac tattatatcg cttgaaatac 1200
 aattgtttaa cataagtacc tgtaggatcg tacaggttta cgcaagaaaa tggtttggtta 1260
 tagtcgatta atcgatttga ttctagattt gttttaacta attaaaggag gaataacata 1320
 tggttaacgc gttggaattc gagctcacta gtgtcgacct gcagggtacc atggaagctt 1380
 actcgaggat ccgcggaaaag aagaagaaga agaagaaagc ccgaaaggaa gctgagttgg 1440
 ctgctgccac cgctgagcaa taactagcat aacccttgg ggcctctaaa cgggtcttga 1500
 ggggtttttt gctgaaagga ggaaccgctc ttcacgctct tcacgc 1546

<210> 98

<213> 872

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> GM221

<400> 98

ttattttcgt gcggccgcac cattatcacc gccagaggta aactagtcaa cacgcacggt 60
 gttagatatt tatcccttgc ggtgatagat tgagcacatc gatttgattc tagaaggagg 120
 gataatatat gagcacaaaa aagaaaccat taacacaaga gcagcttgag gacgcacgtc 180
 gccttaaagc aatttatgaa aaaaagaaaa atgaacttgg cttatcccag gaatctgtcg 240
 cagacaagat ggggatgggg cagtcaggcg ttggtgcttt atttaatggc atcaatgcat 300
 taaatgctta taacgccgca ttgcttacia aaattctcaa agttagcggt gaagaattta 360
 gcccttcaat cgccagagaa tctacgagat gtatgaagcg gttagtatgc agccgtcact 420
 tagaagtgag tatgagtacc ctgttttttc tcatgttcag gcagggatgt tctcacctaa 480
 gcttagaacc tttaccaaag gtgatgcgga gagatgggta agcacaacca aaaaagccag 540
 tgattctgca ttctggcttg aggttgaagg taattccatg accgcaccaa caggctccaa 600
 gccaaagctt cctgacggaa tgtaattct cgttgacct gagcaggctg ttgagccagg 660
 tgatttctgc atagccagac ttgggggtga tgagtttacc ttcaagaaac tgatcaggga 720

tagcgggtcag gtgttttttac aaccactaaa cccacagtac ccaatgatcc catgcaatga 780
gagttgttcc gttgtgggga aagttatcgc tagtcagtgg cctgaagaga cgtttggctg 840
atagactagt ggatccacta gtgtttctgc cc 872

<210> 99

<213> 1197

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> GM221

<400> 99
ggcggaaacc gacgtccatc gaatggtgca aaacctttcg cggtatggca tgatagcgcc 60
cggaagagag tcaattcagg gtggtgaatg tgaaaccagt aacgttatac gatgtcgcag 120
agtatgccgg tgtctcttat cagaccgttt cccgcgtggg gaaccaggcc agccacgttt 180
ctgcgaaaac gcgggaaaaa gtcgaagcgg cgatggcgga gctgaattac attcccaacc 240
gcgtggcaca acaactggcg ggcaaacagt cgctcctgat tggcggtgcc acctccagtc 300
tggccctgca cgcgccgtcg caaattgtcg cggcgattaa atctcgcgcc gatcaactgg 360
gtgccagcgt ggtggtgtcg atggtagaac gaagcggcgt cgaagcctgt aaagcggcgg 420
tgacacaatct tctcgcgcaa cgcgtcagtg ggctgatcat taactatccg ctggatgacc 480
aggatgccat tgctgtggaa gctgcctgca ctaatgttcc ggcgttattt cttgatgtct 540
ctgaccagac acccatcaac agtattattt tctcccatga agacggtagc cgactggggc 600
tggagcatct ggtcgcattg ggtcaccagc aaatcgcgct gttagcgggc ccattaagtt 660
ctgtctcggc gcgtctgcgt ctggctggct ggcataaata tctcactcgc aatcaaattc 720
agccgatagc ggaacgggaa ggcgactgga gtgccatgtc cggttttcaa caaaccatgc 780
aaatgctgaa tgagggcatc gttcccactg cgatgctggg tgccaacgat cagatggcgc 840
tgggcgcaat gcgcgccatt accgagtccg ggctgcgcgt tgggtcggat atctcggtag 900
tgggatacga cgataccgaa gacagctcat gttatatccc gccgttaacc accatcaaac 960
aggattttctg cctgctgggg caaaccagcg tggaccgctt gctgcaactc tctcagggcc 1020
aggcggtgaa gggcaatcag ctgttgcccg tctcactggg gaaaagaaaa accaccctgg 1080
cgcccaatac gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac 1140
gacaggtttc ccgactggaa agcggacagt aagggtacat aggatccagg cacagga 1197

<210> 100
 <213> 14
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Moduladores de TALL-1
 <220>
 <223> Moduladores de TALL-1
 10
 <220>
 <221> misc_feature
 <222>(1,2,3,13)...(14)
 <223> Xaa (Pos, 1,2,3,13,14) son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes;
 15
 <220>
 <221> misc_feature
 <222>(6)...(6)
 20 <223> Xaa (Pos6) es un residuo de aminoácido;
 <220>
 <221> misc_feature
 25 <222>(8)...(8)
 <223> Xaa (Pos8) es treonilo o isoleucilo:
 <220>
 <221> misc_feature
 30 <222>(9)...(9)
 <223> Xaa (Pos9) es un residuo hidrófobo o básico;
 35 <220>
 <221> misc_feature
 <222>(10)...(10)
 <223> Xaa (Pos10) es un residuo de aminoácido;
 40 <220>
 <221> misc_feature

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

<223> Xaa (Pos12) es un residuo hidrófobo neutro;

<400> 100

Xaa Xaa Xaa Cys Asp Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
1 5 10

5

<210> 101

<213> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Moduladores de TALL-1

15

<220>

<221> misc_feature

<222>(1,2,3,12 y)...(13)

<223> Xaa (Pos, 1,2,3,12,13) son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes;

20

<220>

<221> misc_feature

<222>(5 y)...(8)

<223> Xaa (Pos5,8) es un residuo hidrófobo neutro;

25

<220>

<221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> Xaa (Pos 10) es un residuo ácido;

30

<220>

<221> misc_feature

<222> (14)..(14)

<223> Xaa (Pos14) es un residuo de aminoácidos o ausente.

<400> 101

Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Pro Phe Xaa Trp Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
1 5 10

35

<210> 102

<213> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Moduladores de TALL-1

<220>

<221> misc_feature

10 <222>(1,2,3,12, 13 y)...(14)

<223> Xaa (Pos, 1,2,3,12,13,14) son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes;

<220>

15 <221> misc_feature

<222>(6 y)...(7)

<223> Xaa (Pos 6,7) es un residuo hidrófobo neutro;

<220>

20 <221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> Xaa (Pos 10) es un residuo hidrófobo polar o ácido;

<400> 102

Xaa Xaa Xaa Cys Trp Xaa Xaa Trp Gly Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
1 5 10

25 <210> 103

<213> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30 <220>

<223> Moduladores de TALL-1

<220>

<221> misc_feature

35 <222>(1)...(1)

<223> Xaa (Pos1) es un residuo de aminoácidos o ausente;

<220>

<221> misc_feature

<222>(2 y)...(14)

<223> Xaa (Pos 2,14) es un residuo hidrófobo neutro;

5 <220>

<221> misc_feature

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

<223> Xaa (Pos 3,10) es un residuo de aminoácido;

10 <220>

<221> misc_feature

<222> (5,6,7,8,12 y)...(13)

<223> Xaa (Pos 5,6,7,8,12,13) son, cada uno de ellos independientemente, aminoácidos

<220>

15 <221> misc_feature

<222> (9)...(9)

<223> Xaa (Pos 9) es un residuo de aminoácido;

<400> 103

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

20

<210> 104

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Moduladores de TALL-1

30 <220>

<221> misc_feature

<222>(1,2,12,13, 16, 17 y)...(18)

<223> Xaa (Pos, 1,2,12,13,16,17,18) son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes;

35

<220>

<221> misc_feature

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

<223> Xaa (Pos 3) es un residuo ácido o amida;

<220>

<221> misc_feature

5 <222>(5 y)...(8)

<223> Xaa (Pos 5,8) es un residuo de aminoácido;

<220>

10 <221> misc_feature

<222>(6 y)...(6)

<223> Xaa (Pos 6) es un residuo aromático;

<220>

15 <221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> Xaa (Pos 10) es T o I;

<220>

20 <221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa (Pos 11) es un residuo básico;

<220>

25 <221> misc_feature

<222> (14)..(14)

<223> Xaa (Pos 14) es un residuo hidrófobo neutro;

<400> 104

Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Asp Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa

30

<210> 105

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Moduladores de TALL-1

<220>

<221> misc_feature

<222>(1,2 y)...(3)

<223> Xaa (Pos, 1,2,3) son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes;

5

<220>

<221> misc_feature

<222>(5,7,14 y)...(16)

10 <223> Xaa (Pos 5,7,14,16) es un residuo de aminoácido;

<220>

<221> misc_feature

<222> (9)..(9)

15 <223> Xaa (Pos 9) es T o I;

<220>

<221> misc_feature

20 <222> (10)..(10)

<223> Xaa (Pos 10) es un residuo básico;

<220>

<221> misc_feature

25 <222>(11 y)...(12)

<223> Xaa (Pos 11,12) son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos;

<220>

30 <221> misc_feature

<222>(13 y)...(17)

<223> Xaa (Pos 13, 17) es un residuo hidrófobo neutro;

<220>

35 <221> misc_feature

<222> (18)..(18)

<223> Xaa (Pos 18) es un residuo de aminoácido o está ausente;

<400> 105

Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Asp Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa

<210> 106

<213> 18

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Moduladores de TALL-1

10

<220>

<221> misc_feature

<222>(1,2,3,16, 17 y)...(18)

<223> Xaa (Pos, 1,2,3,16,17,18) son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes;

15

<220>

<221> misc_feature

<222>(5,6,7,10 y)...(14)

20 <223> Xaa (Pos 6,7,10,14) son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos;

<220>

<221> misc_feature

<222> (12)..(12)

25 <223> Xaa (Pos 12) es T o I;

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

30 <223> Xaa (Pos 13) es un residuo de aminoácido;

<400> 106

Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Trp Asp Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Cys Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa

<210> 107

- <213> 18
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- 5 <220>
<223> Moduladores de TALL-1
- <220>
<221> misc_feature
- 10 <222>(1,2,3,15,16,17)...(18)
<223> Xaa (Pos, 1,2,3,15,16,17,18) son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos o ausentes;
- 15 <220>
<221> misc_feature
<222>(5,6,7,9 y)...(13)
<223> Xaa (Pos 5,6,7,9,13) son, cada uno de ellos independientemente, residuos de aminoácidos;
- 20 <220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa (Pos 11) es T o I; y
- 25
<400> 107
Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Leu Xaa Lys Xaa Cys Xaa Xaa
1 5 10 15
Xaa Xaa
<210> 108
<213> 4
<212> PRT
- 30 <213> Secuencia artificial
- <220>
<223> Moduladores de TALL-1
- 35 <220>
<221> misc_feature
<222>(2)...(2)
<223> X en (Pos 2) es un residuo de aminoácido;

- <220>
 <221> misc_feature
 <222>(4)...(4)
 <223> X en (Pos 4) es treonilo o isoleucilo
- 5
- <400> 108**
- Asp Xaa Leu Xaa**
1
- <210> 109
 <213> 14
- 10 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- <220>
 <223> Moduladores de TALL-1
- 15
- <220>
 <221> misc_feature
 <222>(1,2 y)...(3)
 <223> X en (Pos,1,2,3) son residuos de aminoácidos o están ausentes (con uno de X1,X2, y X3 preferible para ser C cuando uno de x12,x13, y x14 es c);
- 20
- <220>
 <221> misc_feature
- 25 <222>(5)...(5)
 <223> X en (Pos 5) es W, Y, o F (W preferible);
- <220>
 <221> misc_feature
- 30 <222> (7)..(7)
 <223> X en (Pos 7) es un residuo de aminoácido (L preferible);
- <220>
 <221> misc_feature
- 35 <222> (9)..(9)
 <223> X en (Pos 9) es T o I (T preferible);
- <220>
- 40 <221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> X en (Pos 10) es K, R, o H (K preferible);

<220>

5 <221>Misc_feature

<222>(12)..(12)

<223> X en (Pos 12) es C, un residuo hidrófobo neutro, o un residuo básico (W,C, o R preferible);

<220>

10 <221>Misc_feature

<222>(13)..(13)

<223> X en (Pos 13) es C, un residuo hidrófobo neutro, o está ausente (V preferible);

15

<220>

<221>Misc_feature

<222>(14)..(14)

<223> X en (Pos 14) es cualquier residuo de aminoácido o está ausente;

20

<400> 109

Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Asp Xaa Leu Xaa Xaa Gln Xaa Xaa Xaa
1 5 10

25 <210> 110

<213> 5

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30 <220>

<223> Moduladores de TALL-1

<400> 110

Pro Phe Pro Trp Glu
1 5

<210> 111

35 <213> 248

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Peptidocuerpos inhibidores de TALL-1

<400> 111

Met	Pro	Gly	Thr	Cys	Phe	Pro	Phe	Pro	Trp	Glu	Cys	Thr	His	Ala	Gly
1				5					10					15	

Gly	Gly	Gly	Gly	Val	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala
			20					25					30		

5

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
35 40 45

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
50 55 60

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
65 70 75 80

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
85 90 95

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
100 105 110

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
115 120 125

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
130 135 140

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
145 150 155 160

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
165 170 175

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
180 185 190

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

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
210 215 220

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
225 230 235 240

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 112

<211> 248

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Moduladores de TALL-1

<220>

10 <223> Peptidocuerpos inhibidores de TALL-1

<400> 112

Met Trp Gly Ala Cys Trp Pro Phe Pro Trp Glu Cys Phe Lys Glu Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
20 25 30

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
35 40 45

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
50 55 60

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
65 70 75 80

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
85 90 95

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
100 105 110

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
115 120 125

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
130 135 140

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
145 150 155 160

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
165 170 175

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
180 185 190

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

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
210 215 220

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
225 230 235 240

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 113

<213> 248

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Peptidocuerpos inhibidores de TALL-1

10

<400> 113

Met Val Pro Phe Cys Asp Leu Leu Thr Lys His Cys Phe Glu Ala Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 20 25 30

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 35 40 45

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 50 55 60

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 65 70 75 80

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 85 90 95

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 100 105 110

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 115 120 125

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
130 135 140

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
145 150 155 160

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
165 170 175

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
180 185 190

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

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
210 215 220

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
225 230 235 240

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 114

<213> 252

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Peptidocuerpos inhibidores de TALL-1

<400> 114

Met Gly Ser Arg Cys Lys Tyr Lys Trp Asp Val Leu Thr Lys Gln Cys
1 5 10 15

Phe His His Gly Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
180 185 190

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

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245 250

<210> 115

<213> 252

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Peptidocuerpos inhibidores de TALL-1

<400> 115

Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys
 1 5 10 15

Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 180 185 190

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

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 245 250

<210> 116

<213> 252

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Peptidocuerpos inhibidores de TALL-1

10

<400> 116

Met Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Cys
 1 5 10 15

Thr Ser Ser Gly Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg

145		150		155		160									
Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly
				165					170					175	
Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro
			180					185					190		
Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser
		195					200					205			
Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln
	210					215					220				
Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His
225					230					235					240
Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys				
				245					250						

<210> 117

<213> 252

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Peptidocuerpos inhibidores de TALL-1

<400> 117

Met Ser Asp Asp Cys Met Tyr Asp Gln Leu Thr Arg Met Phe Ile Cys
1 5 10 15

Ser Asn Leu Gly Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
180 185 190

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

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245 250

<210> 118

<213> 252

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Peptidocuerpos inhibidores de TALL-1

<400> 118

Met	Asp	Leu	Asn	Cys	Lys	Tyr	Asp	Glu	Leu	Thr	Tyr	Lys	Glu	Trp	Cys
1				5					10					15	

Gln Phe Asn Gly Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
180 185 190

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

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245 250

<210> 119

<213> 252

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Peptidocuerpos inhibidores de TALL-1

10

<400> 119

Met Phe His Asp Cys Lys Tyr Asp Leu Leu Thr Arg Gln Met Val Cys
1 5 10 15

His Gly Leu Gly Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
180 185 190

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

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245 250

<210> 120

<213> 252

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Peptidocuerpos inhibidores de TALL-1

10

<400> 120

Met Arg Asn His Cys Phe Trp Asp His Leu Leu Lys Gln Asp Ile Cys
1 5 10 15

Pro Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
180 185 190

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

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245 250

<210> 121

<213> 252

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Peptidocuerpos inhibidores de TALL-1

<400> 121

Met Ala Asn Gln Cys Trp Trp Asp Ser Leu Thr Lys Lys Asn Val Cys
 1 . 5 10 15

Glu Phe Phe Gly Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe

35	40	45
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val		
50	55	60
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe		
65	70	75 80
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro		
	85	90 95
Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr		
	100	105 110
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val		
	115	120 125
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala		
	130	135 140
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg		
145	150	155 160
Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly		
	165	170 175
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro		
	180	185 190
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser		
	195	200 205
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln		
	210	215 220
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His		
225	230	235 240
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
	245	250
<210> 122		
<211> 252		

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Peptidocuerpos inhibidores de TALL-1

5

<400> 122

Met Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys
1 5 10 15

His Gly Leu Gly Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser

195	200	205
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln		
210	215	220
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His		
225	230	235 240
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
245	250	

<21

0> 1123

<213> 293

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Peptidocuerpos inhibidores de TALL-1

<400> 123

Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys
 1 5 10 15

Asp Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala
 20 25 30

Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp
 35 40 45

Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly
 50 55 60

Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
 65 70 75 80

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 85 90 95

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 100 105 110

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 115 120 125

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

<210> 124

<213> 293

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Peptidocuerpos inhibidores de TALL-1

His Gly Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala
20 25 30

Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Met Phe His Asp Cys Lys Trp
35 40 45

Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys His Gly Leu Gly Gly Gly Gly
50 55 60

Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
65 70 75 80

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
85 90 95

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
100 105 110

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
115 120 125

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
130 135 140

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
145 150 155 160

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
165 170 175

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
180 185 190

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
195 200 205

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
210 215 220

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
225 230 235 240

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
245 250 255

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
260 265 270

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
275 280 285

Leu Ser Pro Gly Lys
290

<210> 125

5 <213> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Secuencia de consenso

<220>

<221> misc_feature

15 <222>(1,2 y)...(3)

<223> X en (Pos,1,2,3) son residuos de aminoácidos o están ausentes (con uno de X1,X2, y X3 preferible para ser C cuando uno de x12,x13, y x14 es C);

<220>

20 <221> misc_feature

<222>(7)...(7)

<223> X en (Pos 7) es un residuo de aminoácido (L preferible);

<220>

25 <221> misc_feature

<222>(9)...(9)

<223> X en (Pos 9) es T o I (T preferible);

<220>

30 <221> misc_feature

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

<223> X en (Pos 12) es C, un residuo hidrófobo neutro o básico (preferible);

<220>

<221> misc_feature

5 <222>(13)...(13)

<223> X en (Pos 13) es C, un residuo hidrófobo neutro, o está ausente (V preferible);

<220>

<221> misc_feature

10 <222>(14)...(14)

<223> X en (Pos 14) es cualquier residuo de aminoácido o está ausente;

Xaa Xaa Xaa Lys Trp Asp Xaa Leu Xaa Lys Gln Xaa Xaa Xaa
1 5 10

15

<210> 126

<213> 18

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

25

<400> 126

Tyr Lys Gly Arg Gln Met Trp Asp Ile Leu Thr Arg Ser Trp Val Val
1 5 10 15

Ser Leu

30

<210> 127

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 127

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

Asn Ile

<210> 128

5 <213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 128

Gln Asn Ala Gln Arg Val Trp Asp Leu Leu Ile Arg Thr Trp Val Tyr

1 5 10 15

Pro Gln

15 <210> 129

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 129

Gly Trp Asn Glu Ala Trp Trp Asp Glu Leu Thr Lys Ile Trp Val Leu
1 5 10 15

25 Glu Gln

<210> 130

<213> 18

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 130

Arg Ile Thr Cys Asp Thr Trp Asp Ser Leu Ile Lys Lys Cys Val Pro
1 5 10 15

Gln Ser

<210> 131

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 131

Gly Ala Ile Met Gln Phe Trp Asp Ser Leu Thr Lys Thr Trp Leu Arg
1 5 10 15

Gln Ser

<210> 132

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 132

Trp Leu His Ser Gly Trp Trp Asp Pro Leu Thr Lys His Trp Leu Gln
1 5 10 15

Lys Val

<210> 133

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 133

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

Phe Arg

<210> 134

<213> 18

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

10

<400> 134

Gly Val Trp Phe Trp Trp Phe Asp Pro Leu Thr Lys Gln Trp Thr Gln
1 5 10 15

Ala Gly

<210> 135

<213> 18

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 135

Met Gln Cys Lys Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Lys Trp Cys Val Thr
1 5 10 15

20 Asn Gly

<210> 136

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 136

Leu Trp Ser Lys Glu Val Trp Asp Ile Leu Thr Lys Ser Trp Val Ser
1 5 10 15

Gln Ala

<210> 137

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 137

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

Ala Pro

10

<210> 138

<213> 18

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 138

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

20 Thr Thr

<210> 139

<213> 18

25 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

30

<400> 139

Ser Gly Gln His Phe Trp Trp Asp Leu Leu Thr Arg Ser Trp Thr Pro
1 5 10 15

Ser Thr

<210> 140

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 140

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

Arg Gly

<210> 141

10 <213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 141

Val Gly Lys Met Cys Gln Trp Asp Pro Leu Ile Lys Arg Thr Val Cys
1 5 10 15

Val Gly

<210> 142

<213> 18

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

25

<400> 142

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

Gly Arg

<210> 143

<213> 18

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

5

<400> 143

Gly Gln Ala Ile Arg His Trp Asp Val Leu Thr Lys Gln Trp Val Asp
1 5 10 15

Ser Gln

<210> 144

<213> 18

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

15

<400> 144

Arg Gly Pro Cys Gly Ser Trp Asp Leu Leu Thr Lys His Cys Leu Asp
1 5 10 15

Ser Gln

<210> 145

<213> 18

<212> PRT

20

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 145

Trp Gln Trp Lys Gln Gln Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Met Val Trp
1 5 10 15

Val Gly

25

<210> 146

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 146

Pro Ile Thr Ile Cys Arg Lys Asp Leu Leu Thr Lys Gln Val Val Cys
1 5 10 15

Leu Asp

<210> 147

<213> 18

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

10

<400> 147

Lys Thr Cys Asn Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Leu Gln

1 5 10 15

Gln Ala

<210> 148

<213> 18

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 148

Lys Cys Leu Lys Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Val Thr
1 5 10 15

20 Glu Val

<210> 149

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 149

Arg Cys Trp Asn Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Ile His
1 5 10 15

Pro Trp

<210> 150

<213> 18

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 150

10 Asn Arg Asp Met Arg Lys Trp Asp Pro Leu Ile Lys Gln Trp Ile Val
1 5 10 15

Arg Pro

<210> 151

15 <213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 151

Gln Ala Ala Ala Ala Thr Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Leu Val
1 5 10 15

Pro Pro

<210> 152

25 <213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

30 <223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 152

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

Pro Val

<210> 152

<213> 18

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 152

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

Pro Val

10

<210> 153

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 153

Gln Thr Pro Gln Lys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Phe Thr
1 5 10 15

Arg Asn

20

<210> 154

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 154

Ile Gly Ser Pro Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Met Ile Cys
1 5 10 15

Gln Thr

<210> 155

<213> 18

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 155

Cys Thr Ala Ala Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Ile Gln
1 5 10 15

10 Glu Lys

<210> 156

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 156

Val Ser Gln Cys Met Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Leu Gln
1 5 10 15

Gly Trp

20

<210> 157

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 157

Val Trp Gly Thr Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Tyr Leu Pro
1 5 10 15

Pro Gln

<210> 158

<213> 18

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 158

Gly Trp Trp Glu Met Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Tyr Arg
1 5 10 15

Pro Gln

10

<210> 159

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 159

Thr Ala Gln Val Ser Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Leu Pro
1 5 10 15

Leu Ala

<210> 160

20

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 160

Gln Leu Trp Gly Thr Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Tyr Ile Gln
1 5 10 15

Ile Met

<210> 161

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 161

Trp Ala Thr Ser Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Gln
1 5 10 15

Asn Met

<210> 162

10 <213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 162

Gln Arg Gln Cys Ala Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Val Leu
1 5 10 15

Phe Tyr

<210> 163

<213> 18

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

25

<400> 163

Lys Thr Thr Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Arg Ile Cys
1 5 10 15

Gln Val

<210> 164

<213> 18

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 164

Leu Leu Cys Gln Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Leu Lys
1 5 10 15

Leu Arg

<210> 165

5 <213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 165

Leu Met Trp Phe Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Leu Val Pro
1 5 10 15

Thr Phe

<210> 166

<213> 18

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

20

<400> 166

Gln Thr Trp Ala Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile Gly

1 5 10 15

Pro Met

<210> 167

<213> 18

25 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

30

<400> 167

Asn Lys Glu Leu Leu Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Arg Gly
1 5 10 15

Arg Ser

<210> 168

<213> 18

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

10

<400> 168

Gly Gln Lys Asp Leu Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Tyr Val Arg
1 5 10 15

Gln Ser

<210> 169

<213> 18

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 169

Pro Lys Pro Cys Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Leu Gly
1 5 10 15

20

Ser Val

<210> 170

<213> 18

25 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

30

<400> 170

Gly Gln Ile Gly Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile Gln
1 5 10 15

Thr Arg

<210> 171

<213> 18

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

Val Trp Leu Asp Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile His
1 5 10 15

Pro Gln

10

<210> 172

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 172

Gln Glu Trp Glu Tyr Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Gly Trp
1 5 10 15

Leu Arg

20

<210> 173

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 173

His Trp Asp Ser Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Val
1 5 10 15

Gln Ala

<210> 174

<213> 18

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 174

Thr	Arg	Pro	Leu	Gln	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Leu	Arg
1				5					10					15	

10 Val Gly

<210> 175

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 175

Ser	Asp	Gln	Trp	Gln	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Phe	Trp
1				5					10					15	

Asp Val

20

<210> 176

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 176

Gln	Gln	Thr	Phe	Met	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Thr	Lys	Gln	Trp	Ile	Arg
1				5					10					15	

Arg His

30

<210> 177

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 177

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

Gly Gln

<210> 178

<213> 18

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

15

<400> 178

Gly Gln Met Gly Trp Arg Trp Asp Pro Leu Ile Lys Met Cys Leu Gly
1 5 10 15

Pro Ser

<210> 179

<213> 18

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 179

Gln Leu Asp Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Lys Val Cys
1 5 10 15

25 Ile Pro

<210> 180

<213> 18

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 180

His Gly Tyr Trp Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Ser
1 5 10 15

Ser Glu

5 <210> 181

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 181

His Gln Gly Gln Cys Gly Trp Asp Leu Leu Thr Arg Ile Tyr Leu Pro
1 5 10 15

Cys His

<210> 182

15 <213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 182

Leu His Lys Ala Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Trp Pro
1 5 10 15

Met Gln

<210> 183

<213> 18

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 183

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

Thr Gly

<210> 184

5 <213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 184

Ile Thr Gln Asp Trp Arg Phe Asp Thr Leu Thr Arg Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Leu Arg

<210> 185

<213> 18

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

20

<400> 185

Gln Gly Gly Phe Ala Ala Trp Asp Val Leu Thr Lys Met Trp Ile Thr

1

5

10

15

Val Pro

25 <210> 186

<213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30 <220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 186

Gly His Gly Thr Pro Trp Trp Asp Ala Leu Thr Arg Ile Trp Ile Leu
1 5 10 15

Gly Val

<210> 187

5 <213> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 187

Val Trp Pro Trp Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Phe Val Phe
1 5 10 15

Gln Asp

<210> 188

<213> 19

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

20

<400> 188

Trp Gln Gln Trp Ser Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Arg Gln Tyr Ile
1 5 10 15

Ser Ser Ser

<210> 189

25 <213> 882

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

30 <223> Dominios de modulación de TALL-1 preferibles

<400> 189
 atgcttccag gctgcaagtg ggatcttctt attaagcaat gggatatgca tccacttgga 60
 tccggttctg ctactggtgg ttccggctcc accgcaagct ctgggttcagg cagtgcgact 120
 catatgctgc cgggttgtaa atgggacctg ctgatcaaac agtggggttg tgacccgctg 180
 ggtggaggcg gtgggggtcg caaaactcac acatgtccac cttgtccagc tccggaactc 240
 ctgggggggac cgtcagtctt cctcttcccc caaaaccca aggacaccct catgatctcc 300
 cggaccctg aggtcacatg cgtgggtggtg gacgtgagcc acgaagacc tgaggtaag 360
 ttcaactggt acgtggacgg cgtggagggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 420
 cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg 480
 aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa 540
 accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gcccccatcc 600
 cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaaagg cttctatccc 660
 agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg 720
 cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag 780
 agcagggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcattgaggc tctgcacaac 840
 cactacacgc agaagagcct ctccctgtct cggggtaaat aa 882

<210> 190

<213> 23

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Enlazador preferible

10

<400> 190

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly
 1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr Gly Met
 20

15 <210> 191

<213> 23

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Enlazador preferible

<400> 191

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr Gly Ser
20

5

<210> 192

<213> 46

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Enlazador preferible

<400> 192

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr His Met Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Met
35 40 45

15

<210> 193

<213> 23

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Enlazador preferible

<220>

25 <221>misc_feature

<222> (22)..(23)

<223> X en (Pos 22) es independientemente un residuo hidrófobo o básico, y

X en (Pos 23) es independientemente un residuo hidrófobo.

<400> 193

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr Xaa Xaa
20

<210> 191

<213> 23

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Enlazador preferible

10 <220>

<221>misc_feature

<222> (22, 23, 45 y)..(46)

<223> X en (Pos 22) y (pos 45) son, cada uno de ellos independientemente, residuos hidrófobos o básicos, y X en (Pos 23) y (Pos 46) son, cada uno de ellos independientemente, residuos hidrófobos.

15

<400> 194

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr Xaa Xaa Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Xaa Xaa
35 40 45

<210> 195

<213> 38

<212> PRT

20 <213> Humano

<400> 195

Met Arg Arg Gly Pro Arg Ser Leu Arg Gly Arg Asp Ala Pro Val Pro
1 5 10 15

Thr Pro Cys Val Pro Thr Glu Cys Tyr Asp Leu Leu Val Arg Lys Cys
20 25 30

Val Asp Cys Arg Leu Leu
35

<210> 196

25 <213> 23

<212> PRT

<213> Humano

<400> 196

Thr Ile Cys Asn His Gln Ser Gln Arg Thr Cys Ala Ala Phe Cys Arg
1 5 10 15

Ser Leu Ser Cys Arg Lys Glu Gln Gly Lys Phe Tyr Asp His Leu Leu
20 25 30

Arg Asp Cys Ile Ser Cys Ala Ser Ile
35 40

5 <210> 197

<213> 42

<212> PRT

<213> Humano

<400> 197

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

Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser Leu Leu
20 25 30

His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys
35 40

10

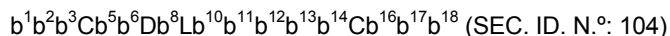
15

20

25

REIVINDICACIONES

1. Una composición objeto del presente que comprende una secuencia de aminoácidos de la fórmula



5 donde:

b^1 y b^2 , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente;

b^3 es D, Q o E;

b^5 es un residuo de aminoácido;

b^6 es W o Y;

10 b^8 es un residuo de aminoácido;

b^{10} es T;

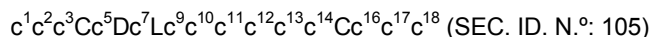
b^{11} es K o R;

b^{12} y b^{13} , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido;

b^{14} es V o L; y

15 b^{16} , b^{17} y b^{18} , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente.

2. Una composición objeto del presente que comprende una secuencia de aminoácidos de la fórmula



donde:

20 c^1 , c^2 y c^3 , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente;

c^5 es un residuo de aminoácido;

c^7 es un residuo de aminoácido;

c^9 es T;

c^{10} es K o R;

25 c^{11} y c^{12} , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido;

c^{13} es I, L o V;

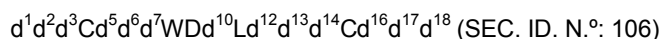
c^{14} es un residuo de aminoácido;

c^{16} es un residuo de aminoácido;

c^{17} es A o L; y

30 c^{18} es un residuo de aminoácido o está ausente.

3. Una composición objeto del presente que comprende una secuencia de aminoácidos de la fórmula



35 donde:

d^1 , d^2 y d^3 , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente;

d^5 , d^6 y d^7 , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido;

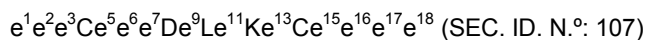
d^{10} es T o I;

d^{13} es un residuo de aminoácido;

40 d^{14} es un residuo de aminoácido; y

d^{16} , d^{17} y d^{18} , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente.

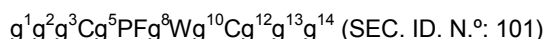
4. Una composición objeto del presente que comprende una secuencia de aminoácidos de la fórmula



donde:

- 5 e^1 , e^2 y e^3 , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente;
 e^5 , e^6 , e^7 , e^9 y e^{13} , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido;
 e^{11} es T o I; y
 e^{15} , e^{16} , e^{17} y e^{18} , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente.

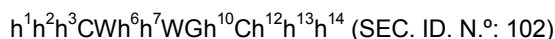
10 5. Una composición objeto del presente que comprende una secuencia de aminoácidos de la fórmula



donde:

- g^1 y g^3 , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente;
 g^2 es G;
15 g^5 es W;
 g^8 es P;
 g^{10} es E;
 g^{12} es un residuo de aminoácido;
 g^{13} es un residuo básico; y
20 g^{14} es un residuo de aminoácido o está ausente.

6. Una composición objeto del presente que comprende una secuencia de aminoácidos de la fórmula



donde:

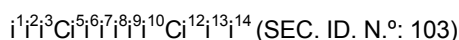
- 25 h^1 , h^2 y h^3 , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente;
 h^6 es un residuo hidrófobo;
 h^7 es un residuo hidrófobo;
 h^{10} es un residuo hidrófobo ácido o polar; y
 h^{12} , h^{13} y h^{14} , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente.

30

7. La composición objeto de la reivindicación 6, donde:

- h^1 es G;
 h^6 es A;
 h^7 es un residuo hidrófobo neutro; y
35 h^{10} es un residuo ácido.

8. Una composición objeto del presente que comprende una secuencia de aminoácidos de la fórmula



donde:

- 40 i^1 está ausente o es un residuo de aminoácido;
 i^2 es residuo W;

i^3 es un residuo de aminoácido;

i^5 , i^6 , i^7 e i^8 , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido;

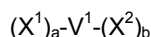
i^9 es un residuo ácido;

i^{10} es un residuo de aminoácido;

5 i^{12} e i^{13} , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido; y

i^{14} es residuo W.

9. Una composición objeto del presente que tiene la fórmula



10 y multímeros de la misma, donde:

V_1 es una molécula que evita la degradación y/o aumenta la vida media, reduce la toxicidad, reduce la inmunogenicidad, o aumenta la actividad biológica de una proteína terapéutica;

X^1 y X^2 se seleccionan, cada uno de ellos independientemente, de entre $-(L^1)_c-P^1$, $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2$, $-(L^1)_c-P^1$, $-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3$, $-(L^1)_c-P^1$, $-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3$, $-(L^4)_f-P^4$,

15 uno o varios de P^1 , P^2 , P^3 y P^4 comprenden, cada uno de ellos independientemente, una secuencia seleccionada de entre

$a^1a^2a^3CDa^6La^8a^9a^{10}Ca^{12}a^{13}a^{14}$ (SEC. ID. N.º: 100),

$b^1b^2b^3Cb^5b^6Db^8Lb^{10}b^{11}b^{12}b^{13}b^{14}Cb^{16}b^{17}b^{18}$ (SEC. ID. N.º: 104),

$c^1c^2c^3Cc^5Dc^7Lc^9c^{10}c^{11}c^{12}c^{13}c^{14}Cc^{16}c^{17}c^{18}$ (SEC. ID. N.º: 105),

20 $d^1d^2d^3Cd^5d^6d^7WDd^{10}Ld^{12}d^{13}d^{14}Cd^{16}d^{17}d^{18}$ (SEC. ID. N.º: 106),

$e^1e^2e^3Ce^5e^6e^7De^9Le^{11}Ke^{13}Ce^{15}e^{16}e^{17}e^{18}$ (SEC. ID. N.º: 107),

$g^1g^2g^3Gg^5PFG^8Wg^{10}Gg^{12}g^{13}g^{14}$ (SEC. ID. N.º: 101),

$h^1h^2h^3CWh^6h^7Wgh^{10}Ch^{12}h^{13}h^{14}$ (SEC. ID. N.º: 102) y

$i^{1,2,3}Ci^{5,6,7,8,9,10}Ci^{12,13,14}$ (SEC. ID. N.º: 103)

25 donde

a^1 , a^2 y a^3 , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente;

a^6 es un residuo de aminoácido;

a^9 es un residuo básico o hidrófobo;

a^8 es treonilo o isoleucilo;

30 a^{10} es un residuo de aminoácido;

a^{12} es un residuo hidrófobo neutro;

a^{13} y a^{14} , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente;

b^1 y b^2 , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente;

b^3 es un residuo ácido o de amida;

35 b^5 es un residuo de aminoácido;

b^6 es un residuo aromático;

b^8 es un residuo de aminoácido;

b^{10} es T o I;

b^{11} es un residuo básico;

40 b^{12} y b^{13} , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido;

b^{14} es un residuo hidrófobo neutro;

b^{16} , b^{17} y b^{18} , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente;

c^1 , c^2 y c^3 , cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente;

- c⁵ es un residuo de aminoácido;
c⁷ es un residuo de aminoácido;
c⁹ es T o I;
c¹⁰ es un residuo básico;
5 c¹¹ y c¹², cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido;
c¹³ es un residuo hidrófobo neutro;
c¹⁴ es un residuo de aminoácido;
c¹⁶ es un residuo de aminoácido;
c¹⁷ es un residuo hidrófobo neutro;
10 c¹⁸ es un residuo de aminoácido o está ausente;
d¹, d² y d³, cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente;
d⁵, d⁶ y d⁷, cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido;
d¹⁰ es un residuo de aminoácido;
d¹² es T o I;
15 d¹³ es un residuo de aminoácido;
d¹⁶, d¹⁷ y d¹⁸, cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente.
e¹, e² y e³, cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente;
e⁵, e⁶, e⁷, e⁹ y e¹³, cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido;
e¹¹ es T o I;
20 e¹⁵, e¹⁶, e¹⁷ y e¹⁸, cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente;
g¹, g² y g³, cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente;
g⁵ es un residuo hidrófobo neutro;
g⁸ es un residuo hidrófobo neutro;
g¹⁰ es un residuo ácido;
25 g¹² y g¹³, cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido; y
g¹⁴ es un residuo de aminoácido o está ausente.
h¹, h² y h³, cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente;
h⁶ es un residuo hidrófobo;
h⁷ es un residuo hidrófobo;
30 h¹⁰ es un residuo hidrófobo ácido o polar;
h¹², h¹³ y h¹⁴, cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido o está ausente;
i¹ está ausente o es un residuo de aminoácido;
i² es un residuo hidrófobo neutro;
i³ es un residuo de aminoácido;
35 i⁵, i⁶, i⁷ e i⁸, cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido;
i⁹ es un residuo ácido;
i¹⁰ es un residuo de aminoácido;
i¹² e i³, cada uno de ellos independientemente, es un residuo de aminoácido; y
i¹⁴ es un residuo hidrófobo neutro;
40 L¹, L², L³ y L⁴ son cada uno de ellos independientemente, enlazadores; y
a, b, c, d, e y f son, cada uno de ellos independientemente, 0 o 1, siempre que al menos uno de a o b sea 1.

10. La composición objeto de la reivindicación 9 de la fórmula

$$P^1-(L^1)_c-P^2-(L^2)_d-V^1.$$

5 11. La composición objeto de la reivindicación 9 de la fórmula

$$V^1-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2.$$

12. La composición objeto de la reivindicación 9, donde V^1 es un dominio Fc.

10 13. La composición objeto de la reivindicación 9, donde V^1 es un dominio Fc de IgG.

14. La composición objeto de la reivindicación 9, donde V^1 es un dominio Fc de IgGl.

15. La composición objeto de la reivindicación 9, donde V^1 comprende la secuencia de SEC. ID. N.º: 2.

15

16. La composición objeto de la reivindicación 9, donde:

a^9 es un residuo básico.

b^3 es D, QW o E;

b^6 es W o Y;

20 b^{11} es K o R;

b^{14} es V o L;

c^{10} es K o R;

c^{13} es I, L o V; y

c^{17} es A o L.

25

17. La composición objeto de la reivindicación 9, donde L^2 es mayor que 5 aminoácidos.

18. La composición objeto de la reivindicación 17, donde L^2 se selecciona de entre

GGSGSATGGSGSTASSGSGSAT x^1x^2 (SEC. ID. N.º: 193)

30 y

GGSGSATGGSGSTASSGSGSAT x^1x^2 GGSGSATGGSGSTASSGSGSAT x^3x^4 (SEC. ID. N.º: 194)

donde x^1 y x^3 son, cada uno de ellos independientemente, un residuo básico o hidrófobo y x^2 y x^4 son, cada uno de ellos independientemente, un residuo hidrófobo.

35 19. La composición objeto de la reivindicación 17, donde L^2 se selecciona de entre

GGSGSATGGSGSTASSGSGSATH (SEC. ID. N.º: 59),

GGSGSATGGSGSTASSGSGSATGM (SEC. ID. N.º: 190),

GGSGSATGGSGSTASSGSGSATGS (SEC. ID. N.º: 191), y

GGSGSATGGSGSTASSGSGSATHMGSGSATGGSGSTASSGSGSATHM (SEC. ID. N.º: 192).

40

20. La composición objeto de la reivindicación 9 que comprende una secuencia seleccionada de la tabla 2 (SEC. ID. N.º: 29-39, 60-70 y 126-188).

21. La composición objeto de la reivindicación 9 que comprende una secuencia seleccionada de la tabla 4 (SEC. ID. N.º: 44-55).

5 22. Un ADN que codifica una composición objeto de la reivindicación 9.

23. Un vector de expresión que comprende el ADN de la reivindicación 22.

24. Una célula hospedadora que comprende el vector de expresión de la reivindicación 23.

10

25. La célula de la reivindicación 24, donde la célula es una célula de E. coli.

26. Una composición objeto de cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 8 para el uso en un método de tratamiento de una enfermedad autoinmune mediada por células B, que comprende la administración de dicha composición.

15

27. Una composición objeto de la reivindicación 26 para el uso en un método de tratamiento del lupus, que comprende la administración de dicha composición.

20

28. Una composición objeto de cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 8 para el uso en un método de tratamiento de un cáncer mediado por células B, que comprende la administración de dicha composición.

29. Una composición objeto de la reivindicación 28 para el uso en un método de tratamiento de linfoma de células B, que comprende la administración de dicha composición.

25

FIG. 1

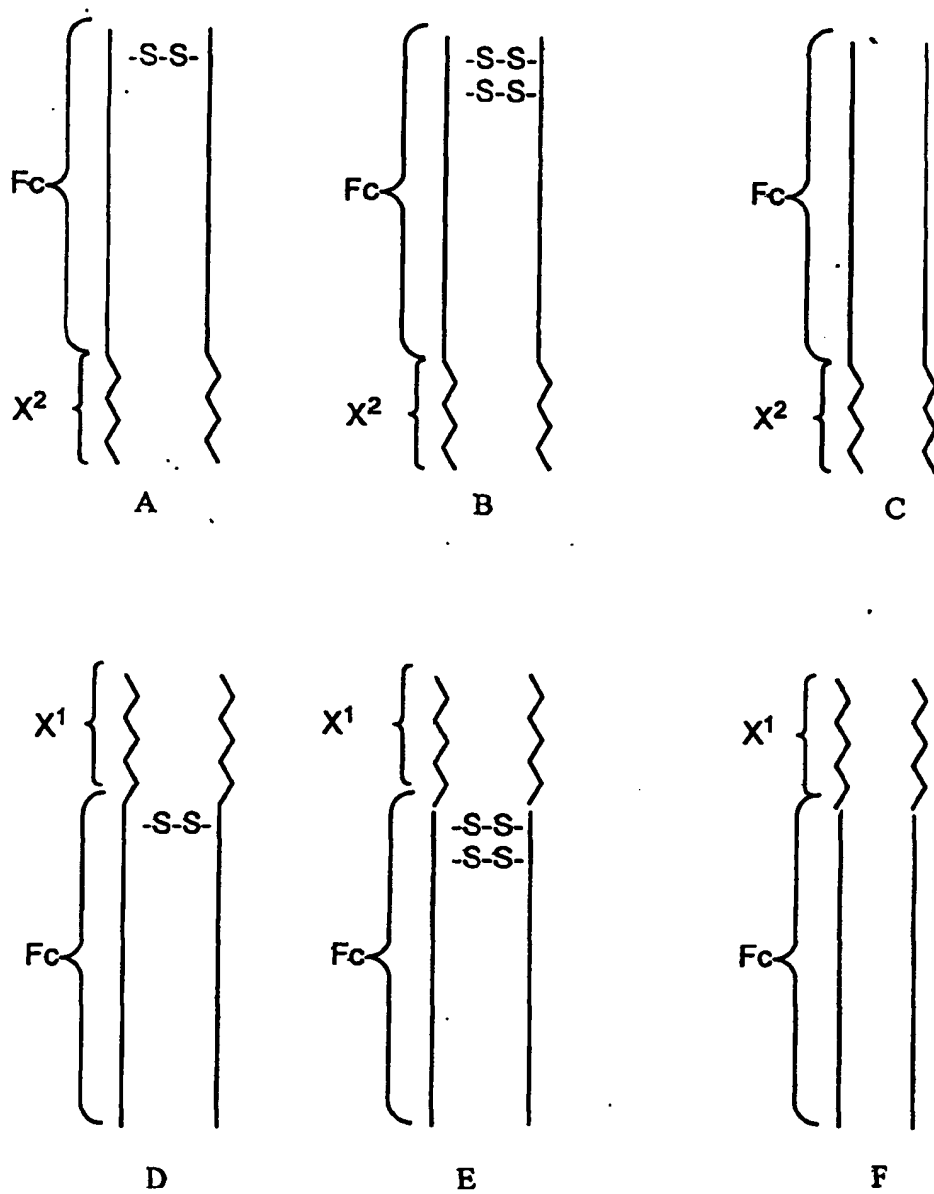


FIG. 2

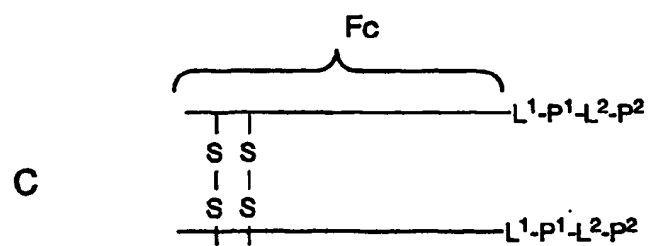
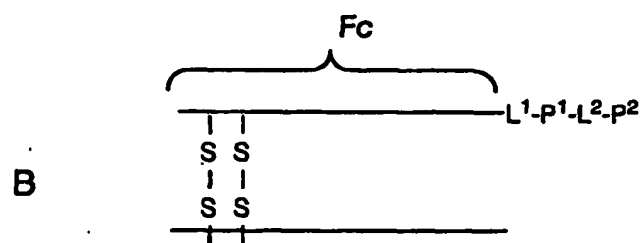
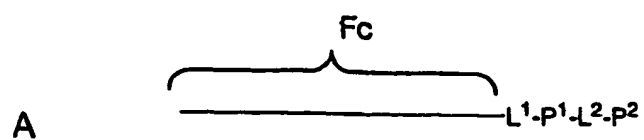


FIG. 3

```

1  ATGGACAAAAC TCACACATGTCCACCTTGTCAGCTCCGGAAC TCCTGGGGGGACCGTCA
   -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
a  TACCTGTTTGTAGTGTGTACAGGTGGAACAGGTTCGAGGCCTTGAGGACCCCTGCGCAGT   60
   M D K T H T C P P C P A P E L L G G P S -
   GTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTC
61 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
   CAGAAGGAGAAGGGGGGTTTGGGTTCTGTGGGAGTACTAGAGGGCCTGGGGACTCCAG   120
a  V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V -
   ACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG
121 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
   TGTACGCACCAACCTGCACCTCGGTGCTTCTGGGACTCCAGTTCAAGTTGACCATGCAC   180
a  T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V -
   GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACG
181 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
   CTGCCGCACCTCCACGTATTACGGTTCTGTTTCGGCGCCCTCCTCGTCATGTTGTCGTGC   240
a  D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T -
   TACCGTGTGGTTCAGCGTCTCACCCTCCTGCACCAAGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC
241 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
   ATGGCACACCAAGTCGCAGGAGTGGCAGGACGTGGTCTGACCGACTTACCGTCTCTCATG   300
a  Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y -
   AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATOGAGAAAACCATCTCCAAGCC
301 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
   TTCAGTTCCAGAGGTGTTTTCGGGAGGGTCGGGGGTAGCTCTTTTGGTAGAGGTTTCGG   360
a  K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A -
   AAAGGGCAGCCCCGAGAAOCACAGGTGTACACCCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACC
361 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
   TTTCCCGTCGGGGCTCTTGGTGTCCACATGTGGGACGGGGGTAGGGCCCTACTCGACTGG   420
a  K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T -
   AAGAACCAGGTTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTG
421 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
   TTCTTGGTCCAGTCGGACTGGACGGACAGTTTCCGAAGATAGGGTCGCTGTAGCGGCAC   480
a  K N Q V S L T C L V K G P Y P S D I A V -
   GAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGAC
481 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
   CTCACCTCTCTGTTACCCGTGCGCCTCTGTGTGATGTTCTGGTGGGAGGGCAGGACCTG   540
a  E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D -
   TCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG
541 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
   AGGCTGCCGAGGAAGAAGGAGATGTCGTTCGAGTGGCACCTGTTCTCGTCCAGCGTCGTC   600
a  S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q -
   GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACAGGCAGAAG
601 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
   CCCTTGCAGAAGAGTACGAGGCACTACGTACTCCGAGAGGTGTGGTGTATGTGCGTCTTC   660
a  G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K -
   AGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
661 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
   TCGGAGAGGGACAGAGGCCCATTT   684
a  S L S L S P G K

```

FIG. 4A

1) AGP3-8-1-a

NdeI
|
TATGCCGGGTACTTGTTTCCCGTTCCCGTGGGAATGCACTCACGCTGGTGGAGGCGGT
1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
GGCCCATGAACAAAGGGCAAGGGCACCCCTTACGTGAGTGCGACCACCTCCGCCA

a M P G T C F P F P W E C T H A G G G G -

SalI
|
GGGG
61 ----- 69
CCCCAGCT

a G V D -

2) AGP3-8-2-a

NdeI
|
TATGTGGGGTGCTTGTTGGCCGTTCCCGTGGGAATGTTTCAAAGAAGGTGGAGGCGGT
1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
ACACCCACGAACAACCGGCAAGGGCACCCCTTACAAAGTTTCTTCCACCTCCGCCA

a M W G A C W P F P W E C F K E G G G G -

SalI
|
GGGG
61 ----- 69
CCCCAGCT

a G V D -

FIG. 4B

3) AGP3-8-4-a

NdeI
|
TATGGTTCCGTTCTGTGACCTGCTGACTAAACACTGTTTCGAAGCTGGTGGAGGCGGT
1 -----+-----+-----+-----+-----+ 60
ACCAAGGCAAGACACTGGACGACTGATTTGTGACAAAGCTTCGACCACCTCCGCCA

a M V P F C D L L T K H C F E A G G G G -

SalI
|
GGGG
61 ----- 69
CCCCAGCT

a G V D -

4) AGP3-12-4-a

November 6, 2000 12:53 ..

NdeI
|
TATGGGTTCTCGTTGTAAATACAAATGGGACGTTCTGACTAAACAGTGTTCACCAC
1 -----+-----+-----+-----+-----+ 60
ACCCAAGAGCAACATTTATGTTTACCCTGCAAGACTGATTTGTCACAAAGGTGGTG

a M G S R C K Y K W D V L T K Q C F H H -

SalI
|
GGTGGAGGCGGTGGGG
61 -----+-----+ 81
CCACCTCCGCCAGCCCAGCT

a G G G G G V D -

FIG. 4C

5) AGP3-12-3-a

NdeI

|

TATGCTGCCGGGTTGTAAATGGGACCTGCTGATCAAACAGTGGGTTTGTGACCCGCTG

1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60

ACGACGGCCCAACATTTACCCTGGACGACTAGTTTGTTCACCCAAACACTGGGCGAC

a M L P G C K W D L L I K Q W V C D P L -

SalI

|

GGTGGAGGCGGTGGGG

61 -----+-----+----- 81

CCACCTCCGCCACCCAGCT

a G G G G G V D -

6) AGP3-12-5-a

NdeI

|

TATGTCTGCTGACTGTTACTTCGACATCCTGACTAAATCTGACGTTTGTACTTCTTCT

1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60

ACAGACGACTGACAATGAAGCTGTAGGACTGATTTAGACTGCAAACATGAAGAAGA

a M S A D C Y F D I L T K S D V C T S S -

SalI

|

GGTGGAGGCGGTGGGG

61 -----+-----+----- 81

CCACCTCCGCCACCCAGCT

a G G G G G V D -

FIG. 4D

7) AGP3-12-8-a

NdeI

|

TATGTCTGACGACTGTATGTACGACCAGCTGACTCGTATGTTTCATCTGTTCTAACCTG

1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60

ACAGACTGCTGACATACATGCTGGTCGACTGAGCATACAAGTAGACAAGATTGGAC

a M S D D C M Y D Q L T R M F I C S N L -

SalI

|

GGTGGAGGCGGTGGGG

61 -----+-----+-----+-----+-----+ 81

CCACCTCGGCCACCCAGCT

a G G G G G V D -

8) AGP3-12-9-a

NdeI

|

TATGGACCTGAACTGTAAATACGACGAACTGACTTACAAAGAATGGTGTCAAGTTCAAC

1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60

ACCTGGACTTGACATTTATGCTGCTTGACTGAATGTTTCTTACCACAGTCAAGTTG

a M D L N C K Y D E L T Y K E W C Q F N -

SalI

|

GGTGGAGGCGGTGGGG

61 -----+-----+-----+-----+-----+ 81

CCACCTCGGCCACCCAGCT

a G G G G G V D -

FIG. 4E

9) AGP3-12-10-a

NdeI

|

TATGTTCCACGACTGTAAATACGACCTGCTGACTCGTCAGATGGTTTGTCACGGTCTG

1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60

ACAAGGTGCTGACATTTATGCTGGACGACTGAGCAGTCTACCAAACAGTGCCAGAC

a M F H D C K Y D L L T R Q M V C H G L -

Sali

|

GGTGGAGGCGGTGGGG

61 -----+-----+ 81

CCACCTCCGCCACCCCAGCT -

a G G G G G V D -

10) AGP3-12-11-a

NdeI

|

TATGCGTAACCACTGTTTCTGGGACCACCTGCTGAAACAGGACATCTGTCCGTCTCCG

1 -----+-----+-----+-----+-----+ 60

ACGCATTGGTGACAAAGACCCCTGGTGGACGACTTTGTCCTGTAGACAGGCAGAGGC

a M R N H C F W D H L L K Q D I C P S P -

Sali

|

GGTGGAGGCGGTGGGG

61 -----+-----+ 81

CCACCTCCGCCACCCCAGCT

a G G G G G V D -

FIG. 4F

11) AGP3-12-14-a

```

      NdeI
      |
      TATGGCTAACCAGTGTGGTGGGACTCTCTGCTGAAAAAAACGTTTGTGAATTCCTC
1  -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
      ACCGATTGGTCACAACCACCCTGAGAGACGACTTTTTTTTGCAAACACTTAAGAAG

a      M A N Q C W W D S L L R K K N V C E F F -

      SalI
      |
      GGTGGAGGCGGTGGGG
61 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 81
      CCACCTCCGCCACCCAGCT

a      G G G G G V D -
  
```

12) AGP3 Consensus

```

      NdeI
      |
      TATGTTCCACGACTGCAAAATGGGACCTGCTGACCAAACAGTGGGTTTGCCACGGTCTG
1  -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
      gtATACAAGGTGCTGACGTTTACCCTGGACGACTGGTTTGTCACCCAAACGGTGCCAGAC

a      M F H D C K W D L L T R Q W V C H G L -

      SalI
      |
      GGTGGAGGCGGTGGGG
61 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 81
      CCACCTCCGCCACCCAGCT

a      G G G G G V D -
  
```

FIG. 5A

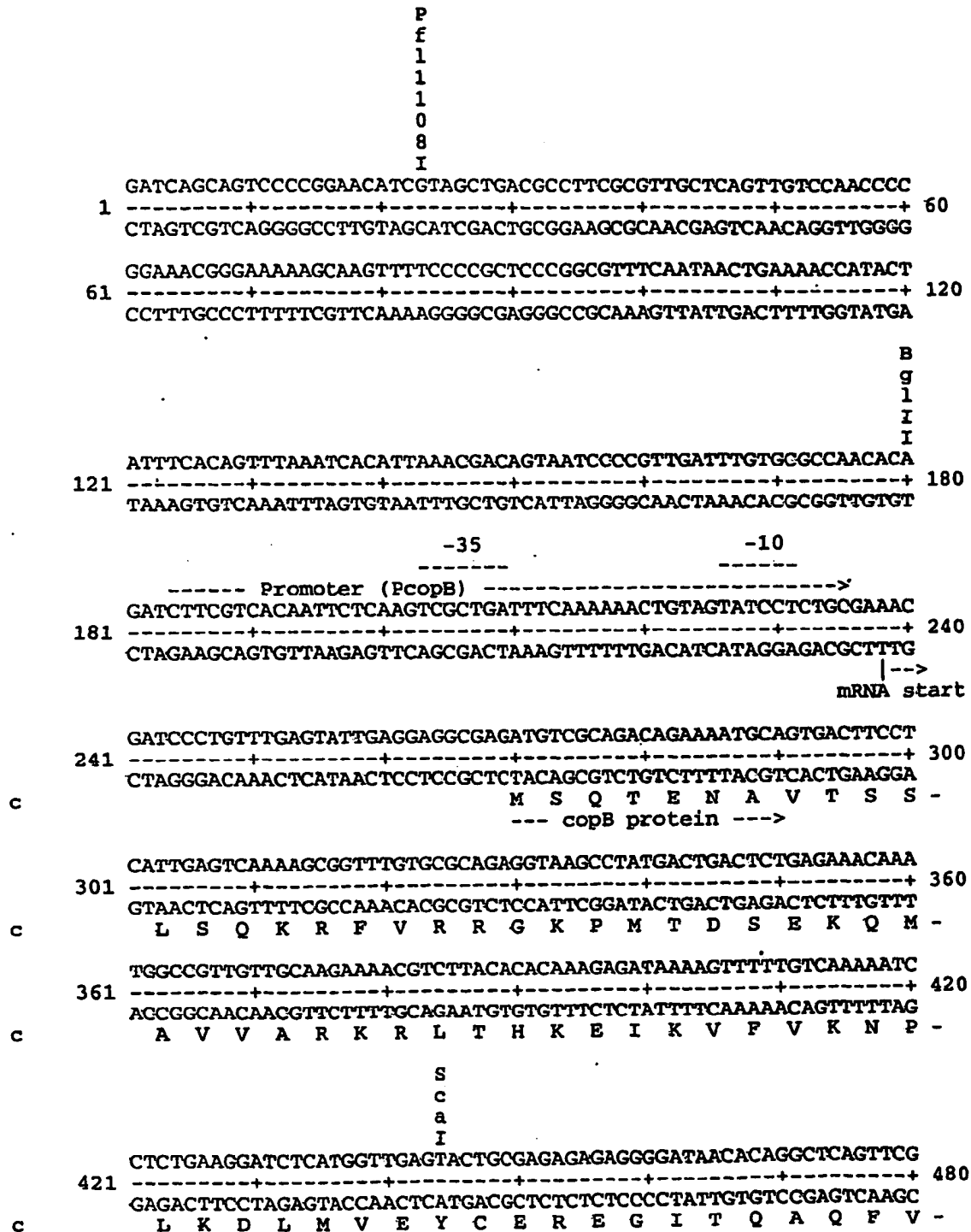


FIG. 5B

```

                                     -35
                                     -----
                               ---- Promoter (PrepA) ----->
                                     |-- copB binding site --|
481 TTGAGAAAATCATCAAAGATGAACTGCAAAGACTGGATATACTAAAGTAAAGACTTTACT
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
AAC TCTTTTAGTAGTTTCTACTTGACGTTTCTGACCTATATGATTCATTTCTGAAATGA 540
c   E K I I K D E L Q R L D I L K *

                                     -10
                                     -----
541 TTGTGGCGTAGCATGCTAGATTACTGATCGTTTAAGGAATTTGTGGCTGGCCACGCCGT
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
AACACCGCATCGTACGATCTAATGACTAGCAAATTCCTTAAACACCGACCGGTGCGGCA 600
                                     |-- mRNA -->

                                     D
                                     B r
                                     m d
                                     n i
                                     I I
AAGGTGGCAAGGAAC TGGTTCTGATGTGGATTTACAGGAGCCAGAAAAGCAAAAACCCCG
601 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 660
TTCCACCGTTCCCTTGACCAAGACTACACCTAAATGTCTCGGTCTTTTCGTTTTTGGGGC
c   M W I Y R S Q K S K N P D -
                                     --- copT (ORF) --->

<----- copA RNAI ----->
661 ATAATCTTCTTCAACTTTTGGCGAGTACGAAAAGATTACCGGGGGCCACTTAAACCGTATA
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
TATTAGAAGAAGTTGAAAACGCTCATGCTTTTCTAATGGCCCCGGGTGAATTTGGCATAT 720
c   N L L Q L L R V R K D Y R G P L K P Y S -

                                     <----- Promoter (RNAI) ----->
                                     -10          -35
                                     -----
<----->|----->
721 GCCAACAATTCAGCTATGCGGGGAGTATAGTTATATGCCCGGAAAAGTTCAAGACTTCTT
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
CGGTTGTTAAGTCGATACGCCCCCTCATATCAATATACGGGCCCTTTTCAAGTTCTGAAGAA 780
c   Q Q F S Y A G S I V I C P E K F K T S F -

TCTGTGCTCGCTCCTTCTGCGCATTGTAAGTGCAGGATGGTGTGACTGATCTTCACCAAA
781 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
AGACACGAGCGAGGAAGACGCGTAACATTACGTCCTACCACACTGACTAGAAGTGGTTT 840
c   C A R S F C A L * M T D L H Q T -
                                     --- repA1 protein --->

                                     D
                                     r
                                     a
                                     I
                                     I
                                     I
CGTATTACCGCCAGGTAAAGAACCCGAATCCGGTGTTTACACCCCGTGAAGGTGCAGGAA
841 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
GCATAATGGCGGTCCATTCTTGGGCTTAGGCCACAAATGTGGGGCACTTCCACGTCCTT 900
c   Y Y R Q V K N P N P V F T P R E G A G T -

CGCTGAAGTTCTGCGAAAACTGATGGAAAAGCGGTGGGCTTCACTTCCCCTTTTGATT
901 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
CGCACTTCAAGACGCTTTTTTACTACCTTTTCCGCCACCCGAAGTGAAGGGCAAACTAA 960
c   L K F C E K L M E K A V G F T S R F D F -

```

FIG. 5C

B
s
t
B
I

961 TCGCCATTTCATGTGGCGCAGCCCCGTTTCGCGTGATCTGCGTCGCCGTATGCCACCAAGTGC 1020
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
c AGCGGTAAGTACACCGCGTGCAGGGCAAGCGCACTAGACGCAGCGGCATACGGTGGTCACG
A I H V A H A R S R D L R R R M P P V L -

1021 TCGCTCGTCGGGCTATTGATGCGCTCTTGAGGGGCTGTGTTTCCACTATGACCCGCTGG 1080
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
c ACGCAGCAGCCCCGATAACTACGCGAGAACGTCCCCGACACAAAGGTGATACTGGGCGACC
R R R A I D A L L Q G L C F H Y D P L A -

1081 CCAACCGCGTCCAGTGCTCCATCACCACGCTGGCCATTGAGTGGGACTGGCGACGGAGT 1140
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
c GGTGGCGCAGGTCACGAGGTAGTGGTGCGACCGGTAACCTACGCCTGACCGCTGCCTCA
N R V Q C S I T T L A I E C G L A T E S -

A
c
e
I
I
I

1141 CTGCTGCCGGAATACTCTCCATCACCCTGCGCCCGTGCCTGACGTTCTGTCTAGAGC 1200
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
c GACGACGGCCTTTTGAGAGGTAGTGGGCACGGTGGGCACGGGACTGCAAGGACAGTCTCG
A A G K L S I T R A T R A L T F L S E L -

1201 TGGGACTGATTACCTACCAGACGGAATATGACCCGCTTATCGGGTGCTACATTCCGACCG 1260
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
c ACCCTGACTAATGGATGGTCTGCCTTATACTGGGCGAATAGCCCACGATGTAAGGCTGGC
G L I T Y Q T E Y D P L I G C Y I P T D -

1261 ATATCACGTTTCACATCTGCACTGTTTGCTGCCCTCGATGTATCAGAGGAGGCAGTGGCCG 1320
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
c TATAGTGCAAGTGTAGACGTGACAAACGACGGGAGCTACATAGTCTCCTCCGTCACCGGC
I T F T S A L F A A L D V S E E A V A A -

1321 CCGCGCGCCGCGAGCCGTGTGGTATGGGAAAACAAACACGCAAAAAGCAGGGGCTGGATA 1380
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
c GCGCGCGGGCGTGGCACACCATAACCTTTTGTGTTGCGTTCCTCCGCGACCTAT
A R R S R V V W E N K Q R K K Q G L D T -

1381 CCCTGGGCATGGATGAAC TGATAGCGAAAGCCTGGCGTTTGTTCGTGAGCGTTTTCGCA 1440
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
c GGGACCGGTACCTACTTGACTATCGCTTTCGGACCGCAAAACAAGCACTCGCAAAAGCGT
L G M D E L I A K A W R F V R E R F R S -

A
f
l
I
I

1441 GTTATCAGACAGAGCTTAAGTCCCGTGGAATAAAGCGTGCCCGTGCGCGTCTGTATGCGG 1500
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
c CAATAGTCTGTCTCGAATTCAGGGCACCTTATTTCCGACGGGCACGCGCAGCACTACGCC
Y Q T E L K S R G I K R A R A R R D A D -

FIG. 5D

```

ACAGGGAACGTCAGGATATTGTCACCCCTGGTGAAACGGCAGCTGACGCGCGAAATCGCGG
1501 -----+-----+-----+-----+-----+ 1560
TGTCCTTGCAGTCCTATAACAGTGGGACCACTTTGCCGTCGACTGCGCGCTTTAGCGCC
c      R  E  R  Q  D  I  V  T  L  V  K  R  Q  L  T  R  E  I  A  E  -
AAGGGCGCTTCACTGCCAATCGTGAGGCGGTAAACGCGAAGTTGAGCGTCGTGTGAAGG
1561 -----+-----+-----+-----+-----+ 1620
TTCCCGCGAAGTGACGGTTAGCACTCCGCCATTTTGCGCTTCAACTCGCAGCACACTTCC
c      G  R  F  T  A  N  R  E  A  V  K  R  E  V  E  R  R  V  K  E  -
AGCGCATGATTCTGTCACGTAACCGTAATTACAGCCGGCTGGCCACAGCTTCCCCCTGAA
1621 -----+-----+-----+-----+-----+ 1680
TCGCGTACTAAGACAGTGCAATTGGCATTAAATGTGCGCCGACCGGTGTCGAAGGGGGACTT
c      R  M  I  L  S  R  N  R  N  Y  S  R  L  A  T  A  S  .  P  *
AGTGACCTCCTCTGAATAATCCGGCCTGCGCCGGAGGCTTCCGCACGTCCTGAAGCCCGAC
1681 -----+-----+-----+-----+-----+ 1740
TCACTGGAGGAGACTTATTAGGCCGACGCGGCCTCCGAAGGCGTGCAGACTTCGGGCTG

                                     P
                                     F
                                     l
                                     M
                                     I
AGCGCACAAAAATCAGCACACACATACAAAAACAACCTCATCATCCAGCTTCTGGTGCA
1741 -----+-----+-----+-----+-----+ 1800
TCGCGTGTTTTTTTAGTCGTGGTGATGTTTTTTTGTGGAGTAGTAGGTCGAAGACCACGT
TCCGGCCCCCCTGTTTTCGATACAAAACACGCCTCACAGACGGGGAATTTTGCTTATCC
1801 -----+-----+-----+-----+-----+ 1860
AGGCCGGGGGGGACAAAAGCTATGTTTTGTGCGGAGTGCTTGCCCTTAAACGAATAGG

|----- ori -----
ACATTAAACTGCAAGGACTTCCCCATAAGGTTACAACCGTTCATGTCATAAAGCGCCAT
1861 -----+-----+-----+-----+-----+ 1920
TGTAATTTGACGTTCCCTGAAGGGGTATTCCAATGTTGGCAAGTACAGTATTTCCGCGTA

----- ori -----
CCGCCAGCGTTACAGGGTGCAATGTATCTTTTAAACACCTGTTTATATCTCCTTTAAACT
1921 -----+-----+-----+-----+-----+ 1980
GGCGGTGCGCAATGTTCCACGTTACATAGAAAATTTGTGGACAAATATAGAGGAAATTTGA

-----|-----
ACTTAATTACATTCATTTAAAAAGAAAACCTATTCACTGCCTGTCCCTGGACAGACAGAT
1981 -----+-----+-----+-----+-----+ 2040
TGAATTAATGTAAGTAAATTTTCTTTTGGATAAGTGACGGACAGGAACCTGTCTGTCTA

ATGCACCTCCCACCGCAAGCGGCGGGCCCTACCGGAGCCGCTTTAGTTACAACACTCAG
2041 -----+-----+-----+-----+-----+ 2100
TACGTGGAGGGTGCGCTTCGCCGCCCGGGGATGGCTTCGGCGAAATCAATGTTGTGAGTC
a      M  H  L  P  P  Q  A  A  G  P  Y  R  .  S  R  F  S  Y  N  T  Q  -
--- repA4 protein ---> |----->
ACACAACCACCAGAAAAACCCGGTCCAGCGCAGAACTGAAACCACAAAGCCCTCCCTC
2101 -----+-----+-----+-----+-----+ 2160
TGTGTTGGTGGTCTTTTGGGGCCAGGTCGCGCTTTGACTTTGGTGTTCGGGGAGGGAG
a      T  Q  P  P  E  K  P  R  S  S  A  E  L  K  P  Q  S  P  S  L  -
ATAACTGAAAAGCGGCCCCGCCCGGTCCGAAGGGCCGGAACAGAGTCGCTTTTAATTAT
2161 -----+-----+-----+-----+-----+ 2220
TATTGACTTTTCGCCGGGGCGGGGCCAGGCTTCCCGGCTTGTCTCAGCGAAAATTAATA
a      I  T  E  K  R  P  R  P  G  P  K  G  R  N  R  V  A  F  N  Y  -

```

FIG. 5E

```

      GAATGTTGTAAC TACTTCATCATCGCTGTCAGTCTTCTCGCTGGAAGTTCAGTACACG
2221 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2280
      CTTACAACATTGATGAAGTAGTAGCGACAGTCAGAAGAGCGACCTTCAAGAGTCATGTGC
a      E . C C N Y F I I A V S L L A G S S Q Y T -

              BS
              gf
              li
              II
              /
      CTCGTAAGCGGCCCTGACGGCCCGCTAACGCGGAGATACGCCCGGACTTCGGGTAAACCC
2281 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2340
      GAGCATTCGCCGGGACTGCCGGGCGATTGCGCCTCTATGCGGGGCTGAAGCCCATTTGGG
a      L V S G P D G P L T R R Y A P T S G K P -

      TCGTCGGGACCACTCCGACCGCGCACAGAAGCTCTCTCATGGCTGAAAGCGGGTATGGTC
2341 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2400
      AGCAGCCCTGGTGAGGCTGGCGCGTGTCTTCGAGAGAGTACCGACTTTCGCCCATAACCAG
a      S S G P L R P R T E A L S W L K A G M V -

      TGGCAGGGCTGGGGATGGGTAAGGTGAAATCTATCAATCAGTACCGGCTTACGCCGGGCT
2401 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2460
      ACCGTCCCGACCCCTACCCATTCCACTTTAGATAGTTAGTCATGGCCGAATGCGGCCCGA
a      W Q G W G W V R *

              B
              S
              t
              E
              I
              I
      TCGGCGGTTTTACTCCTGTTTCATATATGAAACAACAGGTACCGCCTTCCATGCCGCTG
2461 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2520
      AGCCGCCAAAATGAGGACAAAGTATATACTTTGTTGTCCAGTGGCGGAAGGTACGGCGAC

              B
              S
              P
              L
              U
              l
              l
              I
      ATGCGGCATATCCTGGTAACGATATCTGAATTGTTATACATGTGTATATACGTGGTAATG
2521 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2580
      TACGCCGTATAGGACCATTGCTATAGACTTAACAATATGTACACATATATGCAGCATTAC

      ACAAAAATAGGACAAGTTAAAAATTTACAGGCGGATGCAATGATTCAAACACGTAATCAAT
2581 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2640
      TGTTTTTATCCTGTTCAATTTTAAATGTCCGCTACGTTACTAAGTTTGTGCATTAGTTA

      ATCGGGGGTGGGCGAAGAACTCCAGCATGAGATCCCCGCGCTGGAGGATCATCCAGCCGG
2641 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2700
      TAGCCCCCACCCGCTTCTTGAGGTCGTACTCTAGGGGCGCGACCTCCTAGTAGGTCCGGC

      CGTCCCGGAAAACGATTCCGAAGCCCAACCTTTTCATAGAAGGCGGCGGTGGAATCGAAAT
2701 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 2760
      GCAGGGCCTTTTGCTAAGGCTTCGGGTTGGAAGTATCTTCGCCCGGCACCTTAGCTTTA

```

FIG. 5F

N
S
P
V

B
P
L
I

2761 CTCTGATGGCAGGTTGGGCGTCGCTTGGTCGGTCATTTTGAACCCAGAGTCCCGCTCA 2820
-----+-----+-----+-----+-----+
GAGCACTACCGTCCAACCCGCAGCGAACCAGCCAGTAAAGCTTGGGGTCTCAGGGCGAGT

2821 GAAGAACTCGTCAAGAAGGCGATAGAAGGCGATGCGCTGCGAATCGGGAGCGGCGATACC 2880
-----+-----+-----+-----+-----+
CTTCTTGAGCAGTTCTTCCGCTATCTTCCGCTACGCGACGCTTAGCCCTCGCCGCTATGG
* F F E D L L R Y F A I R Q S D P A A I G -
<--- APHII protein [kanamycin resistance gene] ---

2881 GTAAAGCAGGAGGAAGCGGTCAGCCCATTCGCCGCCAAGCTCTTCAGCAATATCACGGGT 2940
-----+-----+-----+-----+-----+
CATTCGTGCTCCTTCGCCAGTCGGGTAAGCGGCGGTTTCGAGAAGTCGTTATAGTGCCTCA
Y L V L F R D A W E G G L E E A I D R T -

2941 AGCCAACGCTATGTCTTGATAGCGGTCCGCCACACCCAGCCGCCACAGTCGATGAATCC 3000
-----+-----+-----+-----+-----+
TCGGTTGCGATACAGGACTATCGCCAGGCGGTGTGGGTTCGCCCGGTGTTCAGCTACTTAGG
A L A I D Q Y R D A V G L R G C D I F G -

3001 AGAAAAGCGGCCATTTTCCACCATGATATTCGGCAAGCAGGCATCGCCATGAGTCACGAC 3060
-----+-----+-----+-----+-----+
TCTTTTCGCCGGTAAAGGTGGTACTATAAGCCGTTTCGTCCGTAGCGGTACTCAGTGCTG
S F R G N E V M I N P L C A D G H T V V -

3061 GAGATCCTCGCCGTCGGGCATGCGCGCCTTGAGCCTGGCGAACAGTTCGGCTGGCGCGAG 3120
-----+-----+-----+-----+-----+
CTCTAGGAGCGGCAGCCCGTACGCGCGGAACTCGGACCGCTTGTCAAGCCGACCGCGCTC
L D E G D P M R A K L R A F L E A P A L -

3121 CCCCTGATGCTCTTCGTCCAGATCATCCTGATCGACAAGACCGGCTTCCATCCGAGTACG 3180
-----+-----+-----+-----+-----+
GGGGACTACGAGAAGCAGGTCTAGTAGGACTAGCTGTTCTGGCCGAAGGTAGGCTCATGC
G Q H E E D L D D Q D V L G A E M R T R -

3181 TGCTCGCTCGATGCGATGTTTCGCTTGGTGGTGAATGGGCAGGTAGCCGGATCAAGCGT 3240
-----+-----+-----+-----+-----+
ACGAGCGAGCTACGCTACAAAGCGAACCACCAGCTTACCCGTCATCGGCCCTAGTTCGCA
A R E I R H K A Q H D F P C T A P D L T -

3241 ATGCAGCCGCCGCATTGCATCAGCCATGATGGATACTTTCTCGGCAGGAGCAAGGTGAGA 3300
-----+-----+-----+-----+-----+
TACGTGGCGGCGTAACGTAGTCGGTACTACCTATGAAAGAGCCGTCCTCGTTCCACTCT
H L R R M A D A M I S V K E A P A L H S -

3301 TGACAGGAGATCCTGCCCGGCACTTCGCCCAATAGCAGCCAGTCCCTTCCCGCTTCAGT 3360
-----+-----+-----+-----+-----+
ACTGTCTCTTAGGACGGGGCCGTGAAGCGGTTATCGTCGGTCAGGGAAGGGCGAAGTCA
S L L D Q G P V E G L L L W D R G A E T -

3361 GACAACGTCGAGCACAGCTGCGCAAGGAACGCCCGTCGTGGCCAGCCACGATAGCCGCGC 3420
-----+-----+-----+-----+-----+
CTGTTGACAGCTCGTGTGACGCGTTCTTTCGGGCAGCACCGGTCGGTGCTATCGGCGCG
V V D L V A A C P V G T T A L W S L R A -

3421 TGCTCTGCTCTGCAATTCATTACAGGACACCGGACAGGTCCGTCTTGACAAAAAGAACCGG 3480
-----+-----+-----+-----+-----+
ACGGAGCAGGACGTTAAGTAAGTCCTGTGGCCTGTCCAGCCAGAAGTGTCTTTCTTGGCC

FIG. 5G

```

f      A E D Q L E N L V G S L D T K V F L V P -
3481  GCGCCCCCTGCGCTGACAGCCGGAACACGGCGGCATCAGAGCAGCCGATTGTCTGTTGTGC
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 3540
f      CGCGGGGACGCGACTGTCTGGCCTTGTGCGCCGCTAGTCTCGTCGGCTAACAGACAACACG
      R G Q A S L R F V A A D S C G I T Q Q A -

                                     B
                                     a
                                     g
                                     I
3541  CCAGTCATAGCCGAATAGCCTCTCCACCCAAGCGCGGAGAACCCTGCGTGCAATCCATC
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 3600
f      GGTCAGTATCGGCTTATCGGAGAGGTGGGTTTCGCCGGCCTCTTGGACGCACGTTAGGTAG
      W D Y G F L R E V W A A P S G A H L G D -

3601  TTGTTCAATCATGCGAAACGATCCTCATCTGTCTCTTGATCTGATCTTGATCCCTGCG
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 3660
f      AACAAAGTTAGTACGCTTTGCTAGGAGTAGGACAGAGAAGTAGACTAGAACTAGGGGACGC
      Q E I M
<-- APHII (kanamycin resistance) protein --)

                                     -10.
                                     <--- mRNA APHII ---|-----
3661  CCATCAGATCCTTGGCGGCAAGAAAGCCATCCAGTTTACTTTGCAGGGCTTCCCAACCTT
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 3720
      GGTAGTCTAGGAACCGCCGTTCTTTTCGGTAGGTCAAATGAAACGTCCCGAAGGGTTGGAA

                                     -35
                                     -----
<----- Promoter (APHII) -----
3721  ACCAGAGGGCGCCCCAGCTGGCAATTCGGGTTGCTTGTCTGCTCCATAAAACCGCCAGTC
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 3780
      TGGTCTCCCGCGGGGTCGACCGTTAAGGCCAAGCGAACGACAGGTATTTTGGCGGGTCAG

3781  TAGCTATCGCCATGTAAGCCCACTGCAAGCTACCTGCTTTCCTTTGCGCTTGCGTTTTC
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 3840
      ATCGATAGCGGTACATTCGGGTGACGTTGATGGACGAAAGAGAAACGCGAAGCAGAAAG

3841  CCTTGTCCAGATAGCCAGTAGCTGACATTCATCCGGGGTCAGCACCGTTTCTGCGGACT
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 3900
      GGAACAGGTCTATCGGGTCATCGACTGTAAGTAGGCCCCAGTCGTGGCAAAGACGCTGA

3901  GGCTTTCTACGTGTTCCGCTTCCTTTAGCAGCCCTTGCGCCCTGAGTGCTTGCGGCAGCG
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 3960
      CCGAAAGATGCACAAGGCGAAGGAAATCGTCGGGAACGCGGACTCACGAACGCGCTCGC

                                     |----- par locus -----
3961  TGAAGCTACATATATGTGATCCGGGCAAATCGCTGAATATTCTTTTGTCTCCGACCATC
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 4020
      ACTTCGATGTATATACACTAGGCCCGTTTAGCGACTTATAAGGAAAACAGAGGCTGGTAG

                                     B
                                     c
                                     g
                                     I
----- par locus -----
4021  AGGCACCTGAGTCGCTGTCTTTTTCGTGACATTCAGTTCGCTGCGCTCACGGCTCTGGCA
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 4080
      TCCGTGGACTCAGCGACAGAAAAAGCACTGTAAGTCAAGCGACGCGAGTGCCGAGACCGT

----- par locus -----

```

FIG. 5H

```

4081 GTGAATGGGGGTAAATGGCACTACAGGCGCCTTTTATGGATTTCATGCAAGGAACTACCC 4140
-----+-----+-----+-----+-----+-----+
CACTTACCCCCATTACCGTGATGTCCGCGGAAATACCTAAGTACGTTCCCTTTGATGGG

----- par locus -----
4141 ATAATACAAGAAAAGCCCGTCACGGGCTTCTCAGGGCGTTTATGGCGGGTCTGCTATGT 4200
-----+-----+-----+-----+-----+-----+
TATTATGTTCTTTTCGGGCAGTGCCCGAAGAGTCCCGCAAAATACCGCCCAGACGATACA

----- par locus -----
4201 GGTGCTATCTGACTTTTGTCTGTTTCAGCAGTTCCTGCCCTCTGATTTTCCAGTCTGACCA 4260
-----+-----+-----+-----+-----+-----+
CCACGATAGACTGAAAAACGACAAGTCGTCAAGGACGGGAGACTAAAAGGTCAGACTGGT

----- par locus -----
4261 CTTCGGATTATCCCGTGACAGGTCATTTCAGACTGGCTAATGCACCCAGTAAGGCAGCGGT 4320
-----+-----+-----+-----+-----+-----+
GAAGCCTAATAGGGCACTGTCCAGTAAGTCTGACCGATTACGTGGGTCATTCCGTCGCCA

                                     N      B
                                     s      s
                                     i      a
                                     I      I
4321 ATCATCAACAGGCTTACCCGTCTTACTGTGCAAGACGTGCGTAACGTATGCATGGTCTCC 4380
-----+-----+-----+-----+-----+-----+
TAGTAGTTGTCCGAATGGGCAGAATGACAGCTTCTGCACGCATTGCATACGTACCAGAGG

                                     T1 hairpin
                                     ----->-----
4381 CCATGCGAGAGTAGGGAACTGCCAGGCATCAAATAAAACGAAAGGCTCAGTCGAAAGACT 4440
-----+-----+-----+-----+-----+-----+
GGTACGCTCTCATCCCTTGACGGTCCGTAGTTTATTTTGCTTTCCGAGTCAGCTTTCTGA

-----|-----
4441 GGGCCTTTCGTTTTATCTGTTGTTTGTGCGGTGAACGCTCTCCTGAGTAGGACAAATCCGC 4500
-----+-----+-----+-----+-----+-----+
CCCGGAAAGCAAAATAGACAACAAACAGCCACTTGCGAGAGGACTCATCCTGTTTAGGGC
-- T1 stop -->|

P
s
P
1
4
0
6
I
4501 CGGGAGCGGATTTGAACGTTGCGAAGCAACGGCCCGGAGGGTGGCGGGCAGGACGCCCGC 4560
-----+-----+-----+-----+-----+-----+
GCCCTCGCCTAAACTTGCAACGCTTCGTTGCCGGGCCTCCACCGCCCGTCCTGCGGGCG

                                     T2 hairpin
                                     ----->-----
4561 CATAAACTGCCAGGCATCAAATTAAGCAGAAGGCCATCTGACGGATGGCCTTTTCGGT 4620
-----+-----+-----+-----+-----+-----+
GTATTTGACGGTCCGTAGTTTAATTCGTCTTCCGGTAGGACTGCCTACCGGAAAAACGCA
----- T2 stop ----->|

```


FIG. 5J

5221 AATATTGCCTCCATTTTTTAGGGTAATTATCCAGAATTGAAATATCAGATTTAACCATAG 5280
 TTATAACGGAGGTAAAAAATCCCATTAATAGGTCTTAACCTTTATAGTCTAAATTTGGTATC
 Y Y Q R W K K P Y N D L I S I D S K V M -
 N
 r
 u
 I
 5281 AATGAGGATAAATGATCGCGAGTAAATAATATTCACAATGTACCATTTTAGTCATATCAG 5340
 TTACTCCTATTTACTAGCGCTCATTTATTATAAGTGTACATGGTAAATCAGTATAGTC
 S H P Y I I A L L Y Y E C H V M K T M D -
 5341 ATAAGCATTGATTAATATCATTATTGCTTCTACAGGCTTTAATTTTATTAAATTATTCTGT 5400
 TATTCGTAACATAATTATAGTAATAACGAAGATGTCCGAAATTAATAATTAAAGACA
 S L C Q N I D N N S R C A K I K N I I R -
 5401 AAGTGTCTGTCGGCATTATGTCTTTCATACCCATCTCTTTATCCTTACCTATTGTTTGTC 5460
 TTCACAGCAGCCGTAAATACAGAAAGTATGGGTAGAGAAATAGGAATGGATAACAAACAG
 Y T D D A N I D K M
 <---- luxR protein ---|
 GCAAGTTTTGCGTGTTATATATCATTAAAACGGTAATAGATTGACATTTGATTCTAATAA
 5461 CGTTCAAAACGCACAATATATAGTAATTTGCCATTATCTAACTGTAACTAAGATTATT 5520
 <----| <----| <----| <---- Promoter (luxPL) -----
 luxR mRNA start sites
 CRP Binding Site
 ATTGGATTTTTGTCACACTATTATATCGCTTGAAATACAATTGTTTAAACATAAGTACCTG
 5521 TAACCTAAAACAGTGTGATAATATAGCGAACTTTATGTTAACAATTTGATTTCATGGAC 5580
 C B
 Promoter (luxPR) -----> 1 b
 lux operator site -35 -10 a a
 I I
 TAGGATCGTACAGGTTTACGCAAGAAAATGGTTTGTATAGTCGATTAACTCGATTTGATT
 5581 ATCCTAGCATGTCCAAATGCGTTCTTTTACCAAACAATATCAGCTAATTAGCTAAACTAA 5640
 |---- 1209-85 -----> |-- mRNA start -->
 NdeI
 CTAGATTTGTTTTAACTAATTAAAGGAGGAATAACATATGATCGCTCCACCATGCACCAG
 5641 GATCTAAACAAAATTGATTAATTTCTCTCTTATTGTATAC TAGCGAGGTGGTACGTGGTC 5700
 M I A P P C T S -
 |-- RANK -->
 5701 TGAGAAGCATTATGAGCATCTGGGACGGTGTGTAACAAATGTGAACCAGGAAAGTACAT 5760
 ACTCTTCGTAATACTCGTAGACCCTGCCACGACATTGTTTACACTTGGTCCTTTTCATGTA
 E K H Y E H L G R C C N K C E P G K Y M -

FIG. 5K

```

      GTCTTCTAAATGCACTACTACCTCTGACAGTGTATGTCTGCCCTGTGGCCCGGATGAATA
5761 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 5820
      CAGAAGATTTACGTGATGATGGAGACTGTCACATACAGACGGGACACCGGGCCTACTTAT

b      S S K C T T T S D S V C L P C G P D E Y -

      CTTGGATAGCTGGAATGAAGAAGATAAATGCTTGCTGCATAAAGTTTGTGATACAGGCAA
5821 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 5880
      GAACCTATCGACCTTACTTCTTCTATTTACGAACGACGTATTTCAAACACTATGTCCGTT

b      L D S W N E E D K C L L H K V C D T G K -

                                     ApaLI
                                     |
      GGCCCTGGTGGCCGTGGTTCGCCGGCAACAGTACGACCCCCGGCGCTGCGCGTGCACGGC
5881 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 5940
      CCGGGACCACCGGCACCAGCGGCCGTTGTTCATGCTGGGGGGCCGCGACGCGCACGTGCCG

b      A L V A V V A G N S T T P R R C A C T A -

      Acc65I      KpnI
      |      |
      TGGGTACCACTGGAGCCAGGACTGCGAGTGTGTCGCCCGCAACACCGAGTGCAGCGCCGGG
5941 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 6000
      ACCCATGGTGACCTCGGTCTGACGCTCACGACGGCGCGGCTTGTGGCTCACGCGCGGCCCC

b      G Y H W S Q D C E C C R R N T E C A P G -

      CCTGGGCGCCCAGCACCCGTTGCAGCTCAACAAGGACACAGTGTGCAAACCTTGCCTTGC
6001 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 6060
      GGACCCGCGGGTTCGTGGGCAACGTGAGTTGTTCTGTGTACACGTTTGAACGGAACG

b      L G A Q H P L Q L N K D T V C K P C L A -

      AGGCTACTTCTCTGATGCCTTTTCTCTCCACGGACAAATGCAGACCCCTGGACCAACTGTAC
6061 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 6120
      TCCGATGAAGAGACTACGGAAAAGGAGGTGCCTGTTTACGTCTGGGACCTGGTTGACATG

b      G Y F S D A F S S T D K C R P W T N C T -

      CTCCTTGGAAAGAGAGTAGAACATCATGGGACAGAGAAATCCGATGTGGTTTGCAGTTC
6121 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 6180
      GAAGGAACCTTTCTCTCATCTTGTAGTACCCTGTCTCTTTAGGCTACACCAAACGTCAAG

b      F L G K R V E H H G T E K S D V V C S S -

                                     AccI
                                     SalI
                                     ||
      TTCTCTGCCAGCTAGAAAACCACCAAATGAACCCCATGTTTACGTGACAAAACTCACAC
6181 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 6240
      AAGAGACGGTCGATCTTTTGGTGGTTTACTTGGGGTACAAATGCAGCTGTTTGTAGTGTG

b      S L P A R K P P N E P H V Y V D K T H T -
      <-- end RANK --||--start Fc-->

```

FIG. 5L

[illegible]

FIG. 6A

(AatII sticky end] 5' GCGTAACGTATGCATGGTCTCC-
(position #4358 in pAMG21) 3' TGCACGCATTGCATACGTACCAGAGG-

-CCATGCGAGAGTAGGGAACGCCAGGCATCAAATAAAACGAAAGGCTCAGTCGAAAGACT-
-GGTACGCTCTCATCCCTTGACGGTCCGTAGTTTATTTTGCTTTCCGAGTCAGCTTTCGTA-
-GGGCCTTTCTGTTTATCTGTTGTTTGTGCGGTGAACGCTCTCCTGAGTAGGACAAATCCGC-
-CCCGGAAAGCAAAATAGACAACAAACAGCCACTTGCGAGAGGACTCATCCTGTTTAGGCG-
-CGGGAGCGGATTTGAACGTTGCGAAGCAACGGCCCGGAGGGTGGCGGGCAGGACGCCCGC-
-GCCCTCGCCTAAACTTGCAACGCTTCGTTGCCGGGCCCTCCACCGCCCGTCTTGGGGCG-
-CATAAACTGCCAGGCATCAAATTAAGCAGAAGGCCATCCTGACGGATGGCCTTTTTCGCT-
-GTATTTGACGGTCCGTAGTTTAATTCGCTTCCGGTAGGACTGCCTACCGGAAAAACGCA-

AatII

-TTCTACAAACTCTTTTGTTTATTTTCTAAATACATTCAAATATGGACGTCGTACTTTAAC-
-AAGATGTTTGAGAAAACAAATAAAAAGATTTATGTAAAGTTTATACCTGCAGCATGAATTG-
-TTTTAAAGTATGGGCAATCAATTGCTCCTGTTAAAATTGCTTTAGAAATACTTTGGCAGC-
-AAAATTCATACCCGTTAGTTAACGAGGACAAATTTAACGAAATCTTTATGAAACCGTCG-
-GGTTTGTGTTATGAGTTTCATTTGCGCATTGGTTAAATGGAAAGTGACCGTGCGCTTAC-
-CCAAACAACATAACTCAAAGTAAACGCGTAACCAATTACCTTTCACTGGCAGCGAATTG-
-TACAGCCTAATATTTTGAATATCCCAAGAGCTTTTCCCTTCGCATGCCACGCTAAAC-
-ATGTCGGATTATAAAAACTTTATAGGGTCTCGAAAAAGGAAGCGTACGGGTGCGATTG-
-ATTCCTTTTCTCTTTTGGTTAAATCGTTGTTTGATTTATTATTTGCTATATTTATTTTC-
-TAAGAAAAAGAGAAAACCAATTTAGCAACAACTAAATAATAAACGATATAAATAAAAAG-
-GATAATTATCAACTAGAGAAGGAACAATTAATGGTATGTTTCATACACGCATGTAAAAATA-
-CTATTAATAGTTGATCTCTTCCTTGTTAATTACCATACAAGTATGTGCGTACATTTTAT-
-AACTATCTATATAGTTGCTCTTCTCTGAATGTGCAAACTAAGCATTCGGAAGCCATTAT-
-TTGATAGATATATCAACAGAAAGAGACTTACACGTTTGATTGCGTAAGGCTTCGGTAATA-
-TAGCAGTATGAATAGGGAACATAACCCAGTGATAAGACCTGATGATTTCCGCTCTTTAA-
-ATCGTCATACTTATCCCTTTTGATTGGGTCACTATCTGGACTACTAAAGCGAAGAAATT-
-TTACATTTGGAGATTTTTTATTTACAGCATTGTTTTCAAATATATTCCAATTAATCGGTG-
-AATGTAAACCTCTAAAAAATAAATGTGTAACAAAGTTTATATAAGGTTAATTAGCCAC-
-AATGATTGGAGTTAGAATAATCTACTATAGGATCATATTTTATTAAATTAGCGTCATCAT-
-TTACTAACCTCAATCTTATTAGATGATACCTAGTATAAAATAATTTAATCGCAGTAGTA-
-AATATTGCCCTCCATTTTATAGGTAATTATCCAGAATTGAAATATCAGATTTAACCATAG-
-TTATAACGGAGGTAAAAAATCCCATTAATAGGTCTTAACCTTATAGTCTAAATTGGTATC-
-AATGAGGATAAATGATCGCGAGTAAATAATATTCACAATGTACCATTTTAGTCATATCAG-
-TTACTCCTATTTACTAGCGCTCATTTATTATAAGTGTACATGGTAAATCAGTATAGTC-
-ATAAGCATTGATTAATATCATTATTGCTTCTACAGGCTTTAATTTTATTAATTATTCGT-
-TATTCGTAACTAATTATAGTAATAACGAAGATGTCGAAATTTAAATAATTAATAAGACA-
-AAGTGTGCTCGGCATTTATGCTTTTCATACCCATCTTTTATCCTTACCATTGTTTGTGTC-
-TTCACAGCAGCCGTAAATACAGAAAGTATGGGTAGAGAAATAGGAATGGATAACAAACAG-
-GCAAGTTTTCGCTGTTATATATCATTAACCGGTAATAGATTGACATTTGATTCTAATAA-
-CGTTCAAACGCACAATATATAGTAATTTGCCATTATCTAAGTAACTAAGATTATT-

FIG. 6B

```

-ATTGGATTTTGTGACACTATTATATCGCTTGAAATACAATTGTTTAACATAAGTACCTG-
-TAACCTAAAAACAGTGTGATAATATAGCGAACTTTATGTTAACAAATTGTATTCATGGAC-

-TAGGATCGTACAGGTTTACGCAAGAAAATGGTTTGTATAGTCGATTAATCGATTTGATT-
-ATCCTAGCATGTCCAAATGCGTTCTTTTACCAAACAATATCAGCTAATTAGCTAAACTAA-

-CTAGATTTGTTTTAACTAATTAAAGGAGGAATAACATATGGTTAACGCGTTGGAATTCGA-
-GATCTAAACAAAATTGATTAATTTCTCCTTATTGTATACCAATTGCGCAACCTTAAGCT-

                                     SacII .
-GCTCACTAGTGTGACCTGCAGGGTACCATGGAAGCTTACTCGAGGATCCGCGGAAAGAA-
-CGAGTGATCACAGCTGGACGTCCCATGGTACCTTCGAATGAGCTCCTAGGCGCCTTTCTT-

-GAAGAAGAAGAAGAAAGCCCGAAAGGAAGCTGAGTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATA-
-CTTCTTCTTCTTCTTTCGGGCTTTCCTTCGACTCAACCGACGACGGTGGCGACTCGTTAT-

-ACTAGCATAACCCCTTGGGGCCTCTAAACGGGTCCTGAGGGGTTTTTTTGCTGAAAGGAGG-
-TGATCGTATTGGGGAACCCCGGAGATTTGCCCAGAACTCCCCAAAAAACGACTTTCCTCC-

-AACCGCTCTTCACGCTCTTCACGC 3'           [SacII sticky end]
-TTGGCGAGAAGTGCGAGAAGTG   5'           (position #5904 in pAMG21)

```

FIG. 7

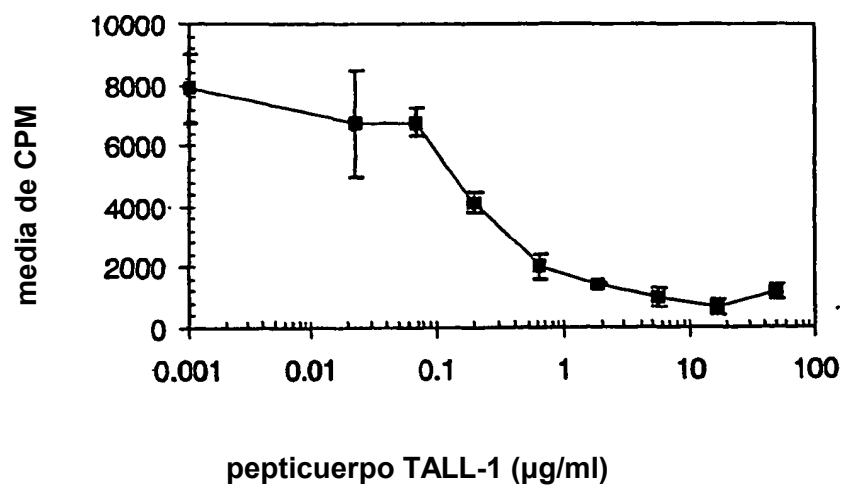


FIG.8

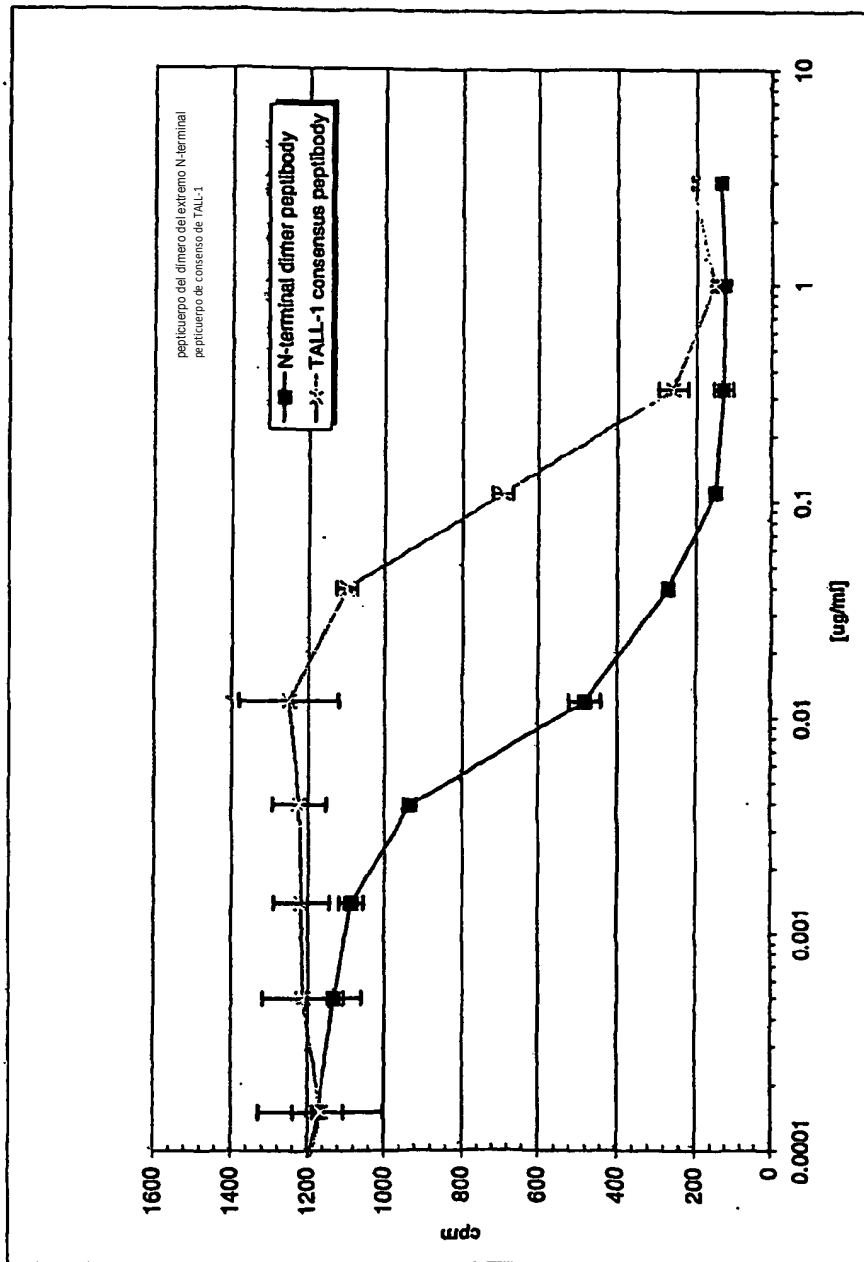


FIG. 9

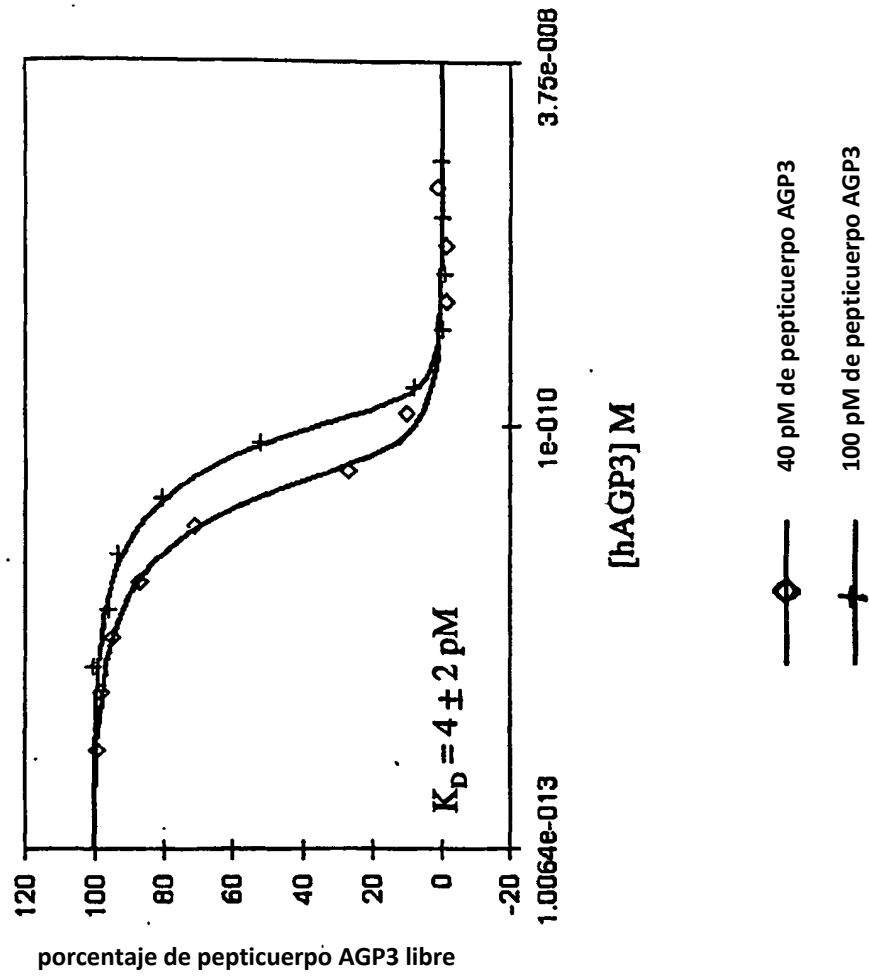


FIG.10A

respuesta de unión relativa

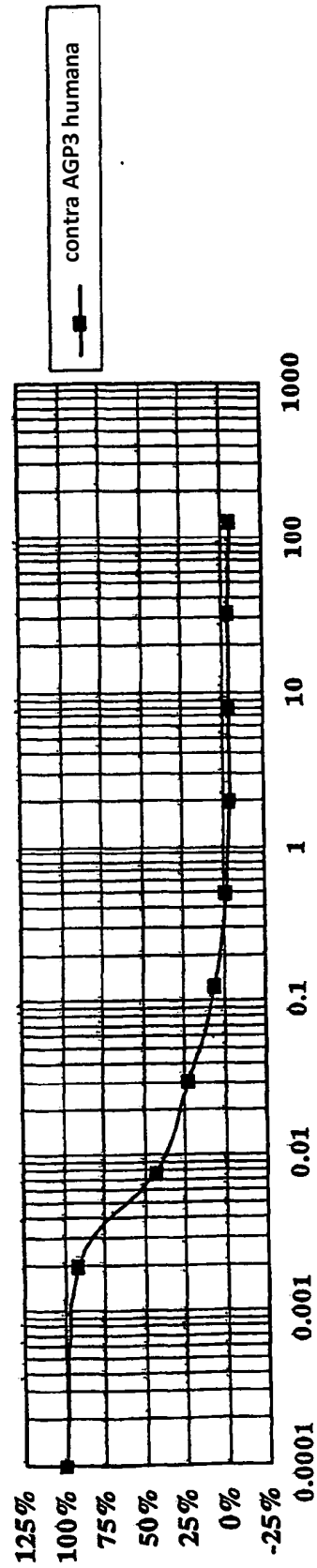


FIG. 10B

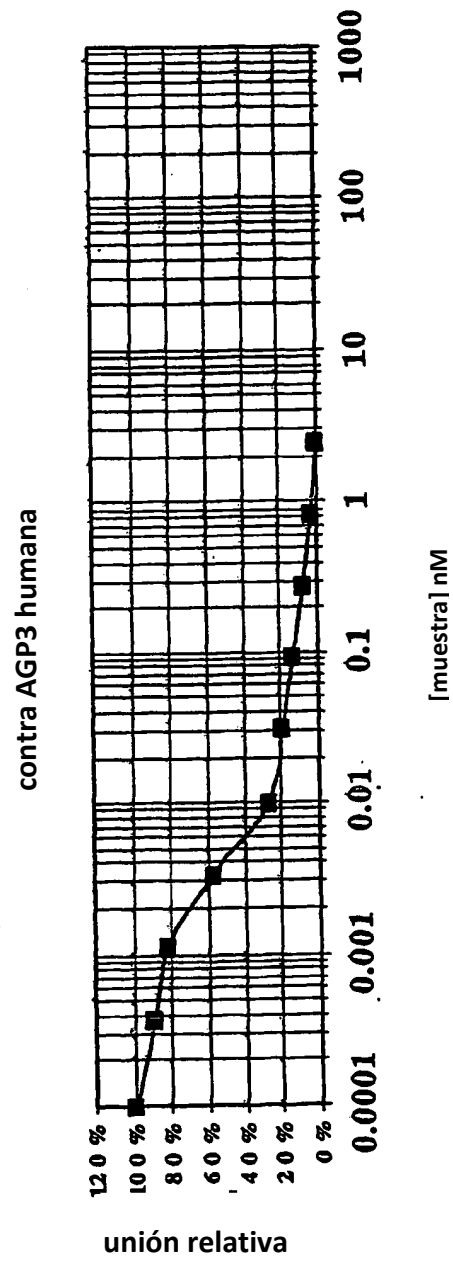


FIG. 11A

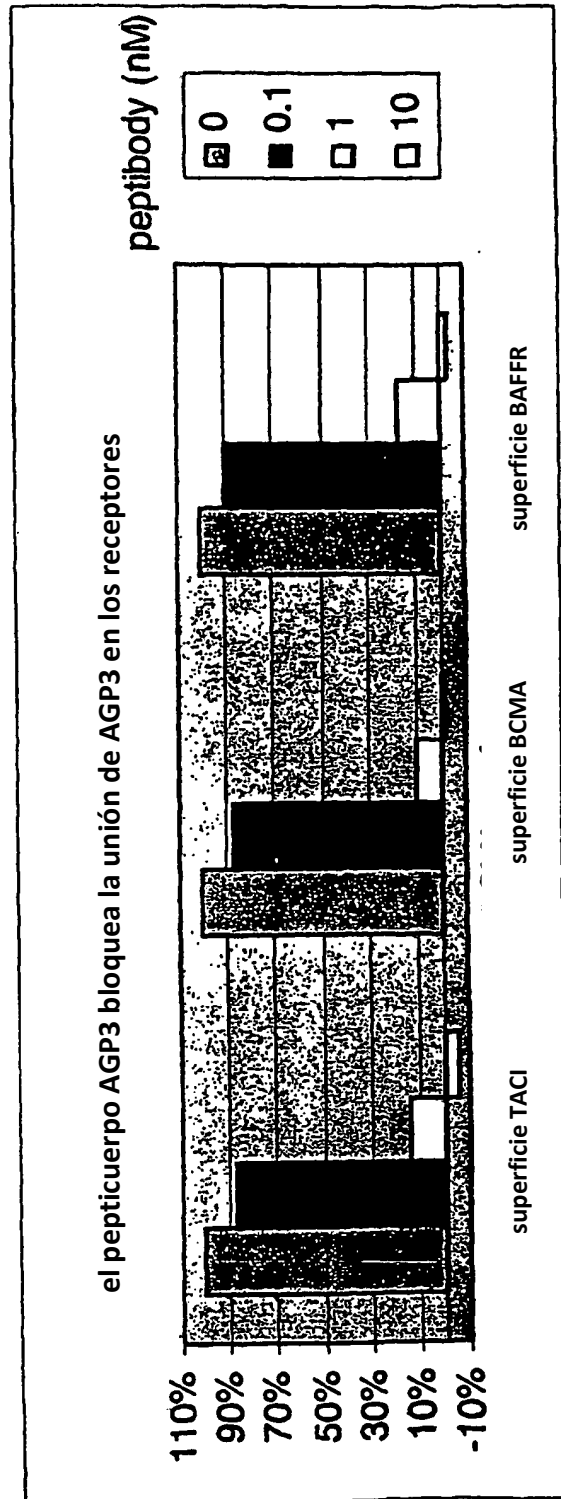
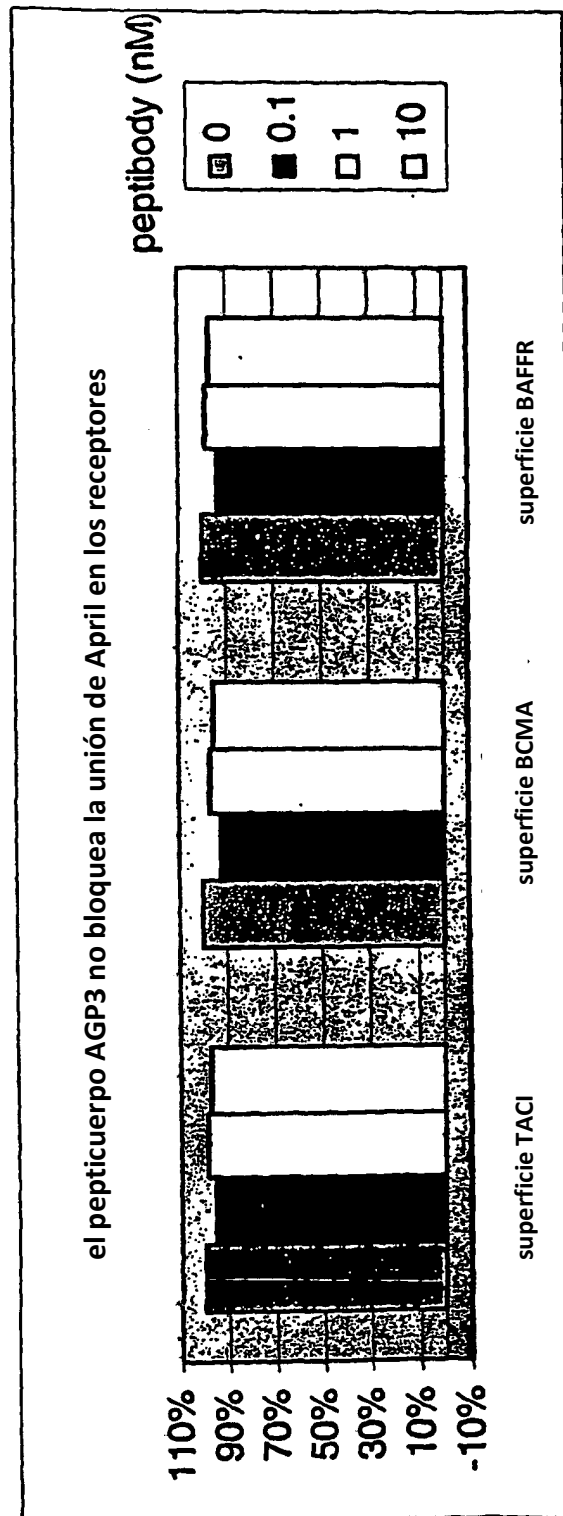


FIG. 11B



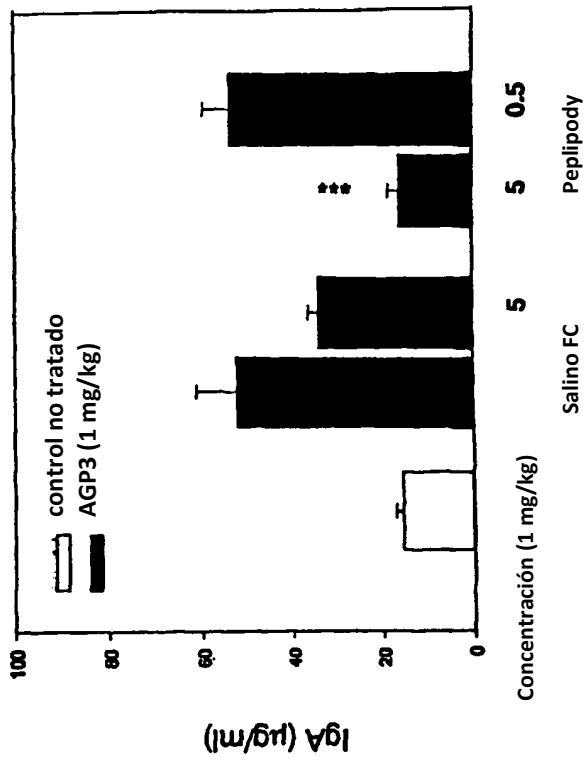


FIG. 12B

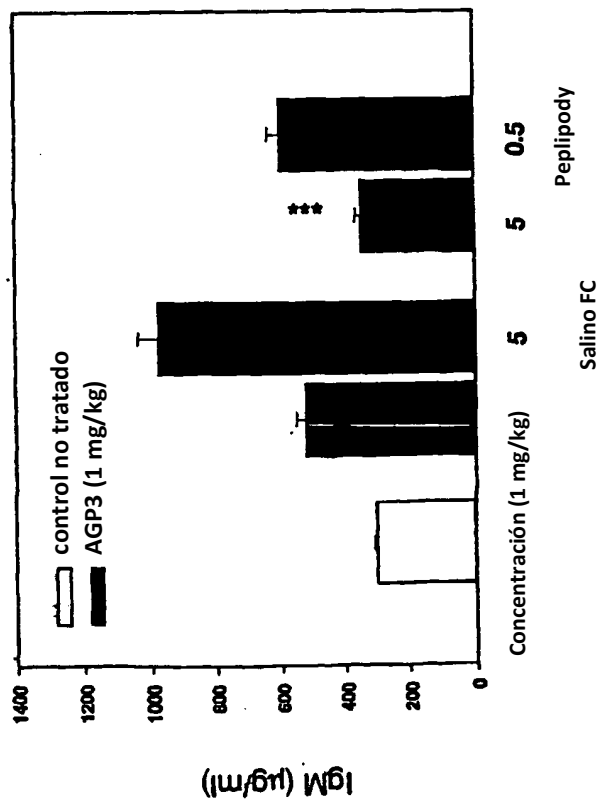
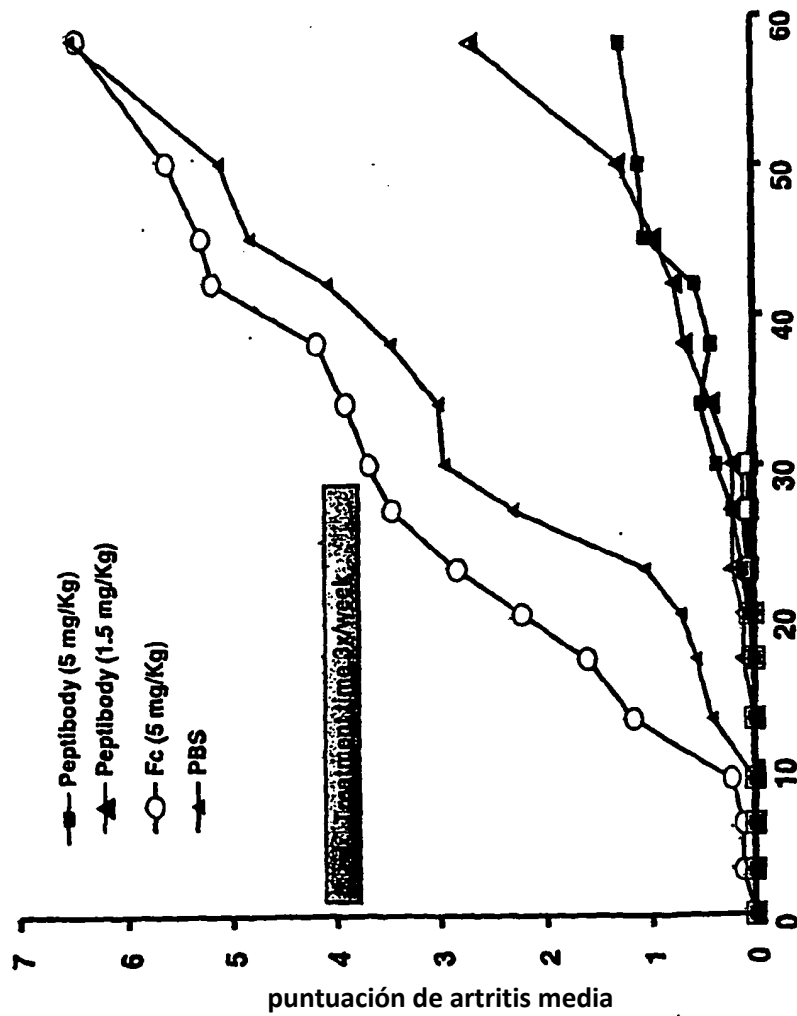


FIG. 12A

control no tratado
AGP3 (1 mg/kg)

FIG. 13

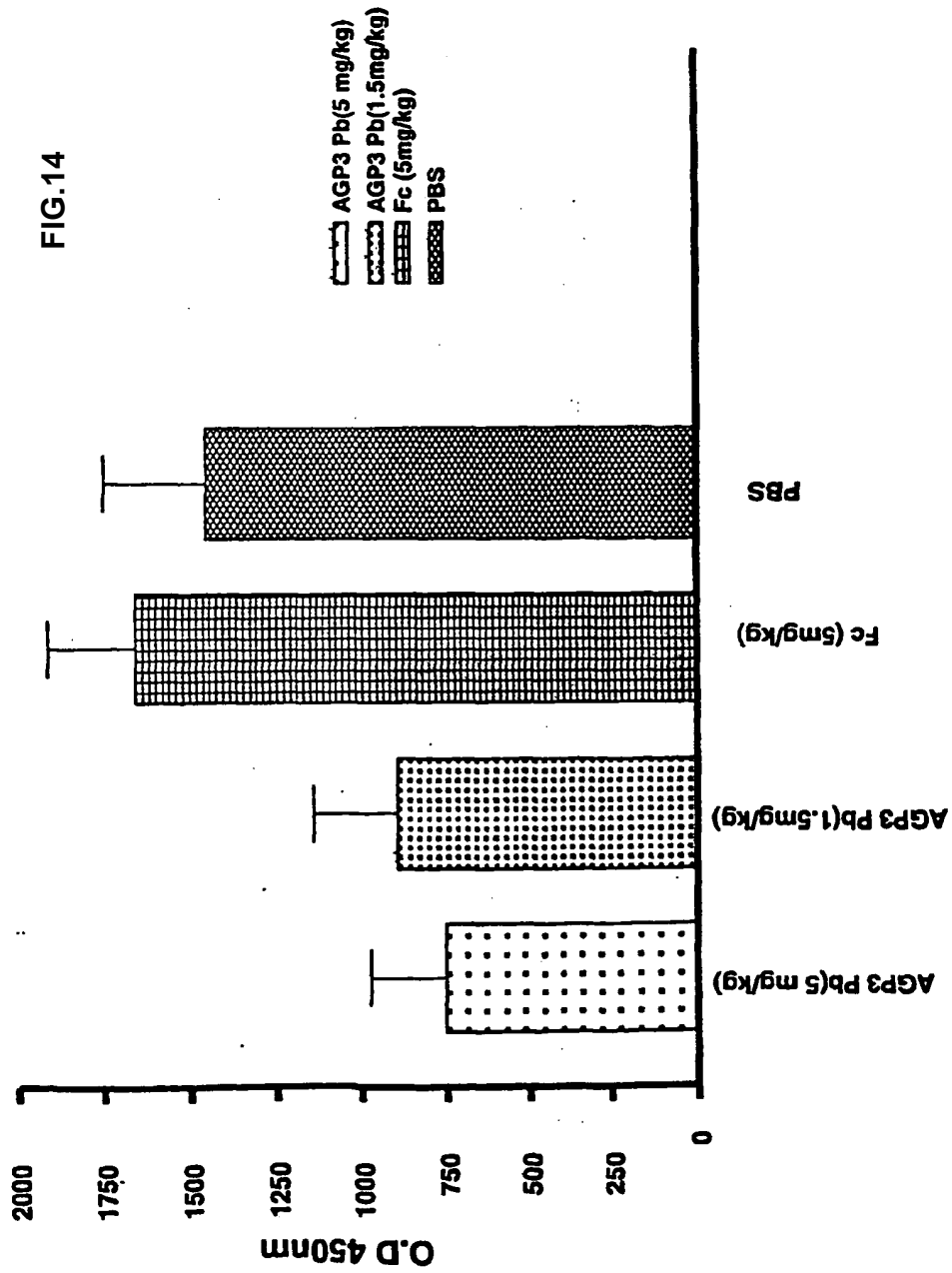


días tras la inmunización de refuerzo

tiempo hasta la progresión de la enfermedad	Pb (5mg/Kg)	Pb (1.5mg/Kg)
valor P frente a PBS	<0.0001	0.0001
valor P frente a Fc	<0.0001	0.0004

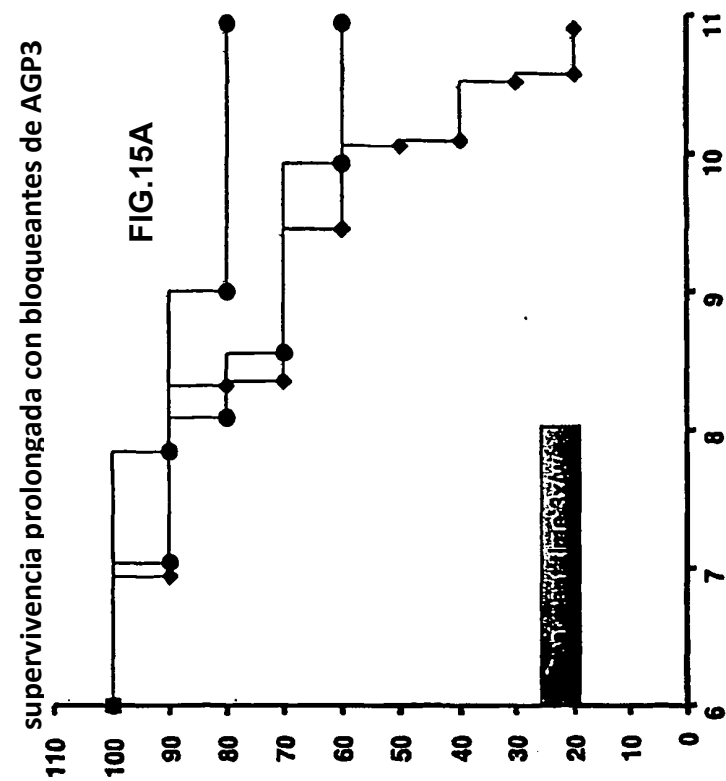
Nota: valor p basado en prueba de log-rank

Nivel reducido de IgG2b anti-colágeno tras el tratamiento con el peptidocuerpo AGP3.

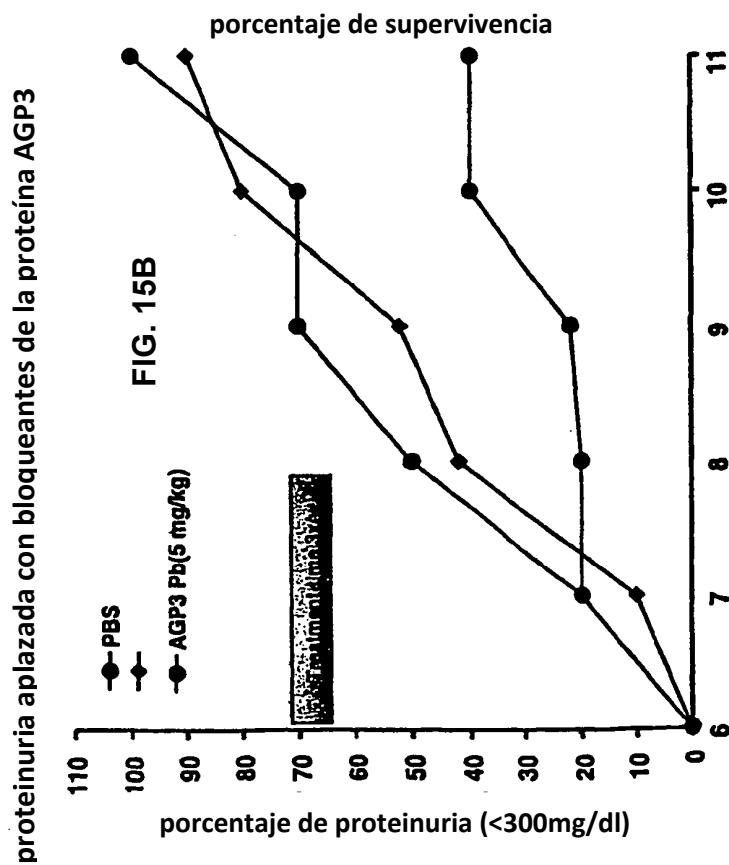


Se tomaron muestras de suero una semana después del tratamiento final del reactivo (día 35).

El gráfico anterior es representativo también de los isotipos IgG1, IgG3 e IgG2a.



meses de edad	
tiempo hasta la muerte	Pb
p-value vs PBS	0.3685
p-value vs Fc	0.0159



meses de edad	
incidencia de proteinuria	Pb
p-value vs PBS	0.0108
P-vs Fc	0.0573

FIG. 16A

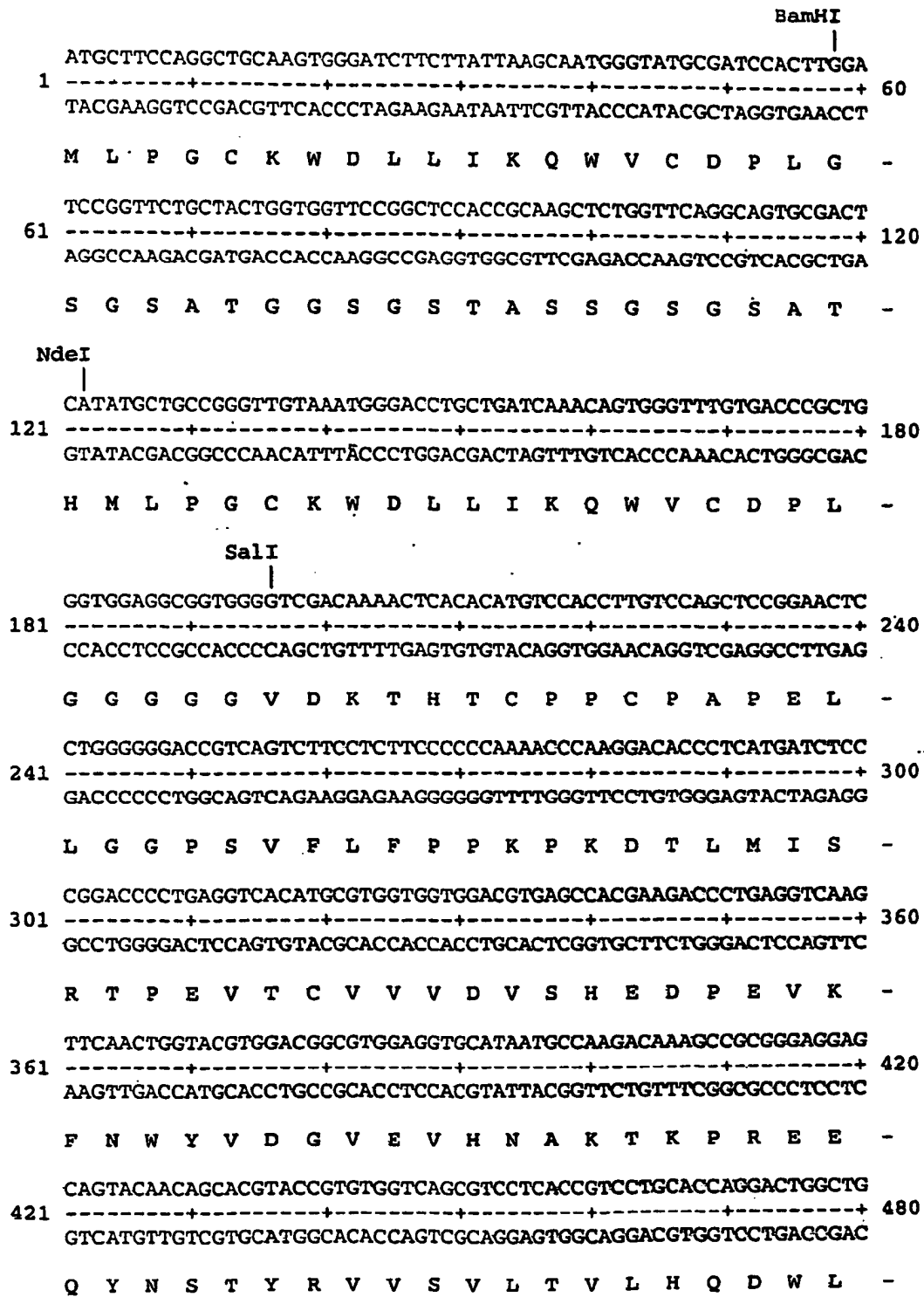


FIG. 16B

```

AATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAA
481 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 540
TTACCGTTCCTCATGTTACGTTCCAGAGGTTGTTTCGGGAGGGTCGGGGGTAGCTCTTT

N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K -

ACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCC
541 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 600
TGGTAGAGGTTTCGGTTTCCCGTCGGGGCTCTTGGTGTCCACATGTGGGACGGGGGTAGG

T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S -

CGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC
601 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 660
GCCCTACTCGACTGGTTCTTGGTCCAGTCGGACTGGACGGACCAGTTTCCGAAGATAGGG

R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P -

AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC TACAAGACCACG
661 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 720
TCGCTGTAGCGGCACCTCACCTCTCGTTACCCGTCGGCCTCTTGTTGATGTTCTGGTG

S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T -

CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAG
721 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 780
GGAGGGCAGCAGCTGAGGCTGCCGAGGAAGAAGGAGATGTCGTTGAGTGGCACCTGTT

P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K -

AGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAC
781 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 840
TCGTCCACCGTCGTCCCCTTGCAGAAGAGTACGAGGCACTACGTACTCCGAGACGTGTTG

S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N -

CACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATAA
841 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 882
GTGATGTGCGTCTTCTCGGAGAGGGACAGAGGCCCATTTATT

H Y T Q K S L S L S P G K * -

```