

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 586 401**

51 Int. Cl.:

C07K 16/22 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 14/51 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

A61P 19/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.06.2004** **E 04776553 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.07.2016** **EP 1636270**

54 Título: **Anticuerpos específicos para la esclerostina y métodos para aumentar la mineralización ósea**

30 Prioridad:

16.06.2003 US 478977 P

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

14.10.2016

73 Titular/es:

**UCB PHARMA S.A. (100.0%)
Allée de la Recherche 60
1070 Brussels, BE**

72 Inventor/es:

**WINKLER, DAVID, G.;
SHI, JIYE y
LATHAM, JOHN**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 586 401 T3

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

DESCRIPCIÓN

Anticuerpos específicos para la esclerostina y métodos para aumentar la mineralización ósea

5 **Campo técnico**

La presente invención se relaciona, en general, con inmunógenos, así como con productos farmacéuticos, y, más concretamente, con anticuerpos específicos para la esclerostina adecuados para aumentar el contenido mineral del hueso. Dichas composiciones pueden ser utilizadas para tratar una amplia variedad de afecciones, incluyendo, por ejemplo, la osteopenia, la osteoporosis, las fracturas y otros trastornos en los que una baja densidad mineral del hueso es una marca distintiva de la enfermedad.

Antecedentes de la invención

Se producen dos o tres fases distintas de cambios en la masa ósea a lo largo de la vida de un individuo (véase Riggs, West J. Med. 154: 63-77 (1991)). La primera fase se produce tanto en hombres como en mujeres y procede hasta alcanzar un pico de masa ósea. Esta primera fase se alcanza gracias al crecimiento lineal de las placas de crecimiento endocondral y al crecimiento radial debido a un índice de aposición perióstica. La segunda fase comienza hacia los 30 años de edad para el hueso trabecular (huesos planos, tales como las vértebras y la pelvis) y hacia los 40 años de edad para el hueso cortical (v.g., huesos largos de los miembros) y continúa hasta la edad avanzada. Esta fase se caracteriza por una lenta pérdida ósea y se produce tanto en hombres como en mujeres. En las mujeres, también se produce una tercera fase de pérdida ósea, muy probablemente debido a deficiencias estrogénicas posmenopáusicas. Durante esta fase sola, las mujeres pueden perder un 10% adicional de masa ósea del hueso cortical y un 25% adicional del compartimento trabecular (véase Riggs, *supra*).

La pérdida de contenido mineral del hueso puede estar causada por una amplia variedad de afecciones y puede desembocar en problemas médicos significativos. Por ejemplo, la osteoporosis es una enfermedad debilitante en humanos y se caracteriza por disminuciones marcadas en la masa y la densidad mineral de los huesos del esqueleto, deterioro estructural del hueso, incluyendo degradación de la microarquitectura del hueso y aumentos correspondientes en la fragilidad ósea, y susceptibilidad a la fractura en los individuos afectados. La osteoporosis en humanos va precedida de osteopenia clínica (densidad mineral ósea mayor de una desviación estándar, pero menor de 2,5 desviaciones estándar por debajo del valor medio para el hueso de adultos jóvenes), una afección que se encuentra en aproximadamente 25 millones de personas en los Estados Unidos. Otros 7-8 millones de pacientes en los Estados Unidos han sido diagnosticados de osteoporosis clínica (definida como contenido mineral óseo mayor de 2,5 desviaciones estándar por debajo del del hueso de los adultos jóvenes maduros). La osteoporosis es una de las enfermedades más caras para el sistema sanitario, con un coste de decenas de miles de millones de dólares anuales en los Estados Unidos. Además de los costes relacionados con el cuidado de la salud, se suman el cuidado en residencias a largo plazo y los días de trabajo perdidos a los costes financieros y sociales de esta enfermedad. A nivel mundial, aproximadamente 75 millones de personas presentan riesgo de osteoporosis.

La frecuencia de osteoporosis en la población humana aumenta con la edad. Entre los caucásicos, la osteoporosis es predominante en mujeres, las cuales, en los Estados Unidos, representan un 80% del total de pacientes con osteoporosis. La mayor fragilidad y susceptibilidad a las fracturas del hueso esquelético en las personas de edad se agrava por el mayor riesgo de caídas accidentales en esta población. Se reportan más de 1,5 millones de fracturas óseas relacionadas con la osteoporosis en los Estados Unidos cada año. Caderas, muñecas y vértebras fracturadas se encuentran entre las lesiones más comunes asociadas a la osteoporosis. Las fracturas de cadera, en particular, son extremadamente molestas y caras para el paciente, y en mujeres guardan correlación con elevados índices de mortalidad y morbilidad.

Aunque la osteoporosis ha sido considerada como un aumento del riesgo de fracturas debido a una menor masa ósea, ninguno de los tratamientos de los que se dispone actualmente para trastornos esqueléticos puede aumentar substancialmente la densidad ósea de los adultos. Una fuerte apreciación entre muchos médicos es que se necesitan fármacos que pudieran aumentar la densidad ósea en adultos, particularmente en los huesos de la muñeca, de la columna vertebral y de la cadera, que tienen riesgo de osteopenia y osteoporosis.

Las estrategias actuales para la prevención de la osteoporosis pueden ofrecer algún beneficio a los individuos, pero no pueden asegurar la resolución de la enfermedad. Estas estrategias incluyen la moderación de la actividad física (en particular en actividades con soporte de peso) al aparecer la edad avanzada, el aporte adecuado de calcio en la dieta y la evitación del consumo de productos que contengan alcohol o tabaco. Para pacientes que presentan osteopenia u osteoporosis clínica, los fármacos y estrategias terapéuticas actuales prevalentes se dirigen a reducir el avance en la pérdida de masa ósea inhibiendo el proceso de absorción del hueso, un aspecto natural del proceso de remodelación ósea que se produce constitutivamente.

Por ejemplo, se está prescribiendo actualmente estrógeno para retardar la pérdida ósea. Sin embargo, existe controversia sobre si los pacientes obtienen algún beneficio a largo plazo y sobre si el estrógeno llega a tener algún

efecto en pacientes de más de 75 años de edad. Además, se cree que el uso de estrógeno aumenta el riesgo de cáncer de mama y de endometrio. También se han sugerido la calcitonina, la osteocalcina con vitamina K o altas dosis de calcio en la dieta, con o sin vitamina D, para mujeres posmenopáusicas. Las dosis altas de calcio, sin embargo, pueden tener con frecuencia efectos colaterales gastrointestinales desagradables, y se deben monitorizar continuamente los niveles de calcio en suero y orina (v.g., Khosla y Riggs, *Mayo Clin. Proc.* 70: 978-982, 1995).

Otros enfoques terapéuticos de la osteoporosis incluyen los bisfosfonatos (v.g., Fosamax™, Actonel™, Bonviva™, Zometa™, olpadronato, neridronato, skelid, bonefós), hormona paratiroidea, calciolíticos, calciomiméticos (v.g., cinacalcet), estatinas, esteroides anabolizantes, sales de lantano y estroncio y fluoruro de sodio. Dichos agentes terapéuticos, sin embargo, se asocian con frecuencia a efectos colaterales no deseados (por ejemplo, la calcitonina y los esteroides pueden causar náuseas y provocar una reacción inmunológica; los bisfosfonatos y el fluoruro de sodio pueden inhibir la reparación de fracturas, incluso aunque la densidad ósea aumente de manera modesta) que pueden obstaculizar su uso eficaz (véase Khosla y Riggs, *supra*).

WO 03/106657 se relaciona con secuencias de ácidos nucleicos y de aminoácidos WISE/SOST. WO 2004/082608 se relaciona con la identificación y clonación del gen SOST, así como con aspectos relacionados.

WO0032773 describe la proteína SOST derivada de diferentes mamíferos, tales como humano, ratón, rata y vaca. Dicho documento desvela la producción de anticuerpos policlonales contra SOST, sugiere la producción de anticuerpos monoclonales dirigidos contra dicho(s) antígeno(s) y se refiere a métodos de cribado para identificar anticuerpos que inhiben específicamente la unión de SOST a BMP. Se sugiere el uso de anticuerpos anti-SOST para aumentar la mineralización ósea en afecciones tales como la osteopenia.

Ninguna estrategia terapéutica actualmente practicada para tratar una afección asociada a una mineralización ósea excesiva o insuficiente, tal como la osteoporosis u otros trastornos caracterizados por pérdida de mineralización ósea, incluye un fármaco que altere (es decir, que aumente o disminuya de un modo estadísticamente significativo) la masa ósea. En particular, ninguna estrategia actual estimula o aumenta terapéuticamente el crecimiento de nueva masa ósea. La presente invención proporciona composiciones y métodos que pueden ser usados para aumentar la mineralización ósea y que, por lo tanto, pueden ser usados para tratar una amplia variedad de afecciones en las que es deseable un aumento de la masa ósea. La presente invención también ofrece otras ventajas relacionadas.

Breve resumen de la invención

La presente invención proporciona un inmunógeno consistente en un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEC. ID. N° 53.

La invención también proporciona un método no terapéutico para producir un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido SOST, consistente en inmunizar a un animal no humano con un inmunógeno de la invención.

La invención proporciona adicionalmente una composición farmacéutica consistente en el anticuerpo de la invención o un fragmento de unión a antígeno del mismo y un soporte fisiológico.

La invención proporciona además un método para identificar un anticuerpo que aumenta el contenido mineral del hueso, consistente en: (a) poner en contacto (i) un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido SOST que comprende una secuencia de aminoácidos expuesta en cualquiera de la SEC. ID. N° 1 con (ii) al menos un péptido SOST de la invención en condiciones y durante un tiempo suficientes para permitir la formación de un complejo anticuerpo/péptido SOST; y (b) detectar el nivel de complejo anticuerpo/péptido SOST, y detectar así la presencia de un anticuerpo que aumenta el contenido mineral del hueso.

La invención también proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de la invención para uso en el tratamiento o la prevención de una afección que da como resultado pérdida de contenido mineral óseo, donde la afección es al menos una de acondroplasia, disostosis cleidocraneal, encondromatosis, displasia fibrosa, enfermedad de Gaucher, raquitismo hipofosfatémico, síndrome de Marfan, exostosis múltiples hereditarias, neurofibromatosis, osteogénesis imperfecta, osteopetrosis, osteopoiquiosis, una lesión esclerótica, una fractura, enfermedad periodontal, pseudoartrosis, osteomielitis piogénica, un estado anémico, una afección causada por esteroides, una afección causada por heparina, un trastorno de la médula ósea, escorbuto, malnutrición, deficiencia en calcio, osteoporosis idiopática, osteopenia u osteoporosis congénita, alcoholismo, enfermedad hepática crónica, senilidad, estado posmenopáusico, oligomenorrea, amenorrea, gestación, diabetes mellitus, hipertiroidismo, enfermedad de Cushing, acromegalia, hipogonadismo, inmovilización o mal uso, síndrome de distrofia simpática refleja, osteoporosis regional transitoria y osteomalacia.

Adicionalmente, la invención proporciona el uso de un anticuerpo o de un fragmento de unión a antígeno de la invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una afección que da lugar a pérdida de contenido mineral óseo, donde la afección es al menos una de acondroplasia, disostosis cleidocraneal, encondromatosis, displasia fibrosa, enfermedad de Gaucher, raquitismo hipofosfatémico, síndrome de Marfan,

exostosis múltiples hereditarias, neurofibromatosis, osteogénesis imperfecta, osteopetrosis, osteopoiquiosis, una lesión esclerótica, una fractura, enfermedad periodontal, pseudoartrosis, osteomielitis piogénica, un estado anémico, una afección causada por esteroides, una afección causada por heparina, un trastorno de la médula ósea, escorbuto, malnutrición, deficiencia de calcio, osteoporosis idiopática, osteopenia u osteoporosis congénita, alcoholismo, enfermedad hepática crónica, senilidad, estado posmenopáusico, oligomenorrea, amenorrea, gestación, diabetes mellitus, hipertiroidismo, enfermedad de Cushing, acromegalia, hipogonadismo, inmovilización o mal uso, síndrome de distrofia simpática refleja, osteoporosis regional transitoria y osteomalacia.

En ciertas realizaciones particulares de la invención, el anticuerpo es un anticuerpo policlonal. En otras realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, el cual es un anticuerpo monoclonal de ratón, humano, de rata o de hámster. También se hace referencia a una célula de hibridoma o una célula huésped que es capaz de producir el anticuerpo monoclonal. En otras realizaciones de la invención, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado o un anticuerpo quimérico. También se hace referencia a una célula huésped que produce el anticuerpo humanizado o quimérico. En ciertas realizaciones, el fragmento de unión a antígeno del anticuerpo es un fragmento F(ab')₂, Fab', Fab, Fd, o Fv. La invención también proporciona un anticuerpo que es un anticuerpo de una sola cadena, y también se hace referencia a una célula huésped capaz de expresar el anticuerpo de una sola cadena. En otra realización, la invención proporciona una composición consistente en dichos anticuerpos y un soporte fisiológicamente aceptable.

En ciertas realizaciones particulares, los inmunógenos de la presente invención se asocian a una molécula de soporte. En ciertas realizaciones, la molécula de soporte es un polipéptido de soporte, y, en realizaciones particulares, el polipéptido de soporte es hemocianina de lapá.

Estas y otras realizaciones de la presente invención resultarán evidentes haciendo referencia a la siguiente descripción detallada y a los dibujos adjuntos.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 presenta una alineación de la región que contiene el nudo de cisteína característico de un polipéptido SOST y sus homólogos más próximos. Se ilustran tres enlaces disulfuro que forman el nudo de cistina como líneas continuas. Un enlace disulfuro extra, mostrado con una línea discontinua, es único de esta familia, el cual conecta dos puntas de β -horquilla en la estructura 3D. Los polipéptidos representados son SOST: esclerostina (SEC. ID. N° 95); CGHB: Gonadotropina Coriónica Humana β (SEC. ID. N° 96); FSHB: hormona estimulante del folículo subunidad beta (SEC. ID. N° 97); TSHB: precursor de la cadena beta de la tiotropina (SEC. ID. N° 98); VWF: factor de Von Willebrand (SEC. ID. N° 99); MUC2: precursor de la mucina 2 humana (SEC. ID. N° 100); CER1: Cerberus 1 (homólogo de *Xenopus laevis*) (SEC. ID. N° 101); DRM: gremlina (SEC. ID. N° 102); DAN: (SEC. ID. N° 103); CTGF: precursor del factor de crecimiento del tejido conectivo (SEC. ID. N° 104); NOV: NovH (homólogo de la proteína del gen sobreexpresado del nefroblastoma) (SEC. ID. N° 105); CYR6: (SEC. ID. N° 106).

La Figura 2 ilustra un modelo 3D de la región central de SOST (SOST_Core).

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

Las Figuras 4A y B proporcionan una alineación de secuencia de aminoácidos de Noggin de cinco animales diferentes: humano (NOGG_HUMAN, SEC. ID. N° 107); pollos (NOGG_CHICK, SEC. ID. N° 108); rana africana de uñas (NOGG_XENLA, SEC. ID. N° 109); NOGG_FUGRU, SEC. ID. N° 110); y pez cebra (NOGG_ZEBRA, SEC. ID. N° 111); y SOST de humano (SOST_HUMAN, SEC. ID. N° 1), rata (SOST_RAT, SEC. ID. N° 20) y ratón (SOST_Mouse, SEC. ID. N° 112).

La Figura 5 ilustra la estructura del complejo Noggin/BMP-7. Se muestra el homodímero de BMP en la porción inferior de la figura en modo de superficie. Se muestra el homodímero de Noggin en la parte superior del dímero de BMP en modo de "cartoon". Los círculos delinean la región de unión N-terminal, la región central y el conector entre las regiones N-terminal y central.

La Figura 6 representa un modelo 3D del fragmento de unión a BMP potencial localizado en la región N-terminal de SOST. Se muestra un dímero de BMP en modo de superficie, y se muestra el fragmento de unión a BMP potencial en modo de barra. Se indica un residuo de fenilalanina que ajusta en un bolsillo hidrofóbico sobre la superficie de BMP.

Descripción detallada de la invención

Los anticuerpos de la presente invención son útiles para aumentar el contenido mineral y la densidad mineral del hueso, mejorando así numerosas afecciones que dan lugar a la pérdida de contenido mineral óseo, incluyendo, por ejemplo, enfermedad, predisposición genética, accidentes que ocasionan la falta de uso del hueso (v.g., debido a fracturas), agentes terapéuticos que tienen efectos sobre la resorción ósea o que matan las células formadoras de hueso, y el envejecimiento normal.

Anticuerpos específicos para proteínas de unión a TGF-beta

La presente invención proporciona un método no terapéutico para producir un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido SOST, consistente en inmunizar a un animal no humano con un inmunógeno de la invención. La invención proporciona además un anticuerpo producido mediante el método que es capaz de aumentar la densidad mineral del hueso. Por ello, la presente invención proporciona anticuerpos que se unen específicamente a SOST y también proporciona un inmunógeno consistente en un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEC. ID. N° 53, que puede ser usado para la generación y el análisis de estos anticuerpos.

Los polipéptidos y péptidos SOST que son útiles como inmunógenos pueden ser también utilizados en métodos de cribado de muestras que contienen anticuerpos, por ejemplo, muestras de anticuerpos purificados, antisueros o sobrenadantes de cultivos celulares o cualquier otra muestra biológica que pueda contener uno o más anticuerpos específicos para SOST. Estos péptidos pueden ser también utilizados en métodos para identificar y seleccionar a partir de una muestra biológica una o más células B que producen un anticuerpo que se une específicamente a SOST (v.g., ensayos de formación de placas y similares). Las células B pueden ser entonces usadas como fuente de un polinucleótido codificante de un anticuerpo específico para SOST que puede ser clonado y/o modificado por técnicas de biología molecular recombinante conocidas en este campo y aquí descritas.

Una "muestra biológica", tal como se usa aquí, se refiere en ciertas realizaciones a una muestra que contiene al menos un anticuerpo específico para un polipéptido SOST, y se puede conseguir una muestra biológica obteniendo una muestra de sangre (de la que se puede preparar suero o plasma), un espécimen de biopsia, un explante de tejido, un cultivo de órganos o cualquier otra preparación de tejidos o de células de un sujeto o de una fuente biológica. Una muestra puede referirse también a una preparación de tejidos o de células en la que se ha alterado la integridad morfológica o el estado físico, por ejemplo, por disección, disociación, solubilización, fraccionación, homogenización, extracción bioquímica o química, pulverización, liofilización, sonicación o cualquier otro medio para procesar una muestra derivada de un sujeto o de una fuente biológica. El sujeto o la fuente biológica puede ser un animal humano o no humano, un cultivo celular primario (v.g., células B inmunizadas *in vitro*) o una línea celular adaptada a cultivo, incluyendo, aunque sin limitación, líneas celulares sometidas a ingeniería genética que pueden contener secuencias de ácidos nucleicos recombinantes integradas en cromosoma o episomales, líneas celulares inmortalizadas o inmortalizables, líneas celulares híbridas de células somáticas, líneas celulares diferenciadas o diferenciables, líneas celulares transformadas y similares.

Tal como se usa aquí, se dice que una molécula "se une específicamente" a una proteína de unión a TGF-beta si reacciona a un nivel detectable con la proteína de unión a TGF-beta, pero no reacciona detectablemente con péptidos y polipéptidos que contienen una secuencia no relacionada o una secuencia de una proteína de unión a TGF-beta diferente. Los anticuerpos de la invención pueden ser, por ejemplo, inmunoglobulinas policlonales, monoclonales, de una sola cadena, quiméricas, antiidiotípicas o injertadas con CDR, o fragmentos de las mismas, tales como fragmentos F(ab')₂, Fab, Fab', Fv y Fd de inmunoglobulinas proteolíticamente generados o recombinantemente producidos.

Son particularmente útiles los anticuerpos anti-proteína de unión a TGF-beta que "se unen específicamente" a la proteína de unión a TGF-beta de la SEC. ID. N° 1, pero no a otras proteínas de unión a TGF-beta, tales como Dan, Cerberus, SCGF o Gremlin. Se entiende que los anticuerpos se unen específicamente a una proteína de unión a TGF-beta, o a un miembro específico de la familia TGF-beta, si se unen con una K_a mayor de o igual a 10⁴ M⁻¹, más preferiblemente mayor de o igual a aproximadamente 10⁵ M⁻¹, más preferiblemente mayor de o igual a aproximadamente 10⁶ M⁻¹, aún más preferiblemente mayor de o igual a 10⁷ M⁻¹, y aún más preferiblemente mayor de o igual a 10⁸ M⁻¹, y no se unen a otras proteínas de unión a TGF-beta. La afinidad de un anticuerpo por su antígeno relacionado es también comúnmente expresada como una constante de disociación K_D, y un anticuerpo anti-SOST se une específicamente a un miembro de la familia TGF-beta si se une con una K_D inferior o igual a 10⁻⁴ M, más preferiblemente inferior o igual a aproximadamente 10⁻⁵ M, más preferiblemente inferior o igual a aproximadamente 10⁻⁶ M, aún más preferiblemente inferior o igual a 10⁻⁷ M, y aún más preferiblemente inferior o igual a 10⁻⁸ M. Además, los anticuerpos de la presente invención preferiblemente bloquean, alteran o inhiben (v.g., reducen con significación estadística) la unión de una proteína de unión a TGF-beta a un miembro de la familia TGF-beta.

La afinidad de un anticuerpo o compañero de unión, así como el grado en el que un anticuerpo inhibe la unión, pueden ser fácilmente determinados por alguien con conocimientos ordinarios en la materia usando técnicas convencionales, por ejemplo las descritas por Scatchard *et al.* (Ann. N.Y. Acad. Sci. 51: 660-672, (1949)) o por resonancia plasmónica de superficie (SPR; BIAcore, Biosensor, Piscataway, NJ). Para la resonancia plasmónica de superficie, se inmovilizan las moléculas diana sobre una fase sólida y se las expone a ligandos en una fase móvil que discurre a lo largo de una celda de flujo. Si se produce la unión de los ligandos a la diana inmovilizada, cambia el índice de refracción local, lo que lleva a un cambio en el ángulo RPS, que puede ser monitorizado en tiempo real detectando los cambios en la intensidad de la luz reflejada. Se pueden analizar los índices de cambio de la señal RPS para obtener constantes de índices aparentes para las fases de asociación y disociación de la reacción de unión. La razón de estos valores da la constante de equilibrio aparente (afinidad) (véase, v.g., Wolff *et al.*, Cancer Res. 53: 2560-65 (1993)).

Un anticuerpo según la presente invención puede pertenecer a cualquier clase de inmunoglobulinas, por ejemplo IgG, IgE, IgM, IgD o IgA. Puede ser obtenido de, o derivar de, un animal, por ejemplo, aves (v.g., pollos) y mamíferos, entre los que se incluyen, aunque sin limitación, un ratón, una rata, un hámster, un conejo u otro roedor, una vaca, un caballo, una oveja, una cabra, un camello, un humano u otro primate.

Se pueden usar métodos bien conocidos en la técnica para generar anticuerpos, antiseros policlonales o anticuerpos monoclonales específicos para una proteína de unión a TGF-beta, tal como SOST. También se pueden producir anticuerpos como inmunoglobulinas (Ig) o fragmentos de Ig sometidas a ingeniería genética diseñadas para tener propiedades deseables. Por ejemplo, a modo de ilustración y no de limitación, los anticuerpos pueden incluir una IgG recombinante que es una proteína de fusión quimérica que tiene al menos un dominio de región variable (V) de una primera especie de mamífero y al menos un dominio de región constante de una segunda especie de mamífero distinta. Más comúnmente, un anticuerpo quimérico tiene secuencias de región variable murinas y secuencias de región constante humanas. Dicha inmunoglobulina quimérica murina/humana puede ser "humanizada" injertando las regiones determinantes de complementariedad (CDR) derivadas de un anticuerpo murino, que confieren especificidad de unión para un antígeno, en regiones marco de regiones V derivadas de humano y regiones constantes derivadas de humano. Se pueden generar fragmentos de estas moléculas por digestión proteolítica, o, eventualmente, por digestión proteolítica seguida de reducción suave de los enlaces disulfuro y alquilación. De manera alternativa, dichos fragmentos pueden ser también generados por técnicas de ingeniería genética recombinante.

Ciertos anticuerpos preferidos son aquellos anticuerpos que inhiben o bloquean una actividad de la proteína de unión a TGF-beta en un ensayo *in vitro*, como aquí se describe. Se pueden valorar, en general, las propiedades de unión de un anticuerpo a una proteína de unión a TGF-beta usando métodos de inmunodetección, incluyendo, por ejemplo, un ensayo inmunosorbente ligado a enzimas (ELISA), inmunoprecipitación, inmunotransferencia, inmuno-electroforesis a contracorriente, radioinmunoensayos, ensayos dot blot, ensayos de inhibición o competencia y similares, que pueden ser fácilmente realizados por quienes tienen conocimientos ordinarios en la técnica (véanse, v.g., las Patentes Estadounidenses N° 4.376.110 y N° 4.486.530; Harlow *et al.*, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)).

También se desvelan células que expresan un inmunógeno consistente en un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEC. ID. N° 53.

Dicho péptido puede ser generado por escisión proteolítica de un polipéptido de mayor tamaño, por metodologías moleculares recombinantes, o puede ser químicamente sintetizado. Por ejemplo, se presentan aquí secuencias de ácidos nucleicos codificantes del polipéptido SOST, de tal forma que los expertos en la técnica pueden preparar de manera rutinaria polipéptido SOST para uso como inmunógenos. Los péptidos pueden ser químicamente sintetizados por métodos como los que aquí se describen y que son conocidos en la técnica. De manera alternativa, los péptidos pueden ser generados por escisión proteolítica de un polipéptido SOST, y los péptidos individuales pueden ser aislados por métodos conocidos en la técnica, tales como electroforesis en gel de poliacrilamida o cualquier número de cromatografía líquida u otros métodos de separación.

Otros inmunógenos peptídicos preferidos comprenden 21-25, 26-30, 31-35, 36-40, 41-50 o cualquier número entero de aminoácidos entre, e inclusive, 21 y 75 aminoácidos consecutivos.

Se pueden preparar anticuerpos policlonales que se unen específicamente a SOST usando métodos aquí descritos y bien conocidos para los expertos en la técnica (véanse, por ejemplo, Green *et al.*, "Production of Polyclonal Antisera", en Immunochemical Protocols (Manson, ed.), páginas 1-5 (Humana Press 1992); Harlow *et al.*, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1988); Williams *et al.*, "Expression of foreign proteins in E. coli using plasmid vectors and purification of specific polyclonal antibodies", en DNA Cloning 2: Expression Systems, 2ª Edición, Glover *et al.* (eds.), página 15 (Oxford University Press 1995)). Se pueden obtener anticuerpos para una proteína de unión a TGF-beta, por ejemplo, inmunizando a un animal con el inmunógeno de la invención. Aunque los anticuerpos policlonales son típicamente producidos en animales tales como ratas, ratones, conejos, cabras, vacas u ovejas, también se puede obtener un anticuerpo anti-proteína de unión a TGF-beta de la presente invención de un primate subhumano. Se pueden encontrar técnicas generales para producir anticuerpos útiles desde el punto de vista diagnóstico y terapéutico en babuinos, por ejemplo, en WO 91/11465 (1991) y en Losman *et al.*, Int. J Cancer 46: 310, 1990.

La preparación de un inmunógeno para inyección a animales puede incluir la copulación covalente del inmunógeno con otra proteína inmunogénica, por ejemplo, una proteína de soporte, tal como la hemocianina de lapa (KLH) o la seroalbúmina bovina (BSA) o similar. Un inmunógeno polipeptídico o peptídico puede incluir uno o más aminoácidos adicionales en el extremo N-terminal o en el C-terminal que faciliten el procedimiento de conjugación (v.g., la adición de una cisteína para facilitar la conjugación de un péptido a KLH). Se pueden substituir otros residuos de aminoácidos en un polipéptido o un péptido para evitar la conjugación en esa posición de aminoácido particular a un polipéptido de soporte (v.g., substituyendo con un residuo de serina la cisteína en posiciones internas de un polipéptido/péptido), o se pueden substituir para facilitar la solubilidad o para aumentar la inmunogenicidad.

Los inmunógenos pueden ser emulsionados en un adyuvante, por ejemplo, adyuvante completo o incompleto de Freund o el Ribi Adjuvant System (Corixa Corporation, Seattle, WA). Véase también, *v.g.*, Harlow *et al.*, *supra*. El inmunógeno puede ser inyectado al animal por cualquier número de vías diferentes, incluyendo intraperitoneal, intramuscular, intraocular, intradérmica o subcutáneamente. En general, después de la primera inyección, los animales reciben una o más inmunizaciones de refuerzo según un protocolo preferido, que puede variar según, entre otros, el antígeno, el adyuvante (de haberlo) y/o la especie animal particular. Se puede monitorizar la respuesta inmune sangrando periódicamente al animal y preparando y analizando sueros en un inmunoensayo, tal como un ELISA o un ensayo de difusión de Ouchterlony o similar, para determinar el título de anticuerpos específicos. Una vez establecido un título de anticuerpos adecuado, los animales pueden ser sangrados periódicamente para acumular los antisueros policlonales o pueden ser exsanguinados. Se pueden purificar entonces los anticuerpos policlonales que se unen específicamente a la proteína o el péptido de unión a TGF-beta a partir de dichos antisueros, por ejemplo, por cromatografía de afinidad usando proteína A. De manera alternativa, se puede realizar una cromatografía de afinidad en la que se inmoviliza la proteína o el péptido de unión a TGF-beta o un anticuerpo específico para una región constante de Ig de la especie animal inmunizada particular sobre un soporte sólido adecuado.

Como anticuerpos para uso en la invención, se incluyen anticuerpos monoclonales preparados por procedimientos convencionales de inmunización y de fusión celular como se describe aquí y se conoce en la técnica. Se pueden generar anticuerpos monoclonales anti-proteína de unión a TGF-beta usando una variedad de técnicas. Se pueden obtener anticuerpos monoclonales que se unen a antígenos específicos por métodos conocidos para los expertos en la técnica (véanse, por ejemplo, Kohler *et al.*, *Nature* 256: 495, 1975; Coligan *et al.* (eds.), *Current Protocols in Immunology*, 1: 2.5.1-2.6.7 (John Wiley & Sons 1991); Patentes Estadounidenses N° RE 32.011, N° 4.902.614, N° 4.543.439 y N° 4.411.993; *Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses*, Plenum Press, Kennett, McKearn, and Bechtol (eds.) (1980); y *Antibodies: A Laboratory Manual*, Harlow and Lane (eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press (1988); Picksley *et al.*, "Production of monoclonal antibodies against proteins expressed in *E. coli*", en *DNA Cloning 2: Expression Systems*, 2ª Edición, Glover *et al.* (eds.), página 93 (Oxford University Press 1995)). Se pueden derivar fragmentos de anticuerpos de los mismos usando cualquier técnica estándar adecuada, tal como digestión proteolítica, o eventualmente por digestión proteolítica (por ejemplo, usando papaína o pepsina), seguida de reducción suave de los enlaces disulfuro y de alquilación. De manera alternativa, dichos fragmentos pueden ser también generados por técnicas de ingeniería genética recombinante.

Para explicarlo brevemente, se pueden obtener anticuerpos monoclonales inyectando a un animal, por ejemplo, una rata, un hámster o preferiblemente un ratón, un inmunógeno de la invención según métodos conocidos en la técnica y aquí descritos. Se puede monitorizar la presencia de producción de anticuerpos específicos tras la inyección inicial (se pueden administrar las inyecciones por cualquiera de varias vías como aquí se describe para la generación de anticuerpos policlonales) y/o tras una inyección de refuerzo obteniendo una muestra de suero y detectando la presencia de un anticuerpo que se une a una proteína o péptido de unión a TGF-beta usando cualquiera de varios métodos de inmunodetección conocidos en la técnica y aquí descritos. Se extraen células linfoides, más comúnmente células del bazo o de ganglio linfático, de animales productores de anticuerpos que se unen a la proteína de unión a TGF-beta para obtener linfocitos B. Se fusionan entonces los linfocitos B con un compañero de fusión de célula de mieloma sensibilizada a fármaco, preferiblemente uno que sea singénico con el animal inmunizado y que eventualmente tenga otras propiedades deseables (*v.g.*, incapacidad para expresar productos génicos de Ig endógenas, *v.g.*, P3X63 - Ag 8.653 (ATCC N° CRL 1580); NS0, SP20), para producir hibridomas, que son líneas celulares eucarióticas inmortales. Se pueden combinar las células linfoides (*v.g.*, bazo) y las células de mieloma durante unos cuantos minutos con un agente promotor de fusión de membrana, tal como polietilenglicol o un detergente no iónico, y plaquarlas después a baja densidad sobre un medio selectivo que soporta el crecimiento de células de hibridoma, pero no de células de mieloma no fusionadas. Un medio de selección preferido es HAT (hipoxantina, aminopterina, timidina). Después de un tiempo suficiente, normalmente de aproximadamente una a dos semanas, se observan las colonias de células. Se aíslan las colonias individuales y se pueden estudiar los anticuerpos producidos por las células en cuanto a la actividad de unión a la proteína de unión a TGF-beta, o sus variantes o fragmentos, usando cualquiera de una variedad de inmunoensayos conocidos en la técnica y aquí descritos. Se hace referencia a hibridomas productores de anticuerpos monoclonales con gran afinidad y especificidad para SOST. También se hace referencia, por lo tanto, a hibridomas que producen anticuerpos monoclonales que se unen específicamente a una proteína de unión a TGF-beta o sus variantes o fragmentos. Se clonan los hibridomas (*v.g.*, mediante clonación por dilución limitante o mediante aislamiento en placa de agar blando) y se seleccionan y cultivan los clones positivos que producen un anticuerpo específico para el antígeno. También se hace referencia a anticuerpos que bloquean, inhiben o alteran la unión de la proteína de unión a TGF-beta a un miembro de la familia TGF-beta.

Se pueden aislar los anticuerpos monoclonales de los cultivos de hibridomas a partir de los sobrenadantes de los cultivos de hibridomas. Un método alternativo para la producción de un anticuerpo monoclonal murino consiste en inyectar las células de hibridoma en la cavidad peritoneal de un ratón singénico, por ejemplo, un ratón que haya sido tratado (*v.g.*, imprimado con pristano) para promover la formación de líquido ascítico que contiene el anticuerpo monoclonal. Los anticuerpos monoclonales pueden ser aislados y purificados mediante una variedad de técnicas bien establecidas. Dichas técnicas de aislamiento incluyen la cromatografía de afinidad con Proteína-A Sefarosa, la

cromatografía de exclusión por tamaños y la cromatografía de intercambio iónico (véanse, por ejemplo, Coligan, en las páginas 2.7.1-2.7.12 y las páginas 2.9.1-2.9.3; Baines *et al.*, "Purification of Immunoglobulin G (IgG)", en *Methods in Molecular Biology*, Vol. 10, páginas 79-104 (The Humana Press, Inc. 1992)). Los anticuerpos monoclonales pueden ser purificados por cromatografía de afinidad usando un ligando apropiado seleccionado en base a las propiedades particulares del anticuerpo (v.g., isotipo de cadena pesada o ligera, especificidad de unión, etc.). Como

ejemplos de ligando adecuado, inmovilizado sobre un soporte sólido, se incluyen Proteína A, Proteína G, un anticuerpo antirregión constante (cadena ligera o cadena pesada), un anticuerpo antiidiotipo y una proteína de unión a TGF-beta, o sus fragmentos o variantes.

Además, un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo monoclonal humano. Se pueden generar anticuerpos monoclonales humanos por cualquier técnica con la que estén familiarizados quienes tienen conocimientos ordinarios en este campo. Por ejemplo, se pueden obtener anticuerpos monoclonales humanos de ratones transgénicos que han sido sometidos a ingeniería para producir anticuerpos humanos específicos en respuesta a un desafío antigénico. Se describen métodos para obtener anticuerpos humanos de ratones transgénicos, por ejemplo, en Green *et al.*, *Nature Genet.* 7: 13, 1994; Lonberg *et al.*, *Nature* 368: 856, 1994; Taylor *et al.*, *Int. Immun.* 6: 579, 1994; Patente Estadounidense N° 5.877.397; Bruggemann *et al.*, 1997 *Curr. Opin. Biotechnol.* 8: 455-58; Jakobovits *et al.*, 1995 *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 764: 525-35. En esta técnica, se introducen elementos del locus de las cadenas pesadas y ligeras humanas en cepas de ratones derivadas de líneas de células madre embrionarias que contienen alteraciones buscadas de los loci de las cadenas pesadas y de las cadenas ligeras endógenas. (Véase también Bruggemann *et al.*, *Curr. Opin. Biotechnol.* 8: 455-58 (1997)). Por ejemplo, los transgenes de inmunoglobulinas humanas pueden ser construcciones de minigenes, o transloci sobre cromosomas artificiales de levaduras, que sufren reorganización e hipermutación de ADN específico de células B en el tejido linfóide del ratón. Se pueden obtener anticuerpos monoclonales humanos inmunizando a los ratones transgénicos, que pueden entonces producir anticuerpos humanos específicos para el antígeno. Se pueden usar células linfoides de los ratones transgénicos inmunizados para producir hibridomas secretores de anticuerpos humanos según los métodos aquí descritos. También se pueden obtener sueros policlonales que contengan anticuerpos humanos de la sangre de los animales inmunizados.

Otro método para generar anticuerpos monoclonales humanos específicos para la proteína de unión a TGF-beta incluye la immortalización de células de sangre periférica humana mediante transformación con EBV. Véase, v.g., la Patente Estadounidense N° 4.464.456. Dicha línea de células B (o línea de células linfoblastoides) immortalizada que produce un anticuerpo monoclonal que se une específicamente a una proteína de unión a TGF-beta (o una variante o fragmento del mismo) puede ser identificada por métodos de inmunodetección como aquí se presentan, por ejemplo, un ELISA, y luego aislada por técnicas de clonación estándar. Se puede mejorar la estabilidad de la línea de células linfoblastoides productora de un anticuerpo anti-proteína de unión a TGF-beta fusionando la línea de células transformadas con un mieloma murino para producir una línea celular híbrida murina-humana según métodos conocidos en la técnica (véase, v.g., Glasky *et al.*, *Hybridoma* 8: 377-89 (1989)).

En ciertas realizaciones, se selecciona una célula B que produce un anticuerpo anti-SOST y se clonan las regiones variables de cadenas ligeras y de cadenas pesadas a partir de la célula B según técnicas de biología molecular conocidas en este campo (WO 92/02551; patente estadounidense 5.627.052; Babcook *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 7843-48 (1996)) y aquí descritas. Preferiblemente, se aíslan células B de un animal inmunizado del bazo, del ganglio linfático o de una muestra de sangre periférica seleccionando una célula que produce un anticuerpo que se une específicamente a SOST. También se pueden aislar células B de humanos, por ejemplo, de una muestra de sangre periférica. Los métodos para detectar células B únicas que producen un anticuerpo con la especificidad deseada son bien conocidos en la técnica, por ejemplo, por formación de placa, clasificación de células activada por fluorescencia, estimulación *in vitro* seguida de detección de anticuerpos específicos y similares. Como métodos para la selección de células B productoras de anticuerpos específicos, se incluyen, por ejemplo, la preparación de una suspensión unicelular de células B en agar blando que contiene SOST o un fragmento peptídico del mismo. La unión del anticuerpo específico producido por la célula B al antígeno da como resultado la formación de un complejo, que puede ser visible como un inmunoprecipitado. Después de seleccionar las células B productoras del anticuerpo específico, se pueden clonar los genes del anticuerpo específico aislando y amplificando el ADN o el ARNm según métodos conocidos en la técnica y aquí descritos.

Para usos particulares, se pueden desear fragmentos de anticuerpos anti-proteína de unión a TGF-beta. Los fragmentos de anticuerpos, F(ab')₂, Fab, Fab', Fv, Fc, Fd, conservan el sitio de unión a antígeno del anticuerpo entero y, por lo tanto, se unen al mismo epítipo. Estos fragmentos de unión a antígeno derivados de un anticuerpo pueden ser obtenidos, por ejemplo, por hidrólisis proteolítica del anticuerpo, por ejemplo, por digestión con pepsina o papaína de anticuerpos enteros según métodos convencionales. A modo de ilustración, se pueden producir fragmentos de anticuerpos por escisión enzimática de anticuerpos con pepsina para obtener un fragmento 5S denominado F(ab')₂. Este fragmento puede ser aún escindido usando un agente reductor tiol para producir fragmentos monovalentes Fab' 3,5S. Eventualmente, la reacción de escisión puede ser llevada a cabo usando un grupo bloqueante para los grupos sulfhidrilo que resultan de la escisión de uniones disulfuro. Como alternativa, una escisión enzimática usando papaína produce dos fragmentos Fab monovalentes y un fragmento Fc directamente. Estos métodos están descritos, por ejemplo, en Goldenberg, patente estadounidense N° 4.331.647, Nisonoff *et al.*,

Arch. Biochem. Biophys. 89: 230, 1960; Porter, Biochem. J. 73: 119, 1959; Edelman *et al.*, en *Methods in Enzymology* 1: 422 (Academic Press 1967); y en Coligan en las páginas 2.8.1-2.8.10 y 2.10.-2.10.4. También se pueden usar otros métodos para escindir anticuerpos, tales como la separación de las cadenas pesadas para formar fragmentos de cadenas ligeras-pesadas monovalentes (Fd), una mayor escisión de fragmentos u otras técnicas enzimáticas, químicas o genéticas, siempre que los fragmentos se unan al antígeno que resulta reconocido por el anticuerpo intacto.

Un fragmento de anticuerpo puede ser también cualquier proteína sintética u obtenida por ingeniería genética que actúe como un anticuerpo en el sentido de que se una a un antígeno específico para formar un complejo. Por ejemplo, como fragmentos de anticuerpos se incluyen fragmentos aislados consistentes en la región variable de la cadena ligera, fragmentos "Fv" consistentes en las regiones variables de las cadenas pesada y ligera, moléculas polipeptídicas de cadenas únicas recombinantes en las que las regiones variables ligera y pesada se conectan mediante un conector peptídico (proteínas scFv) y unidades de reconocimiento mínimo consistentes en los residuos de aminoácidos que imitan la región hipervariable. El anticuerpo de la presente invención preferiblemente contiene al menos un dominio de región variable. El dominio de región variable puede ser de cualquier tamaño o composición de aminoácidos y tendrá generalmente al menos una secuencia de aminoácidos hipervariable responsable de la unión a antígeno y adyacente a, o en marco con, una o más secuencias marco. En términos generales, el dominio de región variable (V) puede ser cualquier disposición adecuada de dominios variables de cadena pesada (V_H) y/o ligera (V_L) de inmunoglobulinas. Así, por ejemplo, el dominio de región V puede ser monomérico y puede ser un dominio V_H o V_L , el cual es capaz de unirse independientemente a antígeno con una afinidad aceptable. De manera alternativa, el dominio de región V puede ser dímérico y contener dímeros V_H - V_H , V_H - V_L o V_L - V_L . Preferiblemente, el dímero de región V tiene al menos una cadena V_H y al menos una cadena V_L que se asocian de manera no covalente (de aquí en adelante, se hará referencia a éste como F_v). Si se desea, se pueden copular las cadenas covalentemente ya sea directamente, por ejemplo a través de un enlace disulfuro entre los dos dominios variables, o a través de un conector, por ejemplo un conector peptídico, para formar un Fv de una sola cadena (scFv),

El dominio de región variable puede ser cualquier dominio variable natural o una versión obtenida por ingeniería del mismo. Por versión obtenida por ingeniería, se entiende un dominio de región variable que ha sido creado usando técnicas de ingeniería de ADN recombinante. Dichas versiones obtenidas por ingeniería incluyen las creadas, por ejemplo, a partir de una región variable de anticuerpo específico por inserciones, deleciones o cambios en las secuencias de aminoácidos del anticuerpo específico. Como ejemplos particulares, se incluyen dominios de región variable obtenidos por ingeniería que contienen al menos una CDR y eventualmente uno o más aminoácidos marco de un primer anticuerpo y el resto del dominio de región variable de un segundo anticuerpo.

El dominio de región variable puede unirse covalentemente en un aminoácido C-terminal a al menos otro dominio de anticuerpo o un fragmento del mismo. Así, por ejemplo, un dominio V_H que está presente en el dominio de región variable puede unirse a un dominio C_H1 de inmunoglobulina, o un fragmento del mismo. De forma similar, un dominio V_L puede unirse a un dominio C_K o un fragmento del mismo. De este modo, por ejemplo, el anticuerpo puede ser un fragmento Fab donde el dominio de unión a antígeno contiene dominios V_H y V_L asociados covalentemente unidos en sus extremos C a un dominio $CH1$ y CK , respectivamente. El dominio $CH1$ puede ser prolongado con más aminoácidos, por ejemplo, para obtener una región de bisagra o una porción de un dominio de región de bisagra tal como se encuentra en un fragmento Fab', o para obtener más dominios, tales como dominios $CH2$ y $CH3$ de anticuerpo.

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

De manera alternativa, el anticuerpo puede ser un anticuerpo recombinante o sometido a ingeniería obtenido mediante el uso de técnicas de ADN recombinante que conllevan la manipulación y reexpresión de ADN codificante de regiones variables y/o constantes de anticuerpo. Dicho ADN es conocido y/o puede ser fácilmente adquirido a partir de genotecas de ADN, incluyendo, por ejemplo, genotecas de fagos-anticuerpos (véase Chiswell y McCafferty, *Tibtech*. 10: 80-84 (1992)), o, si se desea, puede ser sintetizado. Se pueden usar procedimientos estándar de biología molecular y/o química para secuenciar y manipular el ADN, por ejemplo, para introducir codones y crear residuos de cisteína, o para modificar, añadir o suprimir otros aminoácidos o dominios, según se desee.

También se pueden generar anticuerpos quiméricos, específicos para una proteína de unión a TGF-beta y que incluyen anticuerpos humanizados, según la presente invención. Un anticuerpo quimérico tiene al menos un dominio de región constante derivado de una primera especie de mamífero y al menos un dominio de región variable

derivado de una segunda especie de mamífero distinta (véase, *v.g.*, Morrison *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6851-55 (1984)). En realizaciones preferidas, se puede construir un anticuerpo quimérico clonando la secuencia polinucleotídica que codifica al menos un dominio de región variable derivado de un anticuerpo monoclonal no humano, tal como la región variable derivada de un anticuerpo monoclonal de ratón, rata o hámster, en un vector que contiene una secuencia nucleotídica que codifica al menos una región constante humana (véanse, *v.g.*, Shin *et al.*, Methods Enzymol. 178: 459-76 (1989); Walls *et al.*, Nucleic Acids Res. 21: 2921-29 (1993)). A modo de ejemplo, se puede insertar la secuencia polinucleotídica codificante de la región variable de cadena ligera de un anticuerpo monoclonal murino en un vector que contenga una secuencia nucleotídica codificante de la secuencia de región constante de la cadena ligera kappa humana. En un vector aparte, se puede clonar la secuencia polinucleotídica codificante de la región variable de cadena pesada del anticuerpo monoclonal en marco con secuencias codificantes de una región constante de IgG humana, por ejemplo, la región constante de la IgG1 humana. La región constante humana particular seleccionada puede depender de las funciones efectoras deseadas para el anticuerpo particular (*v.g.*, fijación de complemento, unión a un receptor Fc particular, etc.). Preferiblemente, los vectores construidos serán transfectados en células eucarióticas para la expresión estable del anticuerpo quimérico. Otro método conocido en la técnica para generar anticuerpos quiméricos es la recombinación homóloga (*v.g.*, Patente Estadounidense N° 5.482.856).

Se puede someter además un anticuerpo quimérico no humano/humano a ingeniería genética para crear un anticuerpo "humanizado". Dicho anticuerpo humanizado puede tener una pluralidad de CDR derivadas de una inmunoglobulina de una especie de mamífero no humano, al menos una región marco variable humana y al menos una región constante de inmunoglobulina humana. Como estrategias útiles para diseñar anticuerpos humanizados, se pueden incluir, por ejemplo, a modo de ilustración y no de limitación, la identificación de regiones marco variables humanas que son más homólogas de las regiones marco no humanas del anticuerpo quimérico. Sin desear limitarnos a la teoría, dicha estrategia puede aumentar la probabilidad de que el anticuerpo humanizado conserve la afinidad de unión específica por una proteína de unión a TGF-beta, que, en algunas realizaciones preferidas, puede ser substancialmente la misma afinidad por una proteína de unión a TGF-beta o una variante o fragmento de la misma, y en otras ciertas realizaciones preferidas puede ser una afinidad mayor por una proteína de unión a TGF-beta. Véanse, *v.g.*, Jones *et al.*, 1986 Nature 321: 522-25; Riechmann *et al.*, 1988 Nature 332: 323-27. El diseño de dicho anticuerpo humanizado puede, por lo tanto, incluir la determinación de las conformaciones de bucles CDR y de los determinantes estructurales de las regiones variables no humanas, por ejemplo, mediante modelos de ordenador, y la comparación después de los bucles CDR y de los determinantes con estructuras de bucles CDR y determinantes humanos conocidos. Véanse, *v.g.*, Padlan *et al.*, 1995 FASEB 9: 133-39; Chothia *et al.*, 1989 Nature, 342: 377-383. También se pueden usar modelos de ordenador para comparar plantillas estructurales humanas seleccionadas por homología de secuencia con las regiones variables no humanas. Véanse, *v.g.*, Bajorath *et al.*, 1995 Ther. Immunol. 2: 95-103; EP-0578515-A3. Si la humanización de las CDR no humanas da lugar a una disminución de la afinidad de unión, los modelos de ordenador pueden ayudar a identificar residuos de aminoácidos específicos que podrían ser cambiados por mutagénesis dirigida a sitio u otras técnicas de mutagénesis para restaurar la afinidad parcial, completa o supraóptimamente (es decir, para aumentar hasta un nivel mayor del del anticuerpo no humanizado). Los que tienen conocimientos ordinarios en este campo están familiarizados con estas técnicas y apreciarán fácilmente numerosas variaciones y modificaciones de dichas estrategias de diseño.

Uno de tales métodos para preparar un anticuerpo humanizado se denomina revestimiento. Tal como se usan aquí, los términos "FR revestidos" y "FR revestidos recombinantemente" se refieren a la sustitución selectiva de residuos FR de, *v.g.*, una región V de cadena pesada o ligera de roedor con residuos FR humanos para obtener una molécula xenogénica que comprende un sitio de unión a antígeno que conserva substancialmente toda la estructura nativa de plegamiento del polipéptido FR. Las técnicas de revestimiento se basan en el conocimiento de que las características de unión a ligando de un sitio de unión a antígeno son primariamente determinadas por la estructura y la disposición relativa de los grupos de CDR de cadenas pesadas y ligeras en la superficie de unión a antígeno. Davies *et al.*, Ann. Rev. Biochem. 59: 439-73, 1990. Así, se puede conservar la especificidad de unión a antígeno en un anticuerpo humanizado sólo cuando se mantienen cuidadosamente las estructuras CDR, su interacción entre sí y su interacción con el resto de los dominios de región V. Utilizando técnicas de revestimiento, se substituyen selectivamente los residuos FR exteriores (*v.g.*, accesibles a solventes) que son fácilmente encontrados por el sistema inmune con residuos humanos para obtener una molécula híbrida que comprende una superficie revestida, o bien débilmente inmunogénica, o bien substancialmente no inmunogénica.

El procedimiento de revestimiento utiliza los datos de secuencia disponibles para los dominios variables de anticuerpos humanos compilados por Kabat *et al.*, en Sequences of Proteins of Immunological Interest, 4ª ed., (U.S. Dept. of Health and Human Services, U.S. Government Printing Office, 1987), actualizaciones de la base de datos de Kabat y otras bases de datos accesibles de los EE.UU. y extranjeras (tanto de ácidos nucleicos como de proteínas). Se pueden deducir las accesibilidades a los solventes de los aminoácidos de la región V a partir de la estructura tridimensional conocida para fragmentos de anticuerpos humanos y murinos. Inicialmente, se comparan las FR de los dominios variables de una molécula de anticuerpo de interés con secuencias FR correspondientes de dominios variables humanos obtenidas de las fuentes antes identificadas. Se comparan entonces las regiones V humanas más homólogas residuo a residuo con aminoácidos murinos correspondientes. Se substituyen los residuos de la FR murina que difieren de la contrapartida humana por los residuos presentes en el resto humano usando

técnicas recombinantes bien conocidas en este campo. Sólo se hace un cambio de residuo con restos que están al menos parcialmente expuestos (accesibles a los solventes), y se tiene cuidado en la substitución de residuos de aminoácidos que pueden tener un efecto significativo sobre la estructura terciaria de los dominios de la región V, tales como prolina, glicina y aminoácidos cargados.

De este modo, los sitios de unión a antígeno "revestidos" resultantes son así diseñados para conservar los residuos de CDR de roedores, los residuos substancialmente adyacentes a las CDR, los residuos identificados como enterrados o mayormente enterrados (inaccesibles a los solventes), los residuos que se cree que participan en contactos no covalentes (*v.g.*, electrostáticos e hidrofóbicos) entre dominios de cadenas pesadas y ligeras y los residuos de regiones estructurales conservadas de las FR que se piensa que influyen en las estructuras terciarias "canónicas" de los bucles de CDR. Estos criterios de diseño son entonces utilizados para preparar secuencias nucleotídicas recombinantes que combinan las CDR de la cadena tanto pesada como ligera de un sitio de unión a antígeno en FR de apariencia humana que pueden ser usadas para transfectar células de mamífero para la expresión de anticuerpos humanos recombinantes que exhiben la especificidad antigénica de la molécula de anticuerpo de roedor.

Un método adicional para seleccionar anticuerpos que se unen específicamente a una proteína de unión a TGF-beta o una variante o fragmento de la misma es por presentación en fagos. Véanse, *v.g.*, Winter *et al.*, 1994 *Annu. Rev. Immunol.* 12: 433-55; Burton *et al.*, 1994 *Adv. Immunol.* 57: 191-280. Se pueden crear genotecas combinatorias de genes de región variable de inmunoglobulinas humanas o murinas en fagos vectores que pueden ser cribados para seleccionar fragmentos de Ig (Fab, Fv, sFv o multímeros de los mismos) que se unen específicamente a la proteína de unión a TGF-beta o a una variante o fragmento de la misma. Véanse, *v.g.*, Patente Estadounidense Nº 5.223.409; Huse *et al.*, 1989 *Science* 246: 1275-81; Sastry *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 5728-32 (1989); Altling-Mees *et al.*, *Strategies in Molecular Biology* 3: 1-9 (1990); Kang *et al.*, 1991 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 4363-66; Hoogenboom *et al.*, 1992 *J. Molec. Biol.* 227: 381-388; Schleich *et al.*, 1997 *Hybridoma* 16: 47-52 y las referencias que allí se citan. Por ejemplo, se puede insertar una genoteca que contenga una pluralidad de secuencias polinucleotídicas codificantes de fragmentos de región variable de Ig en el genoma de un bacteriófago filamentoso, tal como M13 o una variante del mismo, en marco con la secuencia codificante de una proteína de la cubierta del fago. Una proteína de fusión puede ser una fusión de la proteína de la cubierta con el dominio de región variable de cadena ligera y/o con el dominio de región variable de cadena pesada. Según ciertas realizaciones, también se pueden presentar fragmentos Fab de inmunoglobulinas en una partícula de fago (véase, *v.g.*, la Patente Estadounidense Nº 5.698.426).

También se pueden preparar genotecas de expresión de ADNc de inmunoglobulinas de cadenas pesadas y ligeras en el fago lambda, por ejemplo, usando los vectores λ ImmunoZapTM(H) y λ ImmunoZapTM(L) (Stratagene, La Jolla, California). Para explicarlo brevemente, se aísla ARNm de una población de células B y se usa para crear genotecas de expresión de ADNc de inmunoglobulinas de cadenas pesadas y ligeras en los vectores λ ImmunoZap(H) y λ ImmunoZap(L). Estos vectores pueden ser cribados individualmente o coexpresados para formar fragmentos Fab o anticuerpos (véase Huse *et al.*, *supra*; véase también Sastry *et al.*, *supra*). Las placas positivas pueden ser convertidas a continuación en un plásmido no lítico que permita un alto nivel de expresión de fragmentos de anticuerpos monoclonales de *E. coli*.

De forma similar, también se pueden construir porciones o fragmentos, tales como fragmentos Fab y Fv, de anticuerpos usando técnicas convencionales de digestión enzimática o de ADN recombinante para incorporar las regiones variables de un gen que codifica un anticuerpo específico para una proteína de unión a TGF-beta. En una realización, en un hibridoma, se amplifican las regiones variables de un gen que expresa un anticuerpo monoclonal de interés usando cebadores nucleotídicos. Estos cebadores pueden ser sintetizados por alguien con conocimientos ordinarios en la técnica o pueden ser comprados a fuentes comerciales. (Véase, *v.g.*, Stratagene (La Jolla, California), que vende cebadores para regiones variables murinas y humanas, incluyendo, entre otros, cebadores para las regiones V_{Ha}, V_{Hb}, V_{Hc}, V_{Hd}, C_{H1}, V_L y C_L). Estos cebadores pueden ser usados para amplificar regiones variables de cadena pesada o ligera, que pueden ser entonces insertadas en vectores, tales como ImmunoZAPTM H o ImmunoZAPTM L (Stratagene), respectivamente. Estos vectores pueden ser luego introducidos en *E. coli*, levaduras o sistemas basados en mamíferos para su expresión. Se pueden producir grandes cantidades de una proteína de una sola cadena que contiene una fusión de los dominios V_H y V_L usando estos métodos (véase Bird *et al.*, *Science* 242: 423-426, 1988). Además, dichas técnicas pueden ser usadas para humanizar una región V de anticuerpo no humano sin alterar la especificidad de unión del anticuerpo.

También se pueden usar genotecas combinatorias de fagos para la humanización de regiones variables no humanas. Véanse, *v.g.*, Rosok *et al.*, 1996 *J. Biol. Chem.* 271: 22611-18; Rader *et al.*, 1998 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 8910-15. Se puede cribar una genoteca de fagos para seleccionar un fragmento de región variable de Ig de interés por métodos de inmunodetección conocidos en la técnica y aquí descritos, y se puede determinar la secuencia de ADN del gen de inmunoglobulina insertado en el fago así seleccionado por técnicas estándar. Véase Sambrook *et al.*, 2001 *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press. La secuencia codificante de Ig seleccionada puede ser entonces clonada en otro vector adecuado para la expresión del fragmento de Ig o, eventualmente, puede ser clonada en un vector que contenga regiones constantes de Ig, para la expresión de

cadena de inmunoglobulinas enteras.

Se contemplan anticuerpos específicos para SOST que son fragmentos de anticuerpos multiméricos. Se describen metodologías útiles, en general, por ejemplo, en Hayden *et al.* 1997, Curr Opin. Immunol. 9: 201-12; Coloma *et al.*, 1997 Nat. Biotechnol. 15: 159-63. Por ejemplo, se pueden crear fragmentos de anticuerpos multiméricos por técnicas de fagos para formar minianticuerpos (Patente Estadounidense N° 5.910.573) o diacuerpos (Holliger *et al.*, 1997, Cancer Immunol. Immunother. 45: 128-130).

Un anticuerpo específico para SOST puede ser un anticuerpo expresado como proteína intracelular. También se hace referencia a dichos anticuerpos intracelulares como intracuerpos y pueden comprender un fragmento Fab, o preferiblemente comprenden un fragmento scFv (véase, *v.g.*, Lecerf *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98: 4764-49 (2001). Las regiones de marco que flanquean las regiones CDR pueden ser modificadas para mejorar los niveles de expresión y la solubilidad de un intracuerpo en un ambiente reductor intracelular (véase, *v.g.*, Worn *et al.*, J. Biol. Chem. 275: 2795-803 (2000). Un intracuerpo puede ser dirigido a una localización u orgánulo celular particular, por ejemplo, construyendo un vector que comprende una secuencia polinucleotídica codificante de las regiones variables de un intracuerpo que puede ser operativamente fusionada con una secuencia polinucleotídica que codifica un antígeno diana particular en la célula (véanse, *v.g.*, Graus-Porta *et al.*, Mol. Cell Biol. 15: 1182-91 (1995); Lener *et al.*, Eur. J. Biochem. 267: 1196-205 (2000)). Se puede introducir un intracuerpo en una célula por una variedad de técnicas disponibles para el experto en la materia, incluyendo a través de un vector de terapia génica, o una mezcla de lípidos (*v.g.*, Provectin™, fabricado por Imgenex Corporation, San Diego, CA), o según métodos de interiorización fotoquímicos.

La introducción de mutaciones de aminoácidos en una molécula de inmunoglobulina específica para una proteína de unión a TGF-beta puede ser útil para aumentar la especificidad o la afinidad por la proteína de unión a TGF-beta o para alterar una función efectora. Se pueden generar inmunoglobulinas con mayor afinidad por la proteína de unión a TGF-beta por mutagénesis dirigida a sitio de residuos particulares. Se pueden emplear modelos moleculares tridimensionales asistidos por ordenador para identificar los residuos de aminoácidos que se han de cambiar, con objeto de mejorar la afinidad por la proteína de unión a TGF-beta. Véase, *v.g.*, Mountain *et al.*, 1992, Biotechnol. Genet. Eng. Rev. 10: 1-142. De manera alternativa, se pueden generar genotecas combinatorias de CDR en el fago M13 y cribarlas en cuanto a fragmentos de inmunoglobulinas con mejor afinidad. Véanse, *v.g.*, Glaser *et al.*, 1992, J. Immunol. 149: 3903-3913; Barbas *et al.*, 1994 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91: 3809-13; Patente Estadounidense N° 5.792.456.

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

También se hace referencia a regiones variables de cadena pesada y de cadena ligera no humanas, humanas o humanizadas de cualquiera de las moléculas de Ig aquí descritas, que pueden estar construidas como fragmentos polipeptídicos Fv de una sola cadena (scFv) (anticuerpos de una sola cadena). Véanse, *v.g.*, Bird *et al.*, 1988 Science 242: 423-426; Huston *et al.*, 1988 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-5883. Se pueden generar proteínas de fusión scFv multifuncionales uniendo una secuencia polinucleotídica codificante de un polipéptido scFv en marco con al menos una secuencia polinucleotídica codificante de cualquiera de una variedad de proteínas efectoras conocidas. Estos métodos son conocidos en la técnica y se desvelan, por ejemplo, en EP-B1-0.318,554, Patente Estadounidense N° 5.132.405, Patente Estadounidense N° 5.091.513 y Patente Estadounidense N° 5.476.786. A modo de ejemplo, como proteínas efectoras se pueden incluir secuencias de región constante de inmunoglobulinas. Véase, *v.g.*, Hollenbaugh *et al.*, 1995 J. Immunol. Methods 188: 1-7. Son otros ejemplos de proteínas efectoras las enzimas. Como ejemplo no limitativo, dicha enzima puede aportar una actividad biológica con fines terapéuticos (véase, *v.g.*, Siemers *et al.*, 1997 Bioconj. Chem. 8: 510-19), o puede aportar una actividad detectable, tal como la conversión catalizada con peroxidasa de rábano picante de cualquiera de una serie de sustratos bien conocidos en un producto detectable, para usos diagnósticos. Otros ejemplos más de proteínas de fusión scFv incluyen fusiones Ig-toxina, o inmunotoxinas, donde el polipéptido scFv se une a una toxina.

El scFv o cualquier fragmento de anticuerpo aquí descrito puede ser fusionado a dominios peptídicos o polipeptídicos que permitan la detección de unión específica entre la proteína de fusión y el antígeno (*v.g.*, una proteína de unión a TGF-beta). Por ejemplo, el dominio de polipéptido de fusión puede ser un polipéptido marcador de afinidad para detectar la unión de la proteína de fusión scFv a una proteína de unión a TGF-beta por cualquiera de una variedad de técnicas con las que estarán familiarizados los expertos en la materia. Como ejemplos de un marcador peptídico, se incluyen avidina, estreptavidina o His (*v.g.*, polihistidina). Las técnicas de detección pueden también incluir, por ejemplo, la unión de una proteína de fusión de avidina o estreptavidina a biotina o a una

secuencia mimética de la biotina (véanse, *v.g.*, Luo *et al.*, 1998 J. Biotechnol. 65: 225 y las referencias allí citadas), la modificación covalente directa de una proteína de fusión con un resto detectable (*v.g.*, un resto de marcaje), la unión no covalente de la proteína de fusión a una molécula indicadora marcada específica, la modificación enzimática de un sustrato detectable por una proteína de fusión que incluye una porción que tiene actividad enzimática, o la inmovilización (covalente o no covalente) de la proteína de fusión sobre un soporte de fase sólida. Otros polipéptidos de afinidad útiles para la construcción de proteínas de fusión scFv pueden incluir proteínas de fusión de estreptavidina, como se desvela, por ejemplo, en WO 89/03422, U.S. 5.489.528, U.S. 5.672.691, WO 93/24631, U.S. 5.168.049, U.S. 5.272.254; proteínas de fusión de avidina (véase, *v.g.*, EP 511.747); una enzima, tal como la glutatión-S-transferasa; y polipéptido de proteína A de *Staphylococcus aureus*.

Los polinucleótidos codificantes de un anticuerpo o fragmento del mismo que se unen específicamente a una proteína de unión a TGF-beta, como aquí se describe, pueden ser propagados y expresados según cualquiera de una variedad de procedimientos bien conocidos para la escisión, ligadura, transformación y transfección de ácidos nucleicos usando cualquier número de vectores de expresión conocidos. Así, en ciertas realizaciones, se puede preferir la expresión de un fragmento de anticuerpo en un huésped procariótico, tal como *Escherichia coli* (véase, *v.g.*, Pluckthun *et al.*, 1989 Methods Enzymol. 178: 497-515). En otras ciertas realizaciones, se puede preferir la expresión del anticuerpo o de un fragmento del mismo en una célula huésped eucariótica, incluyendo levaduras (*v.g.*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe* y *Pichia pastoris*), células de animales (incluyendo células de mamíferos) o células vegetales. Como ejemplos de células de animales adecuadas, se incluyen, aunque sin limitación, células de mieloma (tales como una línea NSO de ratón), COS, CHO o de hibridoma. Como ejemplos de células vegetales, se incluyen células de tabaco, de maíz, de soja y de arroz.

Se pueden preparar uno o más vectores de expresión replicables que contengan ADN codificante de una región variable y/o constante y usarlos para transformar una línea celular apropiada, por ejemplo, una línea de células de mieloma no productora, tal como una línea NSO de ratón, o una bacteria, tal como *E. coli*, en donde tendrá lugar la producción del anticuerpo. Con objeto de obtener una transcripción y una traducción eficientes, la secuencia de ADN en cada vector debería incluir secuencias reguladoras apropiadas, en particular una secuencia promotora y líder operativamente unida a la secuencia de dominio variable. Los métodos particulares para producir anticuerpos de esta forma son generalmente bien conocidos y se utilizan de manera rutinaria. Por ejemplo, se describen procedimientos básicos de biología molecular por Maniatis *et al.* (Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1989; véase también Maniatis *et al.*, 3ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York, (2001)). Se puede realizar la secuenciación del ADN como describen Sanger *et al.* (PNAS 74: 5463, (1977)) y en el manual de secuenciación de Amersham International plc, y se puede llevar a cabo una mutagénesis dirigida a sitio según métodos conocidos en la técnica (Kramer *et al.*, Nucleic Acids Res. 12: 9441, (1984); Kunkel Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82: 488-92 (1985); Kunkel *et al.*, Methods in Enzymol. 154: 367-82 (1987); el manual de Anglian Biotechnology Ltd.). Adicionalmente, numerosas publicaciones describen técnicas adecuadas para la preparación de anticuerpos por manipulación de ADN, creación de vectores de expresión y transformación de células apropiadas (Mountain A y Adair, J R, en Biotechnology and Genetic Engineering Reviews (ed. Tombs, M P, 10, Capítulo 1, 1992, Intercept, Andover, UK); Memoria Descriptiva de la Patente Internacional N° WO 91/09967).

En ciertas realizaciones, el anticuerpo según la invención puede tener una o más moléculas efectoras o indicadoras unidas al mismo. Una molécula indicadora puede ser un resto o marcaje detectable, tal como una enzima, un agente citotóxico u otra molécula indicadora, incluyendo un colorante, un radionúclido, un grupo luminiscente, un grupo fluorescente o biotina, o similares. La inmunoglobulina específica para la proteína de unión a TGF-beta o fragmento de la misma puede estar radiomarcada para aplicaciones diagnósticas o terapéuticas. Las técnicas para el radiomarcaje de anticuerpos son conocidas en este campo. Véanse, *v.g.*, Adams 1998 In Vivo 12: 11-21; Hiltunen 1993 Acta Oncol. 32: 831-9. Se describen aplicaciones terapéuticas con más detalle a continuación, y éstas pueden incluir el uso del anticuerpo específico para la proteína de unión a TGF-beta (o fragmento del mismo) conjuntamente con otros agentes terapéuticos. Las moléculas efectoras o indicadoras pueden unirse al anticuerpo a través de cualquier cadena lateral de aminoácidos disponible, aminoácido terminal o grupo funcional carbohidrato localizado en el anticuerpo, siempre que la unión o el proceso de unión no tenga efectos adversos sobre las propiedades de unión, de tal forma que se anule la utilidad de la molécula. Como grupos funcionales particulares, se incluyen, por ejemplo cualquier grupo amino, imino, tiol, hidroxilo, carboxilo o aldehído libre. Se puede conseguir la unión del anticuerpo y la(s) molécula(s) efectora(s) y/o indicadora(s) mediante tales grupos y un grupo funcional apropiado en la molécula efectora o indicadora. La unión puede ser directa o indirecta a través de grupos espaciadores o puente.

Como moléculas efectoras, se incluyen, por ejemplo, agentes antineoplásicos, toxinas (tales como toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano (tales como la exotoxina A de *Pseudomonas aeruginosa*) o vegetal y sus fragmentos (*v.g.*, ricina y sus fragmentos, gelonina vegetal, briodina de *Bryonia dioica* o similares. Véanse, *v.g.*, Thrush *et al.*, 1996 Annu. Rev. Immunol. 14: 49-71; Frankel *et al.*, 1996 Cancer Res. 56: 926-32). Como moléculas efectoras adicionales, se incluyen proteínas biológicamente activas (por ejemplo, enzimas), ácidos nucleicos y sus fragmentos, polímeros naturales y sintéticos, por ejemplo, polisacáridos y polímeros de polialquileño, tales como poli(etilenglicol) y sus derivados, radionúclidos, en particular radioyoduro, y metales quelados. Como grupos indicadores adecuados, se incluyen metales quelados, compuestos fluorescentes o compuestos que pueden ser detectados por RMN o espectroscopia ESR. Son grupos efectores particularmente útiles la calicamicina y sus

derivados (véanse, por ejemplo, las Memorias Descriptivas de las Patentes Sudafricanas N° 85/8794, N° 88/8127 y N° 90/2839).

Otras muchas toxinas, incluyendo agentes quimioterapéuticos, agentes antimetabólicos, antibióticos, inductores de la apoptosis (o "apoptógenos", véase, *v.g.*, Green y Reed, 1998, Science 281: 1309-1312) o similares, son conocidas para quienes están familiarizados con la técnica, y los ejemplos aquí proporcionados pretenden ser ilustrativos sin limitar el alcance y el espíritu de la invención. Como agentes antineoplásicos particulares, se incluyen agentes citotóxicos y citostáticos, por ejemplo agentes alquilantes, tales como mostazas nitrogenadas (*v.g.*, clorambucilo, melfalán, mecloretamina, ciclofosfamida o mostaza de uracilo) y sus derivados, trietilenfosforamida, trietilenfosforamida, busulfán o cisplatina; antimetabolitos, tales como metotrexato, fluorouracilo, floxuridina, citarabina, mercaptopurina, tioguanina, ácido fluoracético o ácido fluorocítrico, antibióticos, tales como bleomicinas (*v.g.*, sulfato de bleomicina), doxorubicina, daunorrubicina, mitomicinas (*v.g.*, mitomicina C), actinomicinas (*v.g.*, dactinomicina), plicamicina, calicamicina y sus derivados o esperamicina y sus derivados; inhibidores mitóticos, tales como etopósido, vincristina o vinblastina y sus derivados; alcaloides, tales como elipticina; polioles, tales como taxicina-I o taxicina-II; hormonas, tales como andrógenos (*v.g.*, dromostanolona o testolactona), progestinas (*v.g.*, acetato de megestrol o acetato de medroxiprogesterona), estrógenos (*v.g.*, difosfato de dimetilestilbestrol, fosfato de poliestradiol o fosfato de estramustina) o antiestrógenos (*v.g.*, tamoxifén); antraquinonas, tales como mitoxantrona; ureas, tales como hidroxiaurea; hidrazinas, tales como procabazina; o imidazoles, tales como dacarbazina.

Como metales quelados útiles como moléculas efectoras, se incluyen quelatos de metales di- o tripósitos que tienen un número de coordinación de 2 a 8 inclusive. Como ejemplos particulares de dichos metales, se incluyen tecnecio (Tc), renio (Re), cobalto (Co), cobre (Cu), oro (Au), plata (Ag), plomo (Pb), bismuto (Bi), indio (In), galio (Ga), itrio (Y), terbio (Tb), gadolinio (Gd) y escandio (Sc). En general, el metal es preferiblemente un radionúclido. Como radionúclidos particulares, se incluyen ^{99m}Tc , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{58}Co , ^{60}Co , ^{67}Cu , ^{195}Au , ^{199}Au , ^{110}Ag , ^{203}Pb , ^{206}Bi , ^{207}Bi , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{88}Y , ^{90}Y , ^{160}Tb , ^{153}Gd y ^{47}Sc . El metal quelado puede ser, por ejemplo, uno de los tipos anteriores de metales quelados con cualquier agente quelante polidentado adecuado, por ejemplo, poliaminas acíclicas o cíclicas, poliéteres (*v.g.*, éteres corona y sus derivados), poliamidas; porfirinas; y derivados carbocíclicos. En general, el tipo de agente quelante dependerá del metal utilizado. Un grupo particularmente útil de agentes quelantes en los conjugados según la invención, sin embargo, incluyen poliaminas acíclicas y cíclicas, especialmente ácidos poliaminocarboxílicos, por ejemplo, ácido dietilentriaminopentaacético y sus derivados, y aminas macrocíclicas, *v.g.*, derivados triaza y tetraaza cíclicos (por ejemplo, como se describe en la Memoria Descriptiva de la Patente Internacional N° WO 92/22583); y poliamidas, especialmente desferrioxamina y sus derivados.

Cuando se usa un grupo tiol en el anticuerpo como punto de unión, la molécula efectora puede unirse según una reacción que se produce con un grupo reactivo a tiol presente en la molécula efectora o indicadora. Como ejemplos de tales grupos, se incluyen un ácido o éster á-halocarboxílico, tal como yodoacetamida, una imida, tal como maleimida, una vinilsulfona o un disulfuro. Estos y otros procedimientos adecuados de unión están descritos en general y más en particular en las Memorias Descriptivas de las Patentes Internacionales N° WO 93/06231, N° WO 92/22583, N° WO 90/091195 y N° WO 89/01476.

Se puede usar un anticuerpo que se une específicamente a SOST para detectar la expresión del polipéptido SOST. Se puede exponer un anticuerpo o un panel de anticuerpos a células que expresan un polipéptido SOST y se puede determinar la expresión del polipéptido SOST por detección usando otro anticuerpo específico de SOST que se une a un epítipo diferente que el anticuerpo o anticuerpos primeramente usados en el ensayo.

Ensayos

La presente invención proporciona un método para identificar un anticuerpo que aumenta el contenido mineral del hueso consistente en: (a) poner en contacto (i) un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido SOST que comprende una secuencia de aminoácidos expuesta en cualquiera de la SEC. ID. N° 1 con (ii) al menos un péptido SOST según se define en la invención en condiciones y durante un tiempo suficientes para permitir la formación de un complejo anticuerpo/péptido SOST; y (b) detectar el nivel de complejo anticuerpo/péptido SOST, y así detectar la presencia de un anticuerpo que aumenta el contenido mineral del hueso.

El método puede ser llevado a cabo usando SPR o cualquier número de diferentes inmunoensayos conocidos en la técnica y aquí desvelados, incluyendo un ELISA, inmunotransferencia o similar. Una ruta de señalización TGF-beta incluye una ruta de señalización mediante la cual una BMP se une a un receptor de tipo I y de tipo II en una célula para estimular o inducir la ruta que modula el contenido mineral del hueso. En ciertas realizaciones preferidas de la invención, un anticuerpo que se une específicamente a SOST estimula o potencia la ruta para aumentar el contenido mineral del hueso. Dicho anticuerpo puede ser identificado usando los métodos aquí desvelados para detectar la unión de un anticuerpo a péptidos específicos SOST.

Marcajes detectables

Un marcaje detectable es una molécula o un átomo que puede conjugarse a un polipéptido (incluyendo un anticuerpo o fragmento del mismo) o un polinucleótido para producir una molécula útil para diagnóstico. Como ejemplos de marcajes detectables, se incluyen quelantes, agentes fotoactivos, radioisótopos, agentes fluorescentes, iones paramagnéticos, enzimas y otros restos marcadores. Un anticuerpo puede ser marcado con una variedad de compuestos, incluyendo, por ejemplo, moléculas fluorescentes, toxinas y radionúclidos. Como ejemplos representativos de moléculas fluorescentes, se incluyen fluoresceína, ficobiliproteínas, tales como ficoeritrina, rodamina, rojo Texas y luciferasa. Como ejemplos representativos de toxinas, se incluyen ricina, abrina, toxina diftérica, toxina del cólera, gelonina, proteína antivírica de fitolaca, tritina, toxina de Shigella y exotoxina A de Pseudomonas. Como ejemplos representativos de radionúclidos, se incluyen Cu-64, Ga-67, Ga-68, Zr-89, Ru-97, Tc-99m, Rh-105, Pd-109, In-111, I-123, I-125, I-131, Re-186, Re-188, Au-198, Au-199, Pb-203, At-211, Pb-212 y Bi-212. Además, los anticuerpos antes descritos pueden ser también marcados o conjugados con un compañero de una pareja de unión a ligando. Como ejemplos representativos, se incluyen avidina-biotina, estreptavidina-biotina y riboflavina-proteína de unión a riboflavina.

Los métodos para conjugar o marcar las moléculas aquí descritas con los marcajes representativos indicados anteriormente pueden ser fácilmente llevados a cabo por alguien con conocimientos ordinarios en la técnica (véanse Conjugado de Tricoteno y Anticuerpo, Patente Estadounidense N° 4.744.981; Conjugado de Anticuerpo, Patente Estadounidense N° 5.106.951; Materiales Fluorogénicos y Técnicas de Marcaje, Patente Estadounidense N° 4.018.884; Proteínas Marcadas con Radionúclidos Metálicos para Diagnóstico y Terapia, Patente Estadounidense N° 4.897.255; y Compuestos Quelantes Radionúclidos Metálicos para una Mejor Cinética de Quelación, Patente Estadounidense N° 4.988.496; véase también Inman, *Methods In Enzymology*, Vol. 34, Affinity Techniques, Enzyme Purification: Parte B, Jakoby y Wilchek (eds.), Academic Press, New York, p. 30, 1974; véase también Wilchek y Bayer, "The Avidin-Biotin Complex in Bioanalytical Applications", *Anal. Biochem.* 171: 1-32, 1988). Un inmunoconjugado es una composición que comprende un anticuerpo, tal como un anticuerpo anti-proteína de unión a TGF-beta, o un fragmento de anticuerpo del mismo, y un marcaje detectable. Preferiblemente, el resto de anticuerpo del inmunoconjugado se une específicamente a su antígeno relacionado con la misma o ligeramente reducida afinidad de unión después de la conjugación que antes de la conjugación.

Composiciones farmacéuticas

Como se ha indicado anteriormente, la presente invención también proporciona una composición farmacéutica consistente en un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la invención y un soporte fisiológicamente aceptable. Se puede emplear cualquier soporte adecuado conocido para quienes tienen conocimientos ordinarios en la técnica en las composiciones farmacéuticas de la presente invención. Los soportes para uso terapéutico son bien conocidos y se describen, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A.R. Gennaro ed. (1985)). En general, dichos soportes deben ser no tóxicos para los receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas. Normalmente, la preparación de dichas composiciones conlleva la combinación del agente terapéutico con tampones; antioxidantes, tales como el ácido ascórbico; polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 residuos); proteínas; aminoácidos; carbohidratos, incluyendo maltosa, glucosa, sacarosa o dextrinas; agentes quelantes, tales como el EDTA; glutatión; y otros estabilizadores y excipientes. La solución salina tamponada neutra o la solución salina mezclada con seroalbúmina inespecífica son ejemplos de diluyentes. De manera alternativa, las composiciones de la presente invención pueden ser formuladas como un liofilizado.

En general, el tipo de soporte es seleccionado en base al modo de administración. Se pueden formular composiciones farmacéuticas para cualquier modo apropiado de administración, incluyendo, por ejemplo, la administración tópica, oral, nasal, intratecal, rectal, vaginal, sublingual o parenteral, incluyendo la inyección o infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraesternal, intracavernosa, intrameato o intrauretral. Una composición farmacéutica (v.g., para administración oral o administración por inyección) puede estar en forma de líquido (v.g., un elixir, un jarabe, una solución, una emulsión o una suspensión). Una composición farmacéutica líquida puede incluir, por ejemplo, uno o más de los siguientes: diluyentes estériles, tales como agua para inyección, solución salina, preferiblemente suero fisiológico, solución de Ringer, cloruro de sodio isotónico, aceites fijados, que pueden servir como solvente o medio de suspensión, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros solventes; agentes antibacterianos; antioxidantes; agentes quelantes; tampones, tales como acetatos, citratos o fosfatos, y agentes para el ajuste de la tonicidad, tales como cloruro de sodio o dextrosa. Se puede introducir una preparación parenteral en ampollas, jeringas desechables o viales de múltiples dosis hechos de vidrio o de plástico. Se prefiere el uso de suero fisiológico, y una composición farmacéutica inyectable es preferiblemente estéril.

Las composiciones aquí descritas pueden ser formuladas para liberación mantenida (es decir, una formulación tal como una cápsula o una esponja que efectúa una liberación lenta de compuesto tras su administración). Dichas composiciones pueden ser generalmente preparadas usando tecnología bien conocida y administradas mediante, por ejemplo, implantación oral, rectal o subcutánea, o mediante implantación en el sitio diana deseado. Las formulaciones para liberación mantenida pueden contener un agente disperso en una matriz de soporte y/o

contenido en un reservorio rodeado por una membrana controladora de la velocidad. Los soportes para uso en dichas formulaciones son biocompatibles, y pueden también ser biodegradables; preferiblemente, la formulación proporciona un nivel relativamente constante de liberación del principio activo. La cantidad de compuesto activo contenida en una formulación de liberación mantenida depende del sitio de implantación, de la velocidad y la duración esperada de la liberación y de la naturaleza de la afección que haya de ser tratada o prevenida. Como soportes ilustrativos útiles en este sentido, se incluyen micropartículas de poli(lactida-co-glicolida), poliacrilato, látex, almidón, celulosa, dextrano y similares. Otros soportes ilustrativos de liberación mantenida incluyen biovectores supramoleculares, que tienen un núcleo hidrofílico no líquido (v.g., un polisacárido u oligosacárido entrecruzado) y, eventualmente, una capa externa que incluye un compuesto anfifílico, tal como un fosfolípido (véanse, v.g., la Patente Estadounidense N° 5.151.254 y las solicitudes PCT WO 94/20078, WO/94/23701 y WO 96/06638).

En otra realización ilustrativa, se emplean microesferas biodegradables (v.g., polilactato poliglicolato) como soportes para las composiciones de esta invención. Se desvelan microesferas biodegradables adecuadas, por ejemplo, en las Patentes Estadounidenses N° 4.897.268, N° 5.075.109, N° 5.928.647, N° 5.811.128, N° 5.820.883, N° 5.853.763, N° 5.814.344, N° 5.407.609 y N° 5.942.252. Los sistemas de soporte de proteína del núcleo de la hepatitis B modificada, tal como se describe en WO/99 40934 y en las referencias allí citadas, serán también útiles para muchas aplicaciones. Otro sistema de soporte/suministro ilustrativo emplea un soporte que comprende complejos de particulados-proteínas, como los descritos en la Patente Estadounidense N° 5.928.647, que son capaces de inducir una respuesta de linfocitos T citotóxicos restringida a la clase I en un huésped.

En otra realización ilustrativa, se emplean partículas de núcleo de fosfato de calcio como soportes o como matrices de liberación controlada para las composiciones de esta invención. Se desvelan ejemplos de partículas de fosfato de calcio, por ejemplo, en la solicitud de patente publicada N° WO/0046147.

El desarrollo de regímenes adecuados de dosificación y tratamiento para usar las composiciones particulares aquí descritas en una variedad de regímenes de tratamiento, incluyendo, v.g., la administración y formulación oral, parenteral, intravenosa, intranasal e intramuscular, es bien conocido en la técnica, y se discuten más adelante algunos casos brevemente con fines generales de ilustración.

En ciertas aplicaciones, las composiciones farmacéuticas aquí desveladas pueden ser suministradas por administración oral a un animal. Como tales, estas composiciones pueden ser formuladas con un diluyente inerte o con un soporte comestible asimilable, o pueden ir encerradas en cápsulas de gelatina de corteza dura o blanda, o pueden ser comprimidas en tabletas, o pueden ser incorporadas directamente al alimento de la dieta.

En ciertas circunstancias, será deseable suministrar las composiciones farmacéuticas aquí desveladas parenteral, intravenosa, intramuscular o incluso intraperitonealmente. Dichos enfoques son bien conocidos para el experto en la materia, y algunos de ellos se describen más ampliamente, por ejemplo, en la Patente Estadounidense N° 5.543.158, en la Patente Estadounidense N° 5.641.515 y en la Patente Estadounidense N° 5.399.363. En ciertas realizaciones, se pueden preparar soluciones de los compuestos activos como base libre o como sales farmacológicamente aceptables en agua adecuadamente mezclada con un surfactante, tal como hidroxipropilcelulosa. También se pueden preparar dispersiones en glicerol, polietilenglicoles líquidos y sus mezclas y en aceites. En condiciones ordinarias de almacenamiento y uso, estas preparaciones contendrán generalmente un conservante para evitar el crecimiento de microorganismos.

Como formas farmacéuticas ilustrativas adecuadas para uso inyectable, se incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles (por ejemplo, véase la Patente Estadounidense N° 5.466.468). En todos los casos, la forma debe ser estéril y debe ser fluida hasta el punto de que exista una fácil dispensabilidad mediante jeringa. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe preservarse frente a la acción contaminante de los microorganismos, tales como bacterias y hongos. El soporte puede ser un solvente o un medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (v.g., glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido y similares), mezclas adecuadas de éstos y/o aceites vegetales. Se puede mantener una fluidez apropiada, por ejemplo, mediante el uso de un revestimiento, tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de una dispersión y/o mediante el uso de surfactantes. Se puede facilitar la prevención de la acción de los microorganismos mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro de sodio. Se puede conseguir una absorción prolongada de las composiciones inyectables gracias a la utilización en las composiciones de agentes que retrasan la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

En una realización, para la administración parenteral en una solución acuosa, se debe tamponar la solución adecuadamente, si es necesario, y se debe hacer primeramente que el diluyente líquido sea isotónico con suficiente solución salina o glucosa. Estas soluciones acuosas particulares son especialmente adecuadas para administración intravenosa, intramuscular, subcutánea e intraperitoneal. En este sentido, un medio acuoso estéril que pueda ser empleado será conocido para los expertos en la técnica a la luz de la presente divulgación. Por ejemplo, se puede

disolver una dosificación en 1 ml de solución isotónica de NaCl y o bien añadirla a 1.000 ml de fluido de hipodermoclisis, o bien inyectarla en el sitio propuesto de infusión (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 15ª ed., pp. 1035-1038 y 1570-1580). Se producirá necesariamente alguna variación en la dosificación dependiendo de la afección del sujeto que se esté tratando. Además, para administración humana, las preparaciones por supuesto cumplirán preferiblemente con las normas de esterilidad, pirogenicidad y las generales de seguridad y pureza requeridas por la FDA Office of Biologics Standards.

En otra realización de la invención, las composiciones aquí desveladas pueden ser formuladas en forma neutra o de sal. Como sales farmacéuticamente aceptables ilustrativas, se incluyen las sales de adición de ácido (formadas con los grupos amino libres de la proteína) y que se forman con ácidos inorgánicos, tales como, por ejemplo, los ácidos clorhídrico o fosfórico, o ácidos orgánicos tales como acético, oxálico, tartárico, mandélico y similares. Las sales formadas con los grupos carboxilo libres pueden derivar también de bases inorgánicas, tales como, por ejemplo, hidróxidos de sodio, potasio, amonio, calcio o férrico, y bases orgánicas tales como isopropilamina, trimetilamina, histidina, procaína y similares. Al realizar la formulación, las soluciones serán administradas de un modo compatible con la formulación de dosificación y en una cantidad que sea terapéuticamente efectiva.

Los soportes pueden además incluir todos y cada uno de solventes, medios de dispersión, vehículos, revestimientos, diluyentes, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardadores de la absorción, tampones, soluciones de soporte, suspensiones, coloides y similares. El uso de dichos medios y agentes para principios activos farmacéuticos es bien conocido en la técnica. Excepto en el caso de que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el principio activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas. También se pueden incorporar principios activos adicionales a las composiciones. La expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a entidades moleculares y composiciones que no producen una reacción indeseada alérgica o similar cuando se administran a un humano.

En ciertas realizaciones, se usan liposomas, nanocápsulas, micropartículas, partículas lipídicas, vesículas y similares para la introducción de las composiciones de la presente invención en células/organismos huésped adecuados. En particular, las composiciones de la presente invención pueden ser formuladas para suministro encapsuladas en una partícula lipídica, un liposoma, una vesícula, una nanoesfera o una nanopartícula o similar. De manera alternativa, las composiciones de la presente invención pueden ser unidas, covalente o no covalentemente, a la superficie de dichos vehículos de soporte.

La formación y el uso de preparaciones de liposomas y de tipo liposoma como soportes potenciales de fármacos son generalmente conocidos para los expertos en la técnica (véanse, por ejemplo, Lasic, Trends Biotechnol. 16(7): 307-21, 1998; Takakura, Nippon Rinsho 56(3): 691-95, 1998; Chandran *et al.*, Indian J. Exp. Biol. 35(8): 801-09, 1997; Margalit, Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 12(2-3): 233-61, 1995; Patente Estadounidense N° 5.567.434; Patente Estadounidense N° 5.552.157; Patente Estadounidense N° 5.565.213; Patente Estadounidense N° 5.738.868 y Patente Estadounidense N° 5.795.587). Se han usado liposomas con éxito con una serie de tipos celulares que normalmente son difíciles de transfectar por otros procedimientos, incluyendo suspensiones de células T, cultivos de hepatocitos primarios y células PC 12 (Renneisen *et al.*, J. Biol. Chem. 265(27): 16337-42, 1990; Muller *et al.*, DNA Cell Biol. 9(3): 221-29, 1990). Además, los liposomas están libres de las restricciones de longitud del ADN típicas de los sistemas de suministro basados en virus. Se han usado liposomas eficazmente para introducir genes, diversos fármacos, agentes radioterapéuticos, enzimas, virus, factores de transcripción, efectores alostéricos y similares en una variedad de líneas celulares cultivadas y animales. Además, el uso de liposomas no parece ir asociado a respuestas autoinmunes o a toxicidad inaceptable tras su suministro sistémico. En ciertas realizaciones, los liposomas se forman a partir de fosfolípidos que están dispersos en un medio acuoso y que forman espontáneamente vesículas bicapa concéntricas multilamelares (también llamadas vesículas multilamelares (VML).

De manera alternativa, en otras realizaciones, la invención proporciona formulaciones de nanocápsulas farmacéuticamente aceptables de las composiciones de la presente invención. Las nanocápsulas pueden generalmente atrapar compuestos de una forma estable y reproducible (véase, por ejemplo, Quintanar-Guerrero *et al.*, Drug Dev. Ind. Pharm. 24(12): 1113-28, 1998). Para evitar efectos colaterales debidos a sobrecarga polimérica intracelular, dichas partículas ultrafinas (de un tamaño de alrededor de 0,1 μm) pueden ser diseñadas usando polímeros capaces de degradarse *in vivo*. Dichas partículas pueden ser producidas como se describe, por ejemplo, en Couvreur *et al.*, Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 5(1): 1-20, 1988; zur Muhlen *et al.*, Eur. J. Pharm. Biopharm. 45(2): 149-55, 1998; Zambaux *et al.*, J. Controlled Release 50(1-3): 31-40, 1998; y Patente Estadounidense N° 5.145.684.

Además, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser introducidas en recipientes, junto con material de envasado que proporcione instrucciones relativas al uso de dichas composiciones farmacéuticas. En general, dichas instrucciones incluirán una expresión tangible que describa la concentración de reactivo, así como, en ciertas realizaciones, las cantidades relativas de excipiente, ingredientes o diluyentes (v.g., agua, solución salina o PBS) que pueden ser necesarias para reconstituir la composición farmacéutica.

Tratamiento

La presente invención también proporciona anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de la invención para uso en métodos para aumentar el contenido mineral y la densidad mineral del hueso. Brevemente, numerosas afecciones dan como resultado la pérdida de contenido mineral óseo, incluyendo, por ejemplo, enfermedad, predisposición genética, accidentes que dan lugar a la falta de uso del hueso (v.g., debido a fracturas), agentes terapéuticos que afectan a la resorción ósea o que matan a las células formadoras de hueso y envejecimiento normal. A través del uso de los anticuerpos y de los fragmentos de unión a antígeno aquí descritos que inhiben la unión de la proteína de unión a TGF-beta a un miembro de la familia TGF-beta, dichas afecciones pueden ser tratadas o prevenidas. Tal como se usa aquí, se entiende que ese contenido mineral óseo ha aumentado si el contenido mineral óseo ha aumentado de un modo estadísticamente significativo en un sitio seleccionado.

Se puede tratar una amplia variedad de afecciones que dan como resultado pérdida del contenido mineral del hueso con las moléculas aquí descritas. Los pacientes con dichas afecciones pueden ser identificados por diagnóstico clínico usando técnicas bien conocidas (véase, v.g., *Harrison's Principles of Internal Medicine*, McGraw-Hill, Inc.). Como ejemplos representativos de enfermedades que pueden ser tratadas, se incluyen displasias, donde el crecimiento o el desarrollo del hueso es anormal. Como ejemplos representativos de dichas afecciones, se incluyen acondroplasia, disostosis cleidocraneal, encondromatosis, displasia fibrosa, enfermedad de Gaucher, raquitismo hipofosfatémico, síndrome de Marfan, exostosis múltiples hereditarias, neurofibromatosis, osteogénesis imperfecta, osteopetrosis, osteopoiquiosis, lesiones escleróticas, fracturas, enfermedad periodontal, pseudoartrosis y osteomielitis piogénica.

Otras afecciones que pueden ser tratadas o prevenidas incluyen una amplia variedad de causas de osteopenia (es decir, una afección que causa más de una desviación estándar del contenido o la densidad mineral del hueso por debajo del pico de contenido mineral esquelético en la juventud). Como ejemplos representativos de dichas afecciones, se incluyen estados anémicos, afecciones causadas por esteroides, afecciones causadas por la heparina, trastornos de la médula ósea, escorbuto, malnutrición, deficiencia de calcio, osteoporosis idiopática, osteopenia u osteoporosis congénita, alcoholismo, enfermedad hepática crónica, senilidad, estado posmenopáusico, oligomenorrea, amenorrea, gestación, diabetes mellitus, hipertiroidismo, enfermedad de Cushing, acromegalia, hipogonadismo, inmovilización o mal uso, síndrome de distrofia simpática refleja, osteoporosis regional transitoria y osteomalacia.

Como ejemplos de animales de sangre caliente que pueden ser tratados, se incluyen tanto vertebrados como mamíferos, incluyendo, por ejemplo, humanos, caballos, vacas, cerdos, ovejas, perros, gatos, ratas y ratones.

Se puede determinar el aumento en el contenido mineral del hueso directamente mediante el uso de rayos X (v.g., Absorciometría de rayos X de Energía Dual o "DEXA"), o por inferencia a través de marcadores de la renovación ósea, tales como fosfatasa alcalina específica de osteoblastos, osteocalcina, propéptido de procolágeno C' de tipo 1 (PICP) y fosfatasa alcalina total (véase Comier, *Curr. Opin. in Rheu.* 7: 243 (1995)), o por marcadores de resorción ósea, incluyendo, aunque sin limitación, piridinolina, desoxipiridinolina, N-telopéptido, hidroxiprolina urinaria, fosfatasas ácidas resistentes a tartrato plasmáticas y galactosilhidroxilisina (véase Comier, *id.*). También se puede calcular la cantidad de masa ósea por los pesos corporales o utilizando otros métodos (véase Guinness-Hey, *Metab. Bone Dis. Relat. Res.* 5: 177-181, 1984).

Como resultará evidente para un experto en la técnica, la cantidad y la frecuencia de administración dependerán, por supuesto, de factores tales como la naturaleza y la severidad de la indicación que se esté tratando, la respuesta deseada, el estado del paciente, etc. Típicamente, las composiciones pueden ser administradas por una variedad de técnicas, como se ha indicado anteriormente.

Se ofrecen los siguientes ejemplos a modo de ilustración y no de limitación.

Ejemplos

Ejemplo 1

Modelado de la región central de la esclerostina

Las técnicas de reconocimiento de homología (v.g., PSI-BLAST (Altschul *et al.*, *Nucleic Acids Res.* 25: 3389-402 (1997)), FUGUE (Shi *et al.*, *J. Mol. Biol.* 310: 243-57 (2001))) sugerían que la región central de SOST (SOST_Core) adopta un pliegue de nudo de cistina. FUGUE es un método sensible para detectar homología entre secuencias y estructuras. La Gonadotropina Coriónica Humana β (hCG- β), para la que se conoce una estructura 3D experimentalmente determinada, fue identificada por FUGUE (Shi *et al.*, *supra*) como el homólogo más próximo de SOST_Core. Por lo tanto, se utilizó hCG- β como plantilla estructural para construir modelos 3D para SOST_Core.

Se muestra una alineación de SOST_Core y sus homólogos próximos en la Figura 1. Entre los homólogos

mostrados en la alineación, sólo hCG- β (CGHB) tenía una estructura 3D conocida. La identidad de secuencia entre SOST_Core y hCG- β era de aproximadamente el 25%. Se conservaban ocho residuos de CYS a través de la familia, lo que destaca la similitud estructural global entre SOST_Core y hCG- β . Tres pares de cistinas (1-5, 3-7, 4-8) formaban enlaces disulfuro (mostrados con líneas continuas en la Figura 1) en una configuración de "nudo", que es característica del pliegue de nudo de cistina. Un enlace disulfuro extra (2-6), mostrado como una línea discontinua en la Figura 1, era único para esta familia y distinguía la familia de proteínas de otras familias de nudo de cistina (v.g., TGF- β , BMP).

SOST_Core fue modelado usando PDB (Berman *et al.*, Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr. 58 (Pt 6 Pt 1): 899-907 (2002)) entrada 1HCN, la estructura 3D de hCG- β (Wu *et al.*, Structure 2: 545-58 (1994)), como plantilla estructural. Se calcularon los modelos con MODELER (Sali & Blundell, J. Mol. Biol. 234: 779-815 (1993)). Se muestra una foto del mejor modelo en la Figura 2.

La mayoría de las proteínas de nudo de cistina forman dímeros debido a la falta de centro hidrofóbico en un monómero (Scheufler *et al.*, *supra*; Schlunegger y Grutter, J. Mol. Biol. 231: 445-58 (1993)); Wu *et al.*, *supra*). SOST sigue probablemente la misma regla y forma un homodímero para aumentar su estabilidad. La construcción de un modelo para la región SOST_Core dimerizada presentaba varios desafíos, ya que (1) la similitud de secuencia entre SOST_Core y hCG- β era baja (25%); (2) en lugar de un homodímero, hCG- β formaba un heterodímero con hCG- α , y (3) se ha observado una serie de diferentes conformaciones relativas de monómeros en proteínas de nudo de cistina dimerizadas de diferentes familias (v.g., PDGF, TGF- β , Neurotrofina, IL-17F, Gonadotropina), lo que sugería que la conformación dimerica de SOST podría desviarse significativamente de la conformación de heterodímero hCG- α/β . Al construir el modelo, se substituyó hCG- α con hCG- β de la estructura heterodimérica (1HCN) usando técnicas de superimposición de estructura combinadas con ajuste manual, y se construyó entonces un modelo homodimérico SOST_Core según la estructura pseudohomodimérica hCG- β . Se muestra el modelo final en la Figura 3.

Ejemplo 2

Modelación de la interacción SOST-BMP

Este ejemplo describe la modelación de proteínas de los sitios de unión a receptor de tipo I y tipo II en BMP que están implicados en la interacción entre BMP y SOST.

Estudios de competencia demostraron que SOST competía con los receptores tanto de tipo I como de tipo II por la unión a BMP. En un ensayo de competencia basado en ELISA, BMP-6 interaccionaba selectivamente con la superficie revestida de esclerostina (300 ng/pocillo) con gran afinidad ($K_D = 3,4$ nM). Cantidades crecientes de receptor IA de BMP (construcción de fusión FC) competían con la esclerostina por la unión a BMP-6 (11 nM) ($CI_{50} = 114$ nM). Un exceso 10 veces molar del receptor de BMP era suficiente para reducir la unión de la esclerostina a BMP-6 en aproximadamente un 50%. Esta competencia era también observada con una proteína de fusión receptor II de BMP-FC ($CI_{50} = 36$ nM) y DAN ($CI_{50} = 43$ nM). La especificidad del ensayo quedó mostrada por la falta de competencia por la unión a BMP-6 entre la esclerostina y una proteína de fusión rActivina R1B-FC, un miembro de la familia de receptores TGF- β que no se unía a BMP.

Se mapearon los sitios de unión a receptores de tipo I y de tipo II en un polipéptido BMP y se separaron espacialmente (Scheufler *et al.*, *supra*; Innis *et al.*, *supra*; Nickel *et al.*, *supra*; Hart *et al.*, *supra*). Noggin, otro antagonista de BMP que se une a BMP con gran afinidad, contacta con BMP en ambos sitios de unión a receptores de tipo I y de tipo II a través de la porción N-terminal de Noggin (Groppe *et al.*, *supra*). Las dos hebras β en la región central próxima al extremo C también contactan con BMP en el sitio de unión a receptores de tipo II.

Una alineación manualmente ajustada de Noggin y SOST indicaba que los dos polipéptidos compartían similitud de secuencia entre las porciones N-terminales de las proteínas y entre las regiones centrales. Se presenta una alineación de secuencia de aminoácidos en la Figura 4. Los residuos de cisteína que forman el nudo cys característico estaban conservados entre Noggin y SOST. La identidad de secuencia global era del 24% y la identidad de secuencia en la región de unión N-terminal (posiciones de alineación 1-45) era del 33%. Se dijo que dos residuos en la región de unión N-terminal de Noggin, a saber, Leu (L) en la posición de alineación 21 y Glu (E) en la posición 23, desempeñaban papeles importantes en la unión a BMP (Groppe *et al.*, *supra*). Ambos residuos estaban también conservados en SOST. La similitud de secuencia en la región central (posiciones de alineación 131-228) era de aproximadamente el 20%, pero se mantenía la estructura del nudo de cys y se conservaban un número suficiente de residuos clave, respaldando la homología entre Noggin y SOST.

Se comparó la estructura de Noggin con SOST también para entender cómo se dimerizan dos monómeros de SOST. Tal como se muestra en la Figura 5, la estructura de Noggin sugería que el conector entre la región N-terminal y la región central no sólo tenía un papel en la conexión de las dos regiones, sino que también formaba parte de la interfaz de dimerización entre dos monómeros Noggin. Una diferencia importante entre Noggin y SOST era que el conector entre la región N-terminal y la región central era mucho más corto en SOST.

La región C-terminal de SOST puede desempeñar un papel en la dimerización de SOST. La secuencia de Noggin terminaba con la región central, mientras que SOST tenía una región C-terminal extra. En la estructura de Noggin, un enlace disulfuro conectaba los extremos C de dos monómeros de Noggin. Así, la región C-terminal de SOST comenzaba próxima a la interfaz de dos monómeros y podía contribuir a la dimerización. Además, la predicción de la estructura secundaria muestra que algunas porciones de la región C-terminal de SOST tenían una tendencia a formar hélices. Esta región en SOST puede ser responsable de la actividad de dimerización, posiblemente a través de un empaquetamiento hélice-hélice, que imitaba la función del conector más largo en Noggin. Otra diferencia entre la estructura de Noggin y SOST era la inserción de aminoácido en la región central de SOST en las posiciones de alineación 169-185 (véase la Figura 4). Esta inserción extendía una horquilla β , que señalaba hacia la interfaz de dimerización en la estructura de Noggin (mostrada en la Figura 5 como una región de bucle en el centro de los monómeros y por encima del residuo de Cys C-terminal). Esta horquilla β alargada podría contribuir también a la dimerización de SOST.

Ejemplo 3

Diseño y preparación de inmunógenos peptídicos SOST

Este Ejemplo describe el diseño de inmunógenos peptídicos SOST utilizados para inmunizar a animales y que generan anticuerpos que bloquean las interacciones entre BMP y SOST y que previenen la formación de dímeros de monómeros SOST.

Fragmentos de unión a BMP

La similitud global entre SOST y Noggin y la similitud entre las regiones N-terminales de los dos polipéptidos sugieren que SOST puede interactuar con BMP de un modo similar a Noggin. Es decir, que la región N-terminal de SOST puede interactuar con los sitios de unión a receptores tanto de tipo I como de tipo II en BMP, y una porción de la región central (posiciones de alineación de aminoácidos 190-220 en la Figura 4) puede interactuar con el sitio de unión a receptores de tipo II, de tal forma que los anticuerpos específicos para estas regiones de SOST pueden bloquear o alterar la unión de BMP a SOST.

Se presentan las secuencias de aminoácidos de estos fragmentos de polipéptido SOST para SOST de rata y humano como sigue.

SOST_N_Linker: La región N-terminal (incluye el conector corto que conecta con la región central) Humano:

**QGWQAFKNDATTEIPELGEYPEPPPELENNKTMNRAE
NGGRPPHHPFETKDVSEYS (SEQ ID NO:47)**

Rata:

**QGWQAFKNDATTEIIPGLREYPEPPQLENNQTMNRAEN
GGRPPHHPYDTKDVSEYS (SEQ ID NO:48)**

SOST_Core_Bind: Porción de la región central que es probable que contacte con BMP en su sitio de unión a receptores de tipo II (extendida ligeramente en ambos extremos para incluir los anclajes de residuos de CYS):

Humano: CIPDRYRAQRVQLLCPGGEAPRARKVRLVASC (SEC. ID. N° 49)

Rata: CIPDRYRAQRVQLLCPGGAAPRSRKVRLVASC (SEC. ID. N° 50)

Fragmentos de dimerización de SOST

La región C-terminal de SOST está probablemente implicada en la formación de homodímeros de SOST (véase el Ejemplo 2). La horquilla β alargada puede también desempeñar un papel en la formación de homodímeros. Los anticuerpos que se unen específicamente a dichas regiones pueden prevenir o alterar la dimerización de monómeros de SOST, lo que a su vez puede interferir con la interacción entre SOST y BMP. Los fragmentos polipeptídicos en el SOST de rata y humano correspondientes a estas regiones son los siguientes.

SOST_C: la región C-terminal Humano:

**LTRFHNQSELKDFGTEAARPQKGRKPRPRARSAKANQA
ELENAY (SEC. ID. N° 51)**

Rata:

LTRFHNQSELKDFGPETARPQKGRKPRPRARGAKANQAE

5 **LENAY (SEC. ID. Nº 52)**

SOST_Core_Dimer: Porción de la región central que está probablemente implicada en la dimerización de SOST (extendida ligeramente en ambos extremos para incluir los anclajes de residuos de Cys):

10 Humano: CGPARLLPNAIGRGKWWRPSPDFRC (SEC. ID. Nº 53)
Rata: CGPARLLPNAIGRVKWWRPNGPDFRC (SEC. ID. Nº 54)

Fragmento de unión a BMP en el extremo N de SOST

15 Se modeló la región de unión N-terminal clave de SOST (posiciones de alineación 1-35 en la Figura 4) en base a la estructura del complejo Noggin/BMP-7 (Entrada del Banco de Datos de Proteínas Nº 1M4U) y a la alineación de secuencia de aminoácidos (véase la Figura 4) para identificar residuos de aminoácidos del extremo N de SOST que probablemente interaccionan con BMP. Se presenta el modelo de SOST en la Figura 6. En el modelo comparativo, la fenilalanina (Phe, F) en la posición de alineación 8 (véanse la flecha y el texto acompañante) en la secuencia de
20 SOST se proyecta hacia un bolsillo hidrofóbico sobre la superficie del dímero de BMP. Se ha observado la misma característica de "knobs-into-holes" en la estructura compleja de BMP y receptor de tipo I (Nickel *et al.*, *supra*), donde la Phe85 del receptor encaja en el mismo bolsillo, lo cual es una característica clave en el reconocimiento ligando-receptor de tipo I para los miembros de la superfamilia TGF- β (incluyendo, por ejemplo, la familia TGF- β , la familia BMP y similares). Según el modelo, también se conserva un giro dirigido por prolina (Pro), que permite que el
25 fragmento de unión N-terminal se enrosque a lo largo de la superficie del dímero de BMP, viajando desde el sitio de unión al receptor de tipo I hasta el sitio de unión al receptor de tipo II en el otro lado del complejo. También se conserva otro giro dirigido por Pro cerca del extremo carboxi del fragmento de unión, que conecta entonces con la región conectora. Son evidentes contactos extensos entre SOST y BMP en la Figura 6.

30 Inmunógenos peptídicos

Se diseñaron péptidos para que incluyeran la región N-terminal de SOST que se predecía que contacta con proteínas BMP. A continuación, se presentan las secuencias peptídicas. Para inmunizar a animales, se diseñaron las secuencias peptídicas de manera que se solaparan, y se añadió una cisteína adicional al extremo C-terminal
35 para facilitar el entrecruzamiento con KLH. Se usaron entonces los péptidos para la inmunización. Las secuencias peptídicas de los inmunógenos son las siguientes.

SOST humano:

40 QGWQAFKNDATEIIPELGEY (SEC. ID. Nº 2)
TEIIPELGEYPEPPPELENN (SEC. ID. Nº 3)
PEPPPELENNKTMNRAENG (SEC. ID. Nº 4)
KTMNRAENGGRPPHHPFETK (SEC. ID. Nº 5)
RPPHHPFETKDVSEYS (SEC. ID. Nº 6)

Péptidos SOST humanos con Cys adicional:

45 QGWQAFKNDATEIIPELGEY-C (SEC. ID. Nº 7)
TEIIPELGEYPEPPPELENN-C (SEC. ID. Nº 8)
50 PEPPPELENNKTMNRAENG-C (SEC. ID. Nº 9)
KTMNRAENGGRPPHHPFETK-C (SEC. ID. Nº 10)
RPPHHPFETKDVSEYS-C (SEC. ID. Nº 11)

SOST de rata:

55 QGWQAFKNDATEIIPGLREYPEPP (SEC. ID. Nº 12)
PEPPQELENNQTMNRAENG (SEC. ID. Nº 13)
ENGGRPPHHPYDTKDVSEYS (SEC. ID. Nº 14)
TEIIPGLREYPEPPQELENN (SEC. ID. Nº 15)

Péptidos SOST de rata con Cys adicional:

60 QGWQAFKNDATEIIPGLREYPEPP-C (SEC. ID. Nº 16)
PEPPQELENNQTMNRAENG-C (SEC. ID. Nº 17)

ENGGRPPHHPYDTKDVSEYS-C (SEC. ID. Nº 18)
TEIIPGLREYPEPPQLENN-C (SEC. ID. Nº 19)

Los siguientes péptidos fueron diseñados para contener la porción de aminoácidos de la región central que se predecía que contacta con las proteínas BMP. Se añadió cisteína en el extremo C-terminal de cada péptido para conjugación con KLH y se usaron los péptidos conjugados para la inmunización. En el péptido N-terminal de Docking Core, se cambió una cisteína interna a una serina para evitar una doble conjugación con KLH.

Para SOST humano:

Secuencia de aminoácidos sin residuos de Cys añadidos:

Docking_Core_N-terminal_Peptide: IPDRYRAQRVQLLCPGGEAP (SEC. ID. Nº 21)
Docking_Core_Cterm_Peptide: QLLCPGGEAPRARKVRLVAS (SEC. ID. Nº 22)
Docking_Core-N-terminal_Peptide: IPDRYRAQRVQLLCPGGEAP-C (SEC. ID. Nº 23)
Docking_Core_Cterm_Peptide: QLLCPGGEAPRARKVRLVAS-C (SEC. ID. Nº 24)

Para SOST de rata:

Secuencia de aminoácidos sin residuos de Cys añadidos o substituidos:

Docking_Core_N-terminal_Peptide: IPDRYFAQRVQLLCPGG (SEC. ID. Nº 25)
Docking_Core_Cterm_Peptide: PGGAAPRSRKVRLVAS (SEC. ID. Nº 26)

Inmunógenos peptídicos con adición y substitución de Cys:

Docking_Core_N-terminal_Peptide: IPDRYRAQRVQLLSPGG-C (SEC. ID. Nº 27)
Docking_Core_Cterm_Peptide: PGGAAPRSRKVRLVAS-C (SEC. ID. Nº 28)

Dos regiones en SOST que interaccionan potencialmente para formar homodímeros de SOST incluyen los aminoácidos con la región central de SOST que no están presentes en Noggin. Los péptidos SOST humanos diseñados para contener esta secuencia tenían una Cys C-terminal o N-terminal que estaba conjugada con KLH. Para el péptido SOST de rata, se añadió una cisteína al extremo carboxi de la secuencia (SEC. ID. Nº 31). Se usaron los péptidos conjugados con KLH para la inmunización.

Para SOST humano:

CGPARLLPNAIGRGKWWRPS (SEC. ID. Nº 29)
IGRGKWWRPSGPDFRC (SEC. ID. Nº 30)

Para SOST de rata:

PNAIGRVKWWRPNGPDFR (SEC. ID. Nº 31)

Péptido SOST de rata con cisteína añadida:

PNAIGRVKWWRPNGPDFR-C (SEC. ID. Nº 32)

La segunda región en SOST que interacciona potencialmente para formar homodímeros de SOST incluye la región C-terminal. Se diseñaron inmunógenos peptídicos para que incluyeran secuencias de aminoácidos en esta región (véase a continuación). Para la conjugación con KLH, se añadió un residuo de cisteína al extremo C-terminal, y se usaron los péptidos conjugados para la inmunización.

Para SOST humano:

KRLTRFHNQS ELKDFGTEAA (SEC. ID. Nº 33)
ELKDFGTEAA RPQKGRKPRP (SEC. ID. Nº 34)
RPQKGRKPRP RARSAKANQA (SEC. ID. Nº 35)
RARSAKANQA ELENAY (SEC. ID. Nº 36)

Inmunógenos peptídicos con Cys añadida en el extremo C:

KRLTRFHNQS ELKDFGTEAA-C (SEC. ID. Nº 37)
ELKDFGTEAA RPQKGRKPRP-C (SEC. ID. Nº 38)
RPQKGRKPRP RARSAKANQA-C (SEC. ID. Nº 39)

RARSAKANQA ELENAY-C (SEC. ID. N° 40)

Para SOST de rata:

- 5 KRLTRFHNQSELKDFGPETARPQ (SEC. ID. N° 41)
KGRKPRPRARGAKANQAELENAY (SEC. ID. N° 42)
SELKDFGPETARPQKGRKPRPRAR (SEC. ID. N° 43)

Inmunógenos peptídicos con Cys añadida en el extremo C:

- 10 KRLTRFHNQSELKDFGPETARPQ-C (SEC. ID. N° 44)
KGRKPRPRARGAKANQAELENAY-C (SEC. ID. N° 45)
SELKDFGPETARPQKGRKPRPRAR-C (SEC. ID. N° 46)

15 **Ejemplo 4**

Ensayo para detectar la unión de anticuerpos a una proteína de unión a TGF-beta

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

Se preparó una proteína de fusión FLAG®-esclerostina según protocolos facilitados por el fabricante (Sigma Aldrich, St. Louis, MO) y como se describe en la Patente Estadounidense N° 6.395.511. Se reviste cada pocillo de una placa de microtitulación de 96 pocillos con anticuerpo monoclonal anti-FLAG® (Sigma Aldrich) y se bloquean después con BSA al 10% en PBS. Se añade la proteína de fusión (20 ng) a 100 µl de PBS/0,2% de BSA y se adsorbe sobre la placa de 96 pocillos durante 60 minutos a temperatura ambiente. Se retira esta solución de proteína y se lavan los pocillos para eliminar la proteína de fusión no unida. Se diluye una BMP, por ejemplo, BMP-4, BMP-5, BMP-6 o BMP-7, en PBS/0,2% de BSA y se añade a cada pocillo a concentraciones que van desde 10 pM hasta 500 nM. Tras una incubación durante 2 horas a temperatura ambiente, se retira la solución de unión y se lava la placa tres veces con volúmenes de 200 µl de PBS/0,2% de BSA. Se detecta la unión de la BMP a la esclerostina usando antisuero policlonal o anticuerpo monoclonal específico para la BMP y un reactivo de segunda etapa conjugado a enzima apropiado según técnicas ELISA estándar (véase, *v.g.*, Ausubel *et al.*, Current Protocols in Mol Biol. Vol 2 11.2.1-11.2.22 (1998)). Se calcula la unión específica restando la unión no específica de la unión total y se analiza usando el programa LIGAND (Munson y Podbard, Anal. Biochem. 107: 220-39 (1980)).

35 También se detecta la unión de esclerostina a una BMP por detección de fluorescencia con resolución temporal homogénea (Mellor *et al.*, J Biomol. Screening, 3: 91-99 (1998)). Se une operativamente una secuencia polinucleotídica codificante de esclerostina a una región constante de inmunoglobulina humana en una construcción de ácido nucleico recombinante y se expresa como una proteína de fusión Fc humano-esclerostina según métodos conocidos en la técnica y aquí descritos. De forma similar, se somete un ligando de BMP a ingeniería y se expresa como una proteína de fusión BMP-Fc de ratón. Se incuban estas dos proteínas de fusión conjuntamente y se lleva a cabo el ensayo como describen Mellor *et al.*

45 **Ejemplo 5**

Ensayo de cribado para anticuerpos que inhiben la unión de los miembros de la familia TGF-beta a la proteína de unión a TGF-beta

50 Este ejemplo describe un método para detectar un anticuerpo que inhibe la unión de un miembro de la familia TGF-beta a esclerostina. Se realiza un ELISA esencialmente como se describe en el Ejemplo 4, excepto por mantener fija la concentración de BMP a su Kd (determinada, por ejemplo, mediante análisis BIAcore). Además, se añade un anticuerpo o una genoteca o colección de anticuerpos a los pocillos a una concentración de 1 µM. Se incuban los anticuerpos durante 2 horas a temperatura ambiente con la BMP y la esclerostina, se retira la solución y se cuantifica la BMP unida como se ha descrito (véase el Ejemplo 4). Los anticuerpos que inhiben un 40% de la unión de BMP observada en ausencia de anticuerpo se consideran antagonistas de esta interacción. Estos anticuerpos son además evaluados como inhibidores potenciales realizando estudios de titulación para determinar sus constantes de inhibición y su efecto sobre la afinidad de unión de la proteína de unión a TGF-beta. También se pueden realizar ensayos de control de especificidad comparables para establecer el perfil de selectividad para el antagonista identificado usando ensayos dependientes de la acción del ligando de BMP (*v.g.*, un estudio competitivo de BMP/receptor de BMP).

Ejemplo 6

Inhibición de la localización de la proteína de unión a TGF-beta en la matriz ósea

- 5 Se lleva a cabo la evaluación de la inhibición de la localización en la matriz ósea (hidroxiapatito) usando modificaciones del método de Nicolas (Calcif. Tissue Int. 57: 206-12 (1995)). Brevemente, se prepara proteína de unión a TGF-beta marcada con ¹²⁵I como describe Nicolas (*supra*). Se añade hidroxiapatito a cada pocillo de una placa de microtitulación de 96 pocillos equipada con una membrana de filtración de polipropileno (Polyfiltroninc, Weymouth MA). Se añade entonces proteína de unión a TGF-beta diluida en albúmina al 0,2% en tampón PBS a los
10 pocillos. Se lavan los pocillos que contienen matriz 3 veces con albúmina al 0,2% en tampón PBS. Se eluye la proteína de unión a TGF-beta adsorbida usando NaOH 0,3 M y se cuantifica después.

- Se identifica un anticuerpo u otro agente que inhibe o altera la unión de la esclerostina proteína de unión a TGF-beta al hidroxiapatito incubando la proteína de unión a TGF-beta con el anticuerpo y aplicando la mezcla a la matriz como
15 se ha descrito anteriormente. Se lava la matriz 3 veces con albúmina al 0,2% en tampón PBS. Se eluye la esclerostina adsorbida con NaOH 0,3 M y se cuantifica después. Se considera que un anticuerpo que inhibe el nivel de unión de la esclerostina al hidroxiapatito en al menos un 40% en comparación con el nivel de unión observado en ausencia de anticuerpo es un inhibidor de la localización ósea. Dicho anticuerpo es además caracterizado en estudios de dosis-respuesta para determinar su constante de inhibición y su efecto sobre la afinidad de unión de la
20 proteína de unión a TGF-beta.

Lista de secuencias

- 25 <110> Winkler, David G. Shi, Jiye Latham, John
<120> Anticuerpos específicos para la esclerostina y métodos para aumentar la mineralización ósea
<130> 60117-127
30 <140> >
<141> 15-06-2004
<150> US 60/478.977
<151> 16-06-2003
35 <160> 112
<170> FastSEQ para Windows Versión 4.0
40 <210> 1
<211> 190
<212> PRT
<213> Homo sapiens
45 <400> 1

ES 2 586 401 T3

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

<210> 2
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 2

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

<210> 3
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 3

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

<210> 4
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4

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

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

<400> 5

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

<210> 6
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 6

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

<210> 7
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

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

<400> 7

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

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

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

<400> 8

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

<210> 9
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

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

<400> 9

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

<210> 10
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

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

<400> 10

```

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

```

5

<210> 11

<211> 17

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Fragmento del péptido SOST humano con adición de cisteína adicional

15

<400> 11

```

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

```

20

<210> 12

<211> 24

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 12

25

```

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

```

30

<210> 13

<211> 20

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 13

```

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

```

35

<210> 14

<211> 20

<212> PRT

40 <213> Rattus norvegicus

<400> 14

```

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

```

45

<210> 15

<211> 20

<212> PRT

50 <213> Rattus norvegicus

<400> 15

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

<210> 16
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

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

<400> 16

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

<210> 17
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

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

<400> 17

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

<210> 18
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

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

<400> 18

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

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

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

<400> 19

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

<210> 20
 <211> 190
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus

<400> 20

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

5

<210> 21
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 21

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

15

<210> 22
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 22

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

25

<210> 23
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30

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

<400> 23

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

35

<210> 24
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Fragmento del péptido SOST humano con adición de cisteína adicional

5 <400> 24

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

<210> 25

10 <211> 17

<212> PRT

<213> Rattus Norvegicus

<400> 25

15

```
Ile Pro Asp Arg Tyr Arg Ala Gln Arg Val Gln Leu Leu Cys Pro Gly
 1      5      10      15
Gly
```

<210> 26

<211> 16

20 <212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 26

25

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

<210> 27

<211> 18

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Fragmento del péptido SOST de rata con adición de cisteína adicional

35 <400> 27

```
Ile Pro Asp Arg Tyr Arg Ala Gln Arg Val Gln Leu Leu Ser Pro Gly
 1      5      10      15
Gly Cys
```

<210> 28

40 <211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

45 <223> Fragmento del péptido SOST de rata con adición de cisteína adicional

<400> 28

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

50

<210> 29

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

55

<400> 29

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

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

<400> 30

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

<210> 31
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus

<400> 31

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

<210> 32
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

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

<400> 32

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

<210> 33
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 33

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

<210> 34
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 34

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

<210> 35
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 35

		Arg Pro Gln Lys Gly Arg Lys Pro Arg Pro Arg Ala Arg Ser Ala Lys 1 5 10 15 Ala Asn Gln Ala 20
5	<210> 36 <211> 16 <212> PRT <213> Homo sapiens	
10	<400> 36	
		Arg Ala Arg Ser Ala Lys Ala Asn Gln Ala Glu Leu Glu Asn Ala Tyr 1 5 10 15
15	<210> 37 <211> 21 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
20	<220> <223> Fragmento del péptido SOST humano con adición de cisteína adicional	
	<400> 37	
		Lys Arg Leu Thr Arg Phe His Asn Gln Ser Glu Leu Lys Asp Phe Gly 1 5 10 15 Thr Glu Ala Ala Cys 20
25	<210> 38 <211> 21 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
30	<220> <223> Fragmento del péptido SOST humano con adición de cisteína adicional	
	<400> 38	
35		Glu Leu Lys Asp Phe Gly Thr Glu Ala Ala Arg Pro Gln Lys Gly Arg 1 5 10 15 Lys Pro Arg Pro Cys 20
40	<210> 39 <211> 21 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Fragmento del péptido SOST humano con adición de cisteína adicional	
45	<400> 39	
		Arg Pro Gln Lys Gly Arg Lys Pro Arg Pro Arg Ala Arg Ser Ala Lys 1 5 10 15 Ala Asn Gln Ala Cys 20
50	<210> 40 <211> 17 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
55	<220> <223> Fragmento del péptido SOST humano con adición de cisteína adicional	
	<400> 40	

		Arg	Ala	Arg	Ser	Ala	Lys	Ala	Asn	Gln	Ala	Glu	Leu	Glu	Asn	Ala	Tyr
		1				5					10					15	
		Cys															
5	<210> 41																
	<211> 23																
	<212> PRT																
	<213> Rattus norvegicus																
	<400> 41																
10		Lys	Arg	Leu	Thr	Arg	Phe	His	Asn	Gln	Ser	Glu	Leu	Lys	Asp	Phe	Gly
		1				5					10					15	
		Pro	Glu	Thr	Ala	Arg	Pro	Gln									
					20												
	<210> 42																
	<211> 23																
15	<212> PRT																
	<213> Rattus norvegicus																
	<400> 42																
		Lys	Gly	Arg	Lys	Pro	Arg	Pro	Arg	Ala	Arg	Gly	Ala	Lys	Ala	Asn	Gln
		1			5						10					15	
		Ala	Glu	Leu	Glu	Asn	Ala	Tyr									
					20												
20																	
	<210> 43																
	<211> 24																
	<212> PRT																
25	<213> Rattus norvegicus																
	<400> 43																
		Ser	Glu	Leu	Lys	Asp	Phe	Gly	Pro	Glu	Thr	Ala	Arg	Pro	Gln	Lys	Gly
		1			5						10					15	
		Arg	Lys	Pro	Arg	Pro	Arg	Ala	Arg								
					20												
30																	
	<210> 44																
	<211> 24																
	<212> PRT																
35	<213> Secuencia artificial																
	<220>																
	<223> Fragmento del péptido SOST de rata con adición de cisteína adicional																
40	<400> 44																
		Lys	Arg	Leu	Thr	Arg	Phe	His	Asn	Gln	Ser	Glu	Leu	Lys	Asp	Phe	Gly
		1				5					10					15	
		Pro	Glu	Thr	Ala	Arg	Pro	Gln	Cys								
					20												
	<210> 45																
	<211> 24																
	<212> PRT																
	<213> Secuencia artificial																
	<220>																
	<223> Fragmento del péptido SOST de rata con adición de cisteína adicional																
50	<400> 45																
		Lys	Gly	Arg	Lys	Pro	Arg	Pro	Arg	Ala	Arg	Gly	Ala	Lys	Ala	Asn	Gln
		1			5						10					15	
		Ala	Glu	Leu	Glu	Asn	Ala	Tyr	Cys								
					20												
55																	

<210> 46
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5

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

<400> 46

10

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

<210> 47
<211> 56
<212> PRT
<213> Homo sapiens

15

<400> 47

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

20

<210> 48
<211> 56
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

25

<400> 48

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

30

<210> 49
<211> 32
<212> PRT
<213> Homo sapiens

35

<400> 49

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

40

<210> 50
<211> 32
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

45

<400> 50

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

50

<210> 51
<211> 44

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 51

5

```

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

```

<210> 52
<211> 44
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

10

<400> 52

15

```

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

```

<210> 53
<211> 26
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 53

25

```

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

```

<210> 54
<211> 26
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

30

<400> 54

```

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

```

35

<210> 55
<211> 570
<212> ADN
<213> Homo sapiens

40

<400> 55

```

caggggtggc aggcgttcaa gaatgatgcc acggaaatca tccccgagct cggagagtac 60
cccagagcctc caccggagct ggagaacaac aagaccatga accgggcgga gaacggaggg 120
cggcctcccc accaccctt tgagaccaa gacgtgtccg agtacagctg ccgcgagctg 180
cacttcaccc gctacgtgac cgatgggccc tgccgcagcg ccaagccggt caccgagctg 240
gtgtgctccg gccagtgcgg ccggcgccgc ctgctgccc aacccatcgg ccgcggcaag 300
tggtggcgac ctagtgggcc cgacttccgc tgcattcccc accgctaccg cgcgcagcgc 360
gtgcagctgc tgtgtcccgg tggtgaggcg ccgcgcgcgc gcaagggtgc cctggtggcc 420
tcgtgcaagt gcaagcgcct caccgccttc cacaaccagt cggagctcaa ggacttcggg 480
accgaggccg ctcggccgca gaaggccgg aagccgcggc cccgcgccc gaggcgccaa 540
gccaaaccagg ccgagctgga gaacgcctac
570

```

45

<210> 56
<211> 570
<212> ADN
<213> Rattus norvegicus

<400> 56

```

caggggtggc aagccttcaa gaatgatgcc acagaaatca tccccgggact cagagagtag 60
ccagagcctc ctcaggaact agagaacaac cagaccatga accggggccga gaacggaggc 120
agaccccccc accatcctta tgacacaaa gacgtgtccg agtacagctg ccgcgagctg 180
cactacaccc gcttcgtgac cgacggcccg tgccgcagtg ccaagccggt caccgagttg 240
gtgtgctcgg gccagtgcgg ccccgcgccg ctgctgacca acgccatcgg gcgcgtgaag 300
tggtggcgcc cgaacggacc cgacttccgc tgcateccgg atcgctaccg cgcgcgagcg 360
gtgcagctgc tgtgccccgg cggcgcgccg ccgcgctcgc gcaagggtgcg tctggtggcc 420
tcgtgcaagt gcaagcgcc caccgccttc cacaaccagt cggagctcaa ggacttccga 480
cctgagaccg cgcggccgca gaagggtcgc aagccgcggc cccgcgcccc gggagccaaa 540
gccaaaccagg cggagctgga gaacgcctac

```

5

<210> 57
 <211> 2301
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

10

<400> 57

```

agagcctgtg ctactggaag gtggcgtgcc ctectctggc tggtagcatg cagctccac 60
tggccctgtg tctcgtctgc ctgctggtac acacagcctt ccgtgtagtg gaggggccag 120
ggtaggcagg gtccaagaat gatgccacgg aaatcatccc cgagctcgga gactacccc 180
agcctccacc ggagctggag aacaacaaga catgaaccg ggcggagaac ggagggcgcc 240
ctccccacca cccctttagg accaaagacg tgtccgagta cagctgccgc gagctgcact 300
tcaccgcta cgtgaccgat gggccgtgcc gcagcgccaa gccggtcacc gagctggtgt 360
gctccggcca gtgcggcccg gcgcgcctgc tgcccaacgc catcgccgcg ggcaagtgg 420
ggcgagcctag tgggcccagc ttccgctgca tccccgaccg ctaccgcgcg cagcgctgct 480
agctgctgtg tccccggtgg gagcgccgc gcgcgcgcaa ggtgcgcctg gtggcctcgt 540
gcaagtgcga gcgcctcacc cgcttccaca accagtcgga gctcaaggac ttcgggaccg 600
aggcgctcg gccgcagaag ggccggaagc cgcggccccc cgcgggagc gccaaagcca 660
accaggccga gctggagaac gcctactaga gcccgcgccg gccctcccc accggcgggc 720
gccccggccc tgaacccgcg cccacattt ctgtcctctg cgcgtggttt gatgtttat 780
atctcatgtt aaatgcctgc aaccaggggc agggggctga gacctccag gccctgagga 840
atcccgggcg ccggcaaggc cccctcagc ccgccagctg aggggtccca cggggcaggg 900
gaggggaattg agagtcacag aactgagcc acgcagcccc gcctctgggg ccgcctacct 960
ttgctggctc cacttcagag gaggcagaaa tggagagcatt ttcaccgcc tggggtttta 1020
agggagcggt gtgggagtgg gaaagtcag ggactggtta agaaagtgg ataagattcc 1080
cccttgccac tcgctgcca tcagaaagcc tgaggcgtgc ccagagcaca agactggggg 1140
caactgtaga tgtggtttct agtcctggct ctgccactaa cttgctgtgt aacctggaac 1200
tacacaattc tcttcggga cctcaatttc cactttgtaa aatgaggggt gaggtgggaa 1260
taggatctcg aggagactat tggcatatga ttccaaggac tccagtgcct tttgaatggg 1320
cagaggtgag agagagagag agaaagagag agaataatg cagttgcatt gattcagtgc 1380
caaggtcact tccagaattc agagtgtga tgcctctctc tgacagccaa agatgaaaaa 1440
caaacagaaa aaaaaaagta aagagtctat ttatggctga catatttacg gctgacaaac 1500
tcctggaaga agctatgctg cttcccagcc tggtctcccc ggatgttttg ctacctccac 1560
ccctccatct caaagaaata acatcatcca ttggggtaga aaaggagagg gtccgagggg 1620
ggtagggagg atagaaatca catccgcccc aacttccaa agagcagcat cctcccccg 1680
acccatagcc atgttttaaa gtcaccttcc gaagagaagt gaaagggttc aggacactgg 1740
ccttgagggc ccgagggagc agccatcaca aactcacaga ccagcacatc ccttttgaga 1800
caccgccttc tgcccaccac tcacggacac atttctgcct agaaaacagc ttcttactgc 1860
tcttacatgt gatggcatat cttacactaa aagaatatta ttgggggaaa aactacaagt 1920
gctgtacata tgctgagaaa ctgcagagca taatagctgc cacccaaaaa tctttttgaa 1980
aatcatttcc agacaacctc ttactttctg ttagtatttt aattgttaaa aaaaaaaagt 2040
tttaaacaga agcacatgac atatgaaagc ctgcaggact ggtcgttttt ttggcaattc 2100
ttccacgtgg gacttgtcca caagaatgaa agtagtggtt tttaaagagt taagttacat 2160
atttattttc tcacttaagt tatttatgca aaagtttttc ttgtagagaa tgacaatgtt 2220
aatattgctt tatgaattaa cagtctgttc ttccagagtc cagagacatt gttaataaag 2280
acaatgaatc atgaccgaaa g

```

15

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

20

<400> 58

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

<210> 59
 <211> 2301
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 59

```

agagcctgtg ctactggaag gtggcgtgcc ctccctctggc tggtagcatg cagctccac 60
tggccctgtg tctcatctgc ctgctggtag acacagcctt ccgtgtagtg gaggggccagg 120
ggtggcaggc gttcaagaat gatgccacgg aaatcatccg cgagctcgga gactacccc 180
agcctccacc ggagctggag aacaacaaga ccatgaaccg ggcggagaac ggagggcgcc 240
ctccccacca cccctttgag accaaagacg tgtccgagta cagctgccgc gagctgcact 300
tcaccgctga cgtgaccgat gggcgtgcc gcagcgccaa gccggtcacc gagctggtgt 360
gtcccgccca gtgcggcccg gcgcgcctgc tgcccaacgc catcggcccg ggcaagtgg 420
ggcgacctag tgggcccgcac ttccgctgca tccccgaccg ctaccgcgcg cagcgcgtgc 480
agctgctgtg tcccgggtgtg gaggcgccgc gcgcgcgcaa ggtgcgcctg gtggcctcgt 540
gcaagtgcga gcgcctcacc cgcttcacac accagtcgga gctcaaggac ttcgggaccg 600
aggccgctcg gccgcagaag ggccggaagc cgccgcccgc cgcccgagac gccaaagcca 660
accagggcca gctggagaac gctactaga gcccgcgcgc gccctcccc accggcgggc 720
gccccggccc tgaacccgcg ccccacattt ctgtcctctg cgcgtggttt gattgtttat 780
atctcattgt aaatgcctgc aaccagggc agggggctga gacctccag gccctgagga 840
atcccgggcg ccggcaaggc ccccctcagc ccgcagctg aggggtccca cggggcaggg 900
gaggggaattg agagtcacag acactgagcc acgcagcccc gcctctgggg ccgcctacct 960
ttgctggtcc cacttcagag gaggcagaaa tggaaagcatt ttcaccgccc tgggggttta 1020
agggagcggg gtgggagtgg gaaagtccag ggactggtta agaaagtggg ataagattcc 1080
cccttgcaac tcgctgcccc tcagaaagcc tgaggcgtgc ccagagcaca agactggggg 1140
caactgtaga tgtggtttct agtctgtgct ctgccactaa cttgctgtgt aaccttgaa 1200
tacacaattc tccttcggga cctcaatttc cactttgtta aatgaggggt gagggtggga 1260
taggatctcg aggagactat tggcatatga ttccaaggac tccagtgcct tttgaatggg 1320
cagaggtgag agagagagag agaaagagag agaagtgaat cagttgcatt gattcagtgc 1380
caaggtcact tccagaattc agagtgtgta tgcctctctc tgacagccaa agatgaaaaa 1440
caaacagaaa aaaaaaagta aagagtctat ttatggctga catatttacg gctgacaaa 1500
tcctggaaga agctatgctg cttcccagcc tggcttcccc ggatgtttgg ctacctccac 1560
ccctccatct caaagaaata acatcatcca ttggggtaga aaaggagagg gtccgagggg 1620
ggtgggaggg atagaaatca catccgcccc aacttcccaa agagcagcat ccctcccccg 1680
acccatagcc atgtttttaa gtcaccttcc gaagagaagt gaaagggttc aggcactgg 1740
ccttgagggc ccgaggggag agccatcaca aactcacaga ccagcacatc ccttttgaga 1800
caccgccttc tgcccaccac tcacggacac atttctgcct agaaaacagc tcttactgac 1860
tcttacatgt gatggcatat cttacactaa aagaatatta ttgggggaaa aactacaagt 1920
gctgtacata tgctgagaaa ctgcagagca taatagctgc caccacaaaa tcttttgaaa 1980
aatcatttcc agacaacctc ttactttctg tgtagttttt aattgtttaa aaaaaaagt 2040
tttaaacaga agcacatgac atatgaaagc ctgcaggact ggtcgttttt ttggcaattc 2100
ttccacgtgg gacttgtcca caagaatgaa agtagtggtt tttaaagagt taagttacat 2160
atttatttcc tcacttaagt tatttatgca aaagtttttc ttgtagagaa tgacaattgt 2220
aatattgctt tatgaattaa cagtctgttc ttcagagtc cagagacatt gtttaataaa 2280
acaatgatac atgaccgaaa g
    
```

<210> 60
 <211> 213

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 60

5

```

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

```

<210> 61
<211> 2301
<212> ADN
<213> Homo sapiens

10

<400> 61

15

```

agagcctgtg ctactggaag gtggcgtgcc ctccctctggc tggtagcatg cagctccac 60
tggccctgtg tctcgtctgc ctgctggtac acacagcctt ccgtgtagtg gagggccagg 120
ggtggcaggc gttcaagaat gatgccacgg aaatcatccg cgagctcgga gactaccccg 180
agcctccacc ggagctggag aacaacaaga ccatgaaccg ggcggagaac ggagggcggc 240
ctccccacca cccctttgag accaaagacg tgtccgagta cagctgccgc gagctgcaact 300
tcacccgcta cgtgaccgat gggcgtgcc gcagcgccaa gccggtcacc gagctggtgt 360
gctccggcca gtgcggcccg gcgcgcctgc tgcccaacgc catcgccgc gcgaagtgg 420
ggcgacctag tgggcccgcac ttccgctgca tccccgaccg ctaccgcgcg cagcgcgtgc 480
agctgctgtg tcccgtgtgt gaggcgcgcg gcgcgcgcga ggtgcgcctg gtggcctcgt 540
tgcctgtgca ggcctcacc cgcttccaca accagtcgga gctcaaggac ttcgggaccg 600
aggccgtcgc gccgcagaag ggcgggaagc gcgggcccgc gcccggaagc gccaaagcca 660
accaggccga gctggagaac gcctactaga gccgcgccgc gccctccccc accggcgggc 720
gccccggccc tgaacccgcg ccccacattt ctgtcctctg cgcgtggttt gattgtttat 780
atttcattgt aaatgcctgc aacccagggc agggggctga gaccttccag gccctgagga 840
atccccggcg ccggcaaggc cccctcagc ccgccagctg aggggtccca cggggcaggg 900
gaggggaatt agagtacag acactgagcc acgcagcccc gcctctgggg ccgcctacct 960
ttgctggtcc cacttcagag gaggcagaaa tggaaagcatt ttcaccgccc tggggtttta 1020
agggagcggg gtgggagtgg gaaagtccag ggactggtta agaaagtggg ataagattcc 1080
cccttgcaac tcgctgcccc tcagaaagcc tgaggcgtgc ccagagcaca agactggggg 1140
caactgtaga tgtggtttct agtcctggct ctgccactaa cttgctgtgt aaccttgaac 1200
tacacaattc tccttcggga cctcaatttc cactttgtaa aatgagggtg gaggtgggaa 1260
taggatctcg aggagactat tggcatatga ttccaaggac tccagtgcct ttggaatggg 1320
cagaggtgag agagagagag agaaagagag agaatgaatg cagttgcatt gattcagtgc 1380
caaggtcact tccagaattc agagttgtga tgcctctctt tgacagccaa agatgaaaaa 1440
caaacagaaa aaaaaaagta aagagtctat ttatggctga catatttacg gctgacaaac 1500
tcttggaaga agctatgctg ctcccagccc tggcttcccc ggatgttttg ctacctccac 1560
ccctccatct caaagaataa acatcatcca ttggggtaga aaaggagagg gtccgagggt 1620
gggtgggaggg atagaaatca catccgcccc aacttcccaa agagcagcat ccctcccccg 1680
acccatagcc atgttttaaa gtcaccttcc gaagagaagt gaaagggtca aggacactgg 1740
ccttgcaagg ccgagggagc agccatcaca aactcacaga ccagcacatc ccttttgaga 1800
caccgccttc tgcccaccac tcacggacac atttctgcct agaaaaacgc ttcttactgc 1860
tcttacatgt gatggcatat cttacactaa aagaatatta ttgggggaaa aactacaagt 1920
gctgtacata tgctgagaaa ctgcagagca taatagctgc cccccaaaaa tctttttgaa 1980
aatcatttcc agacaacctc ttactttctg ttagtatttt aattgtttaa aaaaaaaagt 2040
tttaaacaga agcacatgac atatgaaagc ctgcaggact ggtcgttttt ttggcaattc 2100
ttccacgtgg gacttgtcca caagaatgaa agtagtggtt tttaaagagt taagttacat 2160
atttatttcc tcacttaagt tatttatgca aaagtttttc ttgtagagaa tgacaatgtt 2220
aatattgctt tatgaattaa cagtctgttc ttccagagtc cagagacatt gttaataaag 2280
acaatgaatc atgaccgaaa g 2301

```

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

<400> 62

```

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

```

<210> 63
 <211> 642

<212> ADN
<213> Cercopithecus pygerythrus

<400> 63

5

```

atgcagctcc cactggccct gtgtcttgct tgcttctggt tacacgcagc cttccgtgta 60
gtggagggcc aggggtggca ggccttcaag aatgatgcca cggaaatcat ccccgagctc 120
ggagagtacc ccgagcctcc accggagctg gagaacaaca agaccatgaa ccgggcggag 180
aatggagggc ggcctcccca ccaccccttt gagaccaaag acgtgtccga gtacagctgc 240
cgagagctgc acttcacccg ctacgtgacc gatgggcccgt gccgcagcgc caagccagtc 300
accgagtggg tgtgctccgg ccagtgcggc ccggcacgcc tgcgtcccaa cgccatcggc 360
cgcggaaggt ggtggcgccc gactggggcc gacttccgct gcacccccga ccgctaccgc 420
gcgcagcgtg tgcagctgct gtgtcccggt ggtgccgcgc cgcgcgcgcg caaggtgcgc 480
ctggtggcct cgtgcaagtg caagcgcttc acccgcttcc acaaccagtc ggagctcaag 540
gacttcggtc ccgagggcgc tcggccgcag aaggggcggg agccgcggcc ccgccccgg 600
ggggccaaag ccaatcaggc cgagctggag aacgcctact ag 642

```

<210> 64
<211> 213
<212> PRT
<213> Cercopithecus pygerythrus

10

<400> 64

```

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

```

15

<210> 65
<211> 638
<212> ADN
<213> Mus musculus

20

<400> 65

```

atgcagccct cactagcccc gtgcctcctc tgccctacttg tgcacgctgc cttctgtgct 60
gtggagggcc aggggtggca agccttcagg aatgatgcca cagaggatcat cccagggcct 120
ggagagtacc ccgagcctcc tcctgagaac aaccagacca tgaaccgggc ggagaatgga 180
ggcagacctc cccaccatcc ctatgacgcc aaagggtgtgt ccgagtacag ctgccgcgag 240
ctgcactaca ccgccttcct gacagacggc ccatgccgca gcgccaaagg ggtcaccgag 300
ttggtgtgct ccggccagtg cgccccgcgc cggttgcctgc ccaacgccat cgggcgcgtg 360
aagtgggtgg gcccgaaagg accggatttc cgctgcaccc cggatcgcta ccgcgcgcag 420
cgggtgcagc tgctgtgccc cgggggcgcgc gcgcgcgcgc cgcgcaaggc gcgtctggtg 480
gcctcgtgca agtgcaaggc cctcaaccgc ttccacaacc agtcggagct caaggacttc 540
gggcccggaga ccgcgcggcc gcagaagggt cgcaagccgc ggcccggcgc ccggggagcc 600
aaagccaacc aggcggagct ggagaacgcc tactagag 638

```

25

<210> 66
<211> 211
<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 66

5

```

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

```

<210> 67

<211> 674

<212> ADN

<213> Rattus norvegicus

<400> 67

10

```

gaggaccgag tgecccttct ccttctggca ccatgcagct ctactagcc ccttgccctg 60
cctgectgct tgtacatgca gccttcgttg ctgtggagag ccaggggtgg caagccttca 120
agaatgatgc cacagaaatc atcccgggac tcagagagta ccagagcct cctcaggaac 180
tagagaacaa ccagaccatg aaccgggccc agaacggagg cagaccccc caccatcctt 240
atgacaccaa agacgtgtcc gactacagct gccgcgagct gcactacacc cgcttcgtga 300
ccgaeggccc gtgcccagct gccaaagccgg tcaccgagtt ggtgtgctcg ggccagtgcg 360
gccccgcgcg gctgctgccc aacgccatcg ggcgcgtgaa gtggtggcgc ccgaacggac 420
ccgacttccg ctgcatcccc gatcgctacc gcgcgcagcg ggtgcagctg ctgtgccccg 480
gcggcgcggc gccgcgctcg cgcaaggtgc gtctggtggc ctctgcaag tgcaagcgcc 540
tcaccogctt ccacaaccag tcggagctca aggacttcgg acctgagacc gcgcggccgc 600
agaagggtcg caagccgcgg ccccgcgccc ggggagccaa agccaaccag gcggagctgg 660
agaacgccta ctag
674

```

15

<210> 68

<211> 213

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 68

20

```

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

```

ES 2 586 401 T3

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

<210> 69
 <211> 532
 <212> ADN
 <213> Bos torus

<400> 69

agaatgatgc	cacagaaatc	atccccgagc	tgggcgagta	ccccgagcct	ctgccagagc	60
tgaacaacaa	gaccatgaac	cgggcggaga	acggagggag	acctccccac	cacctcttg	120
agaccaaaaga	cgcctccgag	tacagctgcc	gggagctgca	cttcaccgcg	tacgtgaccg	180
atgggcccgtg	ccgcagcgcc	aagccgggtca	ccgagctggg	gtgctcgggc	cagtgcggcc	240
cggcgcgccct	gctgcccac	gccatcgcc	gcggcaagtg	gtggcgccca	agcgggccc	300
acttcgctg	catccccgac	cgctaccgcg	cgcagcgggt	gcagctgttg	tgctctggcg	360
gcgcggcgcc	gcgcgcgcgc	aagggtgcgc	tggtggcctc	gtgcaagtgc	aagcgcctca	420
ctcgcttcca	caaccagtc	gagctcaagg	acttcggggc	cgaggccgcg	cggccgcaaa	480
cgggcgggaa	gctgcggccc	cgcgcccggg	gcaccaaagc	cagccggggc	ga	532

<210> 70
 <211> 176
 <212> PRT
 <213> Bos torus

<400> 70

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

<210> 71
 <211> 532
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 71

```

Met Thr Gln Leu Tyr Ile Tyr Ile Arg Leu Leu Gly Ala Tyr Leu Phe
 1      5      10      15
Ile Ile Ser Arg Val Gln Gly Gln Asn Leu Asp Ser Met Leu His Gly
 20      25      30
Thr Gly Met Lys Ser Asp Ser Asp Gln Lys Lys Ser Glu Asn Gly Val
 35      40      45
Thr Leu Ala Pro Glu Asp Thr Leu Pro Phe Leu Lys Cys Tyr Cys Ser
 50      55      60
Gly His Cys Pro Asp Asp Ala Ile Asn Asn Thr Cys Ile Thr Asn Gly
 65      70      75      80
His Cys Phe Ala Ile Glu Glu Asp Asp Gln Gly Glu Thr Thr Leu
 85      90      95
Ala Ser Gly Cys Met Lys Tyr Glu Gly Ser Asp Phe Gln Cys Lys Asp
 100      105      110
Ser Pro Lys Ala Gln Leu Arg Arg Thr Ile Glu Cys Cys Arg Thr Asn
 115      120      125
Leu Cys Asn Gln Tyr Leu Gln Pro Thr Leu Pro Pro Val Val Ile Gly
 130      135      140
Pro Phe Phe Asp Gly Ser Ile Arg Trp Leu Val Leu Leu Ile Ser Met
 145      150      155      160
Ala Val Cys Ile Ile Ala Met Ile Ile Phe Ser Ser Cys Phe Cys Tyr
 165      170      175
Lys His Tyr Cys Lys Ser Ile Ser Ser Arg Arg Arg Tyr Asn Arg Asp
 180      185      190
Leu Glu Gln Asp Glu Ala Phe Ile Pro Val Gly Glu Ser Leu Lys Asp
 195      200      205
Leu Ile Asp Gln Ser Gln Ser Ser Gly Ser Gly Ser Gly Leu Pro Leu
 210      215      220
Leu Val Gln Arg Thr Ile Ala Lys Gln Ile Gln Met Val Arg Gln Val
 225      230      235      240
Gly Lys Gly Arg Tyr Gly Glu Val Trp Met Gly Lys Trp Arg Gly Glu
 245      250      255
Lys Val Ala Val Lys Val Phe Phe Thr Thr Glu Glu Ala Ser Trp Phe
 260      265      270
Arg Glu Thr Glu Ile Tyr Gln Thr Val Leu Met Arg His Glu Asn Ile
 275      280      285
Leu Gly Phe Ile Ala Ala Asp Ile Lys Gly Thr Gly Ser Trp Thr Gln
 290      295      300
Leu Tyr Leu Ile Thr Asp Tyr His Glu Asn Gly Ser Leu Tyr Asp Phe
 305      310      315      320
Leu Lys Cys Ala Thr Leu Asp Thr Arg Ala Leu Leu Lys Leu Ala Tyr
 325      330      335
Ser Ala Ala Cys Gly Leu Cys His Leu His Thr Glu Ile Tyr Gly Thr
 340      345      350
Gln Gly Lys Pro Ala Ile Ala His Arg Asp Leu Lys Ser Lys Asn Ile
 355      360      365
Leu Ile Lys Lys Asn Gly Ser Cys Cys Ile Ala Asp Leu Gly Leu Ala
 370      375      380
Val Lys Phe Asn Ser Asp Thr Asn Glu Val Asp Val Pro Leu Asn Thr
 385      390      395      400
Arg Val Gly Thr Lys Arg Tyr Met Ala Pro Glu Val Leu Asp Glu Ser
 405      410      415
Leu Asn Lys Asn His Phe Gln Pro Tyr Ile Met Ala Asp Ile Tyr Ser
 420      425      430
Phe Gly Leu Ile Ile Trp Glu Met Ala Arg Arg Cys Ile Thr Gly Gly
 435      440      445
Ile Val Glu Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr Tyr Asn Met Val Pro Ser Asp
 450      455      460
Pro Ser Tyr Glu Asp Met Arg Glu Val Val Cys Val Lys Arg Leu Arg
 465      470      475      480
Pro Ile Val Ser Asn Arg Trp Asn Ser Asp Glu Cys Leu Arg Ala Val
 485      490      495
Leu Lys Leu Met Ser Glu Cys Trp Ala His Asn Pro Ala Ser Arg Leu
 500      505      510
Thr Ala Leu Arg Ile Lys Lys Thr Leu Ala Lys Met Val Glu Ser Gln
 515      520      525
Asp Val Lys Ile
 530

```

<210> 72
 <211> 502
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 72

ES 2 586 401 T3

```

Met Leu Leu Arg Ser Ala Gly Lys Leu Asn Val Gly Thr Lys Lys Glu
 1      5      10      15
Asp Gly Glu Ser Thr Ala Pro Thr Pro Arg Pro Lys Val Leu Arg Cys
      20      25      30
Lys Cys His His Cys Pro Glu Asp Ser Val Asn Asn Ile Cys Ser
      35      40      45
Thr Asp Gly Tyr Cys Phe Thr Met Ile Glu Glu Asp Asp Ser Gly Leu
      50      55      60
Pro Val Val Thr Ser Gly Cys Leu Gly Leu Glu Gly Ser Asp Phe Gln
      65      70      75      80
Cys Arg Asp Thr Pro Ile Pro His Gln Arg Arg Ser Ile Glu Cys Cys
      85      90      95
Thr Glu Arg Asn Glu Cys Asn Lys Asp Leu His Pro Thr Leu Pro Pro
      100      105      110
Leu Lys Asn Arg Asp Phe Val Asp Gly Pro Ile His His Arg Ala Leu
      115      120      125
Leu Ile Ser Val Thr Val Cys Ser Leu Leu Leu Val Leu Ile Ile Leu
      130      135      140
Phe Cys Tyr Phe Arg Tyr Lys Arg Gln Glu Thr Arg Pro Arg Tyr Ser
      145      150      155      160
Ile Gly Leu Glu Gln Asp Glu Thr Tyr Ile Pro Pro Gly Glu Ser Leu
      165      170      175
Arg Asp Leu Ile Glu Gln Ser Gln Ser Ser Gly Ser Gly Ser Leu
      180      185      190
Pro Leu Leu Val Gln Arg Thr Ile Ala Lys Gln Ile Gln Met Val Lys
      195      200      205
Gln Ile Gly Lys Gly Arg Tyr Gly Glu Val Trp Met Gly Lys Trp Arg
      210      215      220
Gly Glu Lys Val Ala Val Lys Val Phe Phe Thr Thr Glu Glu Ala Ser
      225      230      235      240
Trp Phe Arg Glu Thr Glu Ile Tyr Gln Thr Val Leu Met Arg His Glu
      245      250      255
Asn Ile Leu Gly Phe Ile Ala Ala Asp Ile Lys Gly Thr Gly Ser Trp
      260      265      270
Thr Gln Leu Tyr Leu Ile Thr Asp Tyr His Glu Asn Gly Ser Leu Tyr
      275      280      285
Asp Tyr Leu Lys Ser Thr Thr Leu Asp Ala Lys Ser Met Leu Lys Leu
      290      295      300
Ala Tyr Ser Ser Val Ser Gly Leu Cys His Leu His Thr Glu Ile Phe
      305      310      315      320
Ser Thr Gln Gly Lys Pro Ala Ile Ala His Arg Asp Leu Lys Ser Lys
      325      330      335
Asn Ile Leu Val Lys Lys Asn Gly Thr Cys Cys Ile Ala Asp Leu Gly
      340      345      350
Leu Ala Val Lys Phe Ile Ser Asp Thr Asn Glu Val Asp Ile Pro Pro
      355      360      365
Asn Thr Arg Val Gly Thr Lys Arg Tyr Met Pro Pro Glu Val Leu Asp
      370      375      380
Glu Ser Leu Asn Arg Asn His Phe Gln Ser Tyr Ile Met Ala Asp Met
      385      390      395      400
Tyr Ser Phe Gly Leu Ile Leu Trp Glu Val Ala Arg Arg Cys Val Ser
      405      410      415
Gly Gly Ile Val Glu Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr His Asp Leu Val Pro
      420      425      430
Ser Asp Pro Ser Tyr Glu Asp Met Arg Glu Ile Val Cys Ile Lys Lys
      435      440      445
Leu Arg Pro Ser Phe Pro Asn Arg Trp Ser Ser Asp Glu Cys Leu Arg
      450      455      460
Gln Met Gly Lys Leu Met Thr Glu Cys Trp Ala His Asn Pro Ala Ser
      465      470      475      480
Arg Leu Thr Ala Leu Arg Val Lys Lys Thr Leu Ala Lys Met Ser Glu
      485      490      495
Ser Gln Asp Ile Lys Leu
      500

```

<210> 73
 <211> 502
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 73

```

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

```

```

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

```

<210> 74
 <211> 532
 <212> PRT
 <213> Rattus sp.

<400> 74

ES 2 586 401 T3

Met	Thr	Gln	Leu	Tyr	Thr	Tyr	Ile	Arg	Leu	Leu	Gly	Ala	Cys	Leu	Phe
1				5				10					15		
Ile	Ile	Ser	His	Val	Gln	Gly	Gln	Asn	Leu	Asp	Ser	Met	Leu	His	Gly
			20					25					30		
Thr	Gly	Met	Lys	Ser	Asp	Val	Asp	Gln	Lys	Lys	Pro	Glu	Asn	Gly	Val
			35				40					45			
Thr	Leu	Ala	Pro	Glu	Asp	Thr	Leu	Pro	Phe	Leu	Lys	Cys	Tyr	Cys	Ser
	50					55					60				
Gly	His	Cys	Pro	Asp	Asp	Ala	Ile	Asn	Asn	Thr	Cys	Ile	Thr	Asn	Gly
65				70						75				80	
His	Cys	Phe	Ala	Ile	Glu	Glu	Asp	Asp	Gln	Gly	Glu	Thr	Thr	Leu	
			85					90					95		
Thr	Ser	Gly	Cys	Met	Lys	Tyr	Glu	Gly	Ser	Asp	Phe	Gln	Cys	Lys	Asp
			100					105					110		
Ser	Pro	Lys	Ala	Gln	Leu	Arg	Arg	Thr	Ile	Glu	Cys	Cys	Arg	Thr	Asn
		115					120					125			
Leu	Cys	Asn	Gln	Tyr	Leu	Gln	Pro	Thr	Leu	Pro	Pro	Val	Ile	Gly	
		130				135					140				
Pro	Phe	Phe	Asp	Gly	Ser	Val	Arg	Trp	Leu	Ala	Val	Leu	Ile	Ser	Met
145				150						155					160
Ala	Val	Cys	Ile	Val	Ala	Met	Ile	Val	Phe	Ser	Ser	Cys	Phe	Cys	Tyr
				165					170					175	
Lys	His	Tyr	Cys	Lys	Ser	Ile	Ser	Ser	Arg	Gly	Arg	Tyr	Asn	Arg	Asp
			180					185					190		
Leu	Glu	Gln	Asp	Glu	Ala	Phe	Ile	Pro	Val	Gly	Glu	Ser	Leu	Lys	Asp
		195					200					205			
Leu	Ile	Asp	Gln	Ser	Gln	Ser	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Leu	Pro	Leu
	210					215					220				
Leu	Val	Gln	Arg	Thr	Ile	Ala	Lys	Gln	Ile	Gln	Met	Val	Arg	Gln	Val
		225				230					235				240
Gly	Lys	Gly	Arg	Tyr	Gly	Glu	Val	Trp	Met	Gly	Lys	Trp	Arg	Gly	Glu
			245						250					255	
Lys	Val	Ala	Val	Lys	Val	Phe	Phe	Thr	Thr	Glu	Glu	Ala	Ser	Trp	Phe
		260						265					270		
Arg	Glu	Thr	Glu	Ile	Tyr	Gln	Thr	Val	Leu	Met	Arg	His	Glu	Asn	Ile
		275					280					285			
Leu	Gly	Phe	Ile	Ala	Ala	Asp	Ile	Lys	Gly	Thr	Gly	Ser	Trp	Thr	Gln
		290				295					300				
Leu	Tyr	Leu	Ile	Thr	Asp	Tyr	His	Glu	Asn	Gly	Ser	Leu	Tyr	Asp	Phe
				310						315				320	
Leu	Lys	Cys	Ala	Thr	Leu	Asp	Thr	Arg	Ala	Leu	Leu	Lys	Leu	Ala	Tyr
			325						330					335	
Ser	Ala	Ala	Cys	Gly	Leu	Cys	His	Leu	His	Thr	Glu	Ile	Tyr	Gly	Thr
			340					345					350		
Gln	Gly	Lys	Pro	Ala	Ile	Ala	His	Arg	Asp	Leu	Lys	Ser	Lys	Asn	Ile
		355					360					365			
Leu	Ile	Lys	Lys	Asn	Gly	Ser	Cys	Cys	Ile	Ala	Asp	Leu	Gly	Leu	Ala
		370				375					380				
Val	Lys	Phe	Asn	Ser	Asp	Thr	Asn	Glu	Val	Asp	Ile	Pro	Leu	Asn	Thr
				390						395					400
Arg	Val	Gly	Thr	Arg	Arg	Tyr	Met	Ala	Pro	Glu	Val	Leu	Asp	Glu	Ser
				405					410					415	
Leu	Ser	Lys	Asn	His	Phe	Gln	Pro	Tyr	Ile	Met	Ala	Asp	Ile	Tyr	Ser
			420					425					430		
Phe	Gly	Leu	Ile	Ile	Trp	Glu	Met	Ala	Arg	Arg	Cys	Ile	Thr	Gly	Gly
		435					440					445			
Ile	Val	Glu	Glu	Tyr	Gln	Leu	Pro	Tyr	Tyr	Asn	Met	Val	Pro	Ser	Asp
		450				455					460				
Pro	Ser	Tyr	Glu	Asp	Met	Arg	Glu	Val	Val	Cys	Val	Lys	Arg	Leu	Arg
		465			470					475				480	
Pro	Ile	Val	Ser	Asn	Arg	Trp	Asn	Ser	Asp	Glu	Cys	Leu	Arg	Ala	Val
			485					490					495		
Leu	Lys	Leu	Met	Ser	Glu	Cys	Trp	Ala	His	Asn	Pro	Ala	Ser	Arg	Leu
		500						505					510		
Thr	Ala	Leu	Arg	Ile	Lys	Lys	Thr	Leu	Ala	Lys	Met	Val	Glu	Ser	Gln
		515					520					525			
Asp	Val	Lys	Ile												
			530												

<210> 75
 <211> 532
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus

<400> 75

ES 2 586 401 T3

Met	Thr	Gln	Leu	Tyr	Thr	Tyr	Ile	Arg	Leu	Leu	Gly	Ala	Cys	Leu	Phe
1				5					10					15	
Ile	Ile	Ser	His	Val	Gln	Gly	Gln	Asn	Leu	Asp	Ser	Met	Leu	His	Gly
			20					25					30		
Thr	Gly	Met	Lys	Ser	Asp	Val	Asp	Gln	Lys	Lys	Pro	Glu	Asn	Gly	Val
		35					40					45			
Thr	Leu	Ala	Pro	Glu	Asp	Thr	Leu	Pro	Phe	Leu	Lys	Cys	Tyr	Cys	Ser
	50				55						60				
Gly	His	Cys	Pro	Asp	Asp	Ala	Ile	Asn	Asn	Thr	Cys	Ile	Thr	Asn	Gly
65					70					75				80	
His	Cys	Phe	Ala	Ile	Ile	Glu	Glu	Asp	Asp	Gln	Gly	Glu	Thr	Thr	Leu
			85					90						95	
Thr	Ser	Gly	Cys	Met	Lys	Tyr	Glu	Gly	Ser	Asp	Phe	Gln	Cys	Lys	Asp
			100					105					110		
Ser	Pro	Lys	Ala	Gln	Leu	Arg	Arg	Thr	Ile	Glu	Cys	Cys	Arg	Thr	Asn
		115					120					125			
Leu	Cys	Asn	Gln	Tyr	Leu	Gln	Pro	Thr	Leu	Pro	Pro	Val	Val	Ile	Gly
	130					135					140				
Pro	Phe	Phe	Asp	Gly	Ser	Val	Arg	Trp	Leu	Ala	Val	Leu	Ile	Ser	Met
145					150					155					160
Ala	Val	Cys	Ile	Val	Ala	Met	Ile	Val	Phe	Ser	Ser	Cys	Phe	Cys	Tyr
				165					170					175	
Lys	His	Tyr	Cys	Lys	Ser	Ile	Ser	Ser	Arg	Gly	Arg	Tyr	Asn	Arg	Asp
			180					185					190		
Leu	Glu	Gln	Asp	Glu	Ala	Phe	Ile	Pro	Val	Gly	Glu	Ser	Leu	Lys	Asp
	195						200					205			
Leu	Ile	Asp	Gln	Ser	Gln	Ser	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Leu	Pro	Leu
	210					215					220				
Leu	Val	Gln	Arg	Thr	Ile	Ala	Lys	Gln	Ile	Gln	Met	Val	Arg	Gln	Val
225					230					235					240
Gly	Lys	Gly	Arg	Tyr	Gly	Glu	Val	Trp	Met	Gly	Lys	Trp	Arg	Gly	Glu
			245					250					255		
Lys	Val	Ala	Val	Lys	Val	Phe	Phe	Thr	Thr	Glu	Glu	Ala	Ser	Trp	Phe
		260						265					270		
Arg	Glu	Thr	Glu	Ile	Tyr	Gln	Thr	Val	Leu	Met	Arg	His	Glu	Asn	Ile
	275						280					285			
Leu	Gly	Phe	Ile	Ala	Ala	Asp	Ile	Lys	Gly	Thr	Gly	Ser	Trp	Thr	Gln
	290					295					300				
Leu	Tyr	Leu	Ile	Thr	Asp	Tyr	His	Glu	Asn	Gly	Ser	Leu	Tyr	Asp	Phe
305					310					315				320	
Leu	Lys	Cys	Ala	Thr	Leu	Asp	Thr	Arg	Ala	Leu	Leu	Lys	Leu	Ala	Tyr
			325					330					335		
Ser	Ala	Ala	Cys	Gly	Leu	Cys	His	Leu	His	Thr	Glu	Ile	Tyr	Gly	Thr
		340						345					350		
Gln	Gly	Lys	Pro	Ala	Ile	Ala	His	Arg	Asp	Leu	Lys	Ser	Lys	Asn	Ile
		355					360					365			
Leu	Ile	Lys	Lys	Asn	Gly	Ser	Cys	Cys	Ile	Ala	Asp	Leu	Gly	Leu	Ala
	370				375					380					
Val	Lys	Phe	Asn	Ser	Asp	Thr	Asn	Glu	Val	Asp	Ile	Pro	Leu	Asn	Thr
385					390					395					400
Arg	Val	Gly	Thr	Arg	Arg	Tyr	Met	Ala	Pro	Glu	Val	Leu	Asp	Glu	Ser
				405				410					415		
Leu	Ser	Lys	Asn	His	Phe	Gln	Pro	Tyr	Ile	Met	Ala	Asp	Ile	Tyr	Ser
			420					425					430		
Phe	Gly	Leu	Ile	Ile	Trp	Glu	Met	Ala	Arg	Arg	Cys	Ile	Thr	Gly	Gly
	435						440					445			
Ile	Val	Glu	Glu	Tyr	Gln	Leu	Pro	Tyr	Tyr	Asn	Met	Val	Pro	Ser	Asp
	450					455					460				
Pro	Ser	Tyr	Glu	Asp	Met	Arg	Glu	Val	Val	Cys	Val	Lys	Arg	Leu	Arg
465					470					475					480
Pro	Ile	Val	Ser	Asn	Arg	Trp	Asn	Ser	Asp	Glu	Cys	Leu	Arg	Ala	Val
			485					490					495		
Leu	Lys	Leu	Met	Ser	Glu	Cys	Trp	Ala	His	Asn	Pro	Ala	Ser	Arg	Leu
		500						505					510		
Thr	Ala	Leu	Arg	Ile	Lys	Lys	Thr	Leu	Ala	Lys	Met	Val	Glu	Ser	Gln
	515						520					525			
Asp	Val	Lys	Ile												
	530														

<210> 76
 <211> 532
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus

<400> 76

```

Met Thr Gln Leu Tyr Thr Tyr Ile Arg Leu Leu Gly Ala Cys Leu Phe
 1      5      10      15
Ile Ile Ser His Val Gln Gly Gln Asn Leu Asp Ser Met Leu His Gly
 20      25      30
Thr Gly Met Lys Ser Asp Val Asp Gln Lys Lys Pro Glu Asn Gly Val
 35      40      45
Thr Leu Ala Pro Glu Asp Thr Leu Pro Phe Leu Lys Cys Tyr Cys Ser
 50      55      60
Gly His Cys Pro Asp Asp Ala Ile Asn Asn Thr Cys Ile Thr Asn Gly
 65      70      75      80
His Cys Phe Ala Ile Ile Glu Glu Asp Asp Gln Gly Glu Thr Thr Leu
 85      90      95
Thr Ser Gly Cys Met Lys Tyr Glu Gly Ser Asp Phe Gln Cys Lys Asp
 100      105      110
Ser Pro Lys Ala Gln Leu Arg Arg Thr Ile Glu Cys Cys Arg Thr Asn
 115      120      125
Leu Cys Asn Gln Tyr Leu Gln Pro Thr Leu Pro Pro Val Val Ile Gly
 130      135      140
Pro Phe Phe Asp Gly Ser Val Arg Trp Leu Ala Val Leu Ile Ser Met
 145      150      155      160
Ala Val Cys Ile Val Ala Met Ile Val Phe Ser Ser Cys Phe Cys Tyr
 165      170      175
Lys His Tyr Cys Lys Ser Ile Ser Ser Arg Gly Arg Tyr Asn Arg Asp
 180      185      190
Leu Glu Gln Asp Glu Ala Phe Ile Pro Val Gly Glu Ser Leu Lys Asp
 195      200      205
Leu Ile Asp Gln Ser Gln Ser Ser Gly Ser Gly Ser Gly Leu Pro Leu
 210      215      220
Leu Val Gln Arg Thr Ile Ala Lys Gln Ile Gln Met Val Arg Gln Val
 225      230      235      240
Gly Lys Gly Arg Tyr Gly Glu Val Trp Met Gly Lys Trp Arg Gly Glu
 245      250      255
Lys Val Ala Val Lys Val Phe Phe Thr Thr Glu Glu Ala Ser Trp Phe
 260      265      270
Arg Glu Thr Glu Ile Tyr Gln Thr Val Leu Met Arg His Glu Asn Ile
 275      280      285
Leu Gly Phe Ile Ala Ala Asp Ile Lys Gly Thr Gly Ser Trp Thr Gln
 290      295      300
Leu Tyr Leu Ile Thr Asp Tyr His Glu Asn Gly Ser Leu Tyr Asp Phe
 305      310      315      320
Leu Lys Cys Ala Thr Leu Asp Thr Arg Ala Leu Leu Lys Leu Ala Tyr
 325      330      335
Ser Ala Ala Cys Gly Leu Cys His Leu His Thr Glu Ile Tyr Gly Thr
 340      345      350
Gln Gly Lys Pro Ala Ile Ala His Arg Asp Leu Lys Ser Lys Asn Ile
 355      360      365
Leu Ile Lys Lys Asn Gly Ser Cys Cys Ile Ala Asp Leu Gly Leu Ala
 370      375      380
Val Lys Phe Asn Ser Asp Thr Asn Glu Val Asp Ile Pro Leu Asn Thr
 385      390      395      400
Arg Val Gly Thr Arg Arg Tyr Met Ala Pro Glu Val Leu Asp Glu Ser
 405      410      415
Leu Ser Lys Asn His Phe Gln Pro Tyr Ile Met Ala Asp Ile Tyr Ser
 420      425      430
Phe Gly Leu Ile Ile Trp Glu Met Ala Arg Arg Cys Ile Thr Gly Gly
 435      440      445
Ile Val Glu Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr Tyr Asn Met Val Pro Ser Asp
 450      455      460
Pro Ser Tyr Glu Asp Met Arg Glu Val Val Cys Val Lys Arg Leu Arg
 465      470      475      480
Pro Ile Val Ser Asn Arg Trp Asn Ser Asp Glu Cys Leu Arg Ala Val
 485      490      495
Leu Lys Leu Met Ser Glu Cys Trp Ala His Asn Pro Ala Ser Arg Leu
 500      505      510
Thr Ala Leu Arg Ile Lys Lys Thr Leu Ala Lys Met Val Glu Ser Gln
 515      520      525
Asp Val Lys Ile
 530

```

<210> 77
 <211> 502
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 77

ES 2 586 401 T3

Met	Leu	Leu	Arg	Ser	Ala	Gly	Lys	Leu	Asn	Val	Gly	Thr	Lys	Lys	Glu
1				5				10					15		
Asp	Gly	Glu	Ser	Thr	Ala	Pro	Thr	Pro	Arg	Pro	Lys	Val	Leu	Arg	Cys
			20					25					30		
Lys	Cys	His	His	His	Cys	Pro	Glu	Asp	Ser	Val	Asn	Asn	Ile	Cys	Ser
		35					40				45				
Thr	Asp	Gly	Tyr	Cys	Phe	Thr	Met	Ile	Glu	Glu	Asp	Asp	Ser	Gly	Leu
	50				55					60					
Pro	Val	Val	Thr	Ser	Gly	Cys	Leu	Gly	Leu	Glu	Gly	Ser	Asp	Phe	Gln
65					70				75					80	
Cys	Arg	Asp	Thr	Pro	Ile	Pro	His	Gln	Arg	Arg	Ser	Ile	Glu	Cys	Cys
			85					90					95		
Thr	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Asn	Lys	Asp	Leu	His	Pro	Thr	Leu	Pro	Pro
			100					105					110		
Leu	Lys	Asn	Arg	Asp	Phe	Val	Asp	Gly	Pro	Ile	His	His	Arg	Ala	Leu
		115					120				125				
Leu	Ile	Ser	Val	Thr	Val	Cys	Ser	Leu	Leu	Leu	Val	Leu	Ile	Ile	Leu
	130					135					140				
Phe	Cys	Tyr	Phe	Arg	Tyr	Lys	Arg	Gln	Glu	Thr	Arg	Pro	Arg	Tyr	Ser
145					150				155					160	
Ile	Gly	Leu	Glu	Gln	Asp	Glu	Thr	Tyr	Ile	Pro	Pro	Gly	Glu	Ser	Leu
			165					170					175		
Arg	Asp	Leu	Ile	Glu	Gln	Ser	Gln	Ser	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Leu
		180					185						190		
Pro	Leu	Leu	Val	Gln	Arg	Thr	Ile	Ala	Lys	Gln	Ile	Gln	Met	Val	Lys
	195					200					205				
Gln	Ile	Gly	Lys	Gly	Arg	Tyr	Gly	Glu	Val	Trp	Met	Gly	Lys	Trp	Arg
	210				215						220				
Gly	Glu	Lys	Val	Ala	Val	Lys	Val	Phe	Phe	Thr	Thr	Glu	Glu	Ala	Ser
225				230					235					240	
Trp	Phe	Arg	Glu	Thr	Glu	Ile	Tyr	Gln	Thr	Val	Leu	Met	Arg	His	Glu
		245						250					255		
Asn	Ile	Leu	Gly	Phe	Ile	Ala	Ala	Asp	Ile	Lys	Gly	Thr	Gly	Ser	Trp
		260						265					270		
Thr	Gln	Leu	Tyr	Leu	Ile	Thr	Asp	Tyr	His	Glu	Asn	Gly	Ser	Leu	Tyr
	275					280						285			
Asp	Tyr	Leu	Lys	Ser	Thr	Thr	Leu	Asp	Ala	Lys	Ser	Met	Leu	Lys	Leu
	290				295						300				
Ala	Tyr	Ser	Ser	Val	Ser	Gly	Leu	Cys	His	Leu	His	Thr	Glu	Ile	Phe
305					310					315				320	
Ser	Thr	Gln	Gly	Lys	Pro	Ala	Ile	Ala	His	Arg	Asp	Leu	Lys	Ser	Lys
		325						330					335		
Asn	Ile	Leu	Val	Lys	Lys	Asn	Gly	Thr	Cys	Cys	Ile	Ala	Asp	Leu	Gly
	340						345						350		
Leu	Ala	Val	Lys	Phe	Ile	Ser	Asp	Thr	Asn	Glu	Val	Asp	Ile	Pro	Pro
	355						360					365			
Asn	Thr	Arg	Val	Gly	Thr	Lys	Arg	Tyr	Met	Pro	Pro	Glu	Val	Leu	Asp
	370				375						380				
Glu	Ser	Leu	Asn	Arg	Asn	His	Phe	Gln	Ser	Tyr	Ile	Met	Ala	Asp	Met
	385				390				395					400	
Tyr	Ser	Phe	Gly	Leu	Ile	Leu	Trp	Glu	Val	Ala	Arg	Arg	Cys	Val	Ser
		405						410					415		
Gly	Gly	Ile	Val	Glu	Glu	Tyr	Gln	Leu	Pro	Tyr	His	Asp	Leu	Val	Pro
	420						425						430		
Ser	Asp	Pro	Ser	Tyr	Glu	Asp	Met	Arg	Glu	Ile	Val	Cys	Ile	Lys	Lys
	435					440						445			
Leu	Arg	Pro	Ser	Phe	Pro	Asn	Arg	Trp	Ser	Ser	Asp	Glu	Cys	Leu	Arg
	450				455						460				
Gln	Met	Gly	Lys	Leu	Met	Thr	Glu	Cys	Trp	Ala	His	Asn	Pro	Ala	Ser
	465				470				475					480	
Arg	Leu	Thr	Ala	Leu	Arg	Val	Lys	Lys	Thr	Leu	Ala	Lys	Met	Ser	Glu
		485						490					495		
Ser	Gln	Asp	Ile	Lys	Leu										
		500													

<210> 78
 <211> 502
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 78

ES 2 586 401 T3

Met	Leu	Leu	Arg	Ser	Ala	Gly	Lys	Leu	Asn	Val	Gly	Thr	Lys	Lys	Glu
1				5				10					15		
Asp	Gly	Glu	Ser	Thr	Ala	Pro	Thr	Pro	Arg	Pro	Lys	Val	Leu	Arg	Cys
			20					25					30		
Lys	Cys	His	His	His	Cys	Pro	Glu	Asp	Ser	Val	Asn	Asn	Ile	Cys	Ser
		35					40					45			
Thr	Asp	Gly	Tyr	Cys	Phe	Thr	Met	Ile	Glu	Glu	Asp	Asp	Ser	Gly	Leu
	50				55					60					
Pro	Val	Val	Thr	Ser	Gly	Cys	Leu	Gly	Leu	Glu	Gly	Ser	Asp	Phe	Gln
65					70				75					80	
Cys	Arg	Asp	Thr	Pro	Ile	Pro	His	Gln	Arg	Arg	Ser	Ile	Glu	Cys	Cys
			85					90					95		
Thr	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Asn	Lys	Asp	Leu	His	Pro	Thr	Leu	Pro	Pro
			100					105					110		
Leu	Lys	Asn	Arg	Asp	Phe	Val	Asp	Gly	Pro	Ile	His	His	Arg	Ala	Leu
		115					120					125			
Leu	Ile	Ser	Val	Thr	Val	Cys	Ser	Leu	Leu	Leu	Val	Leu	Ile	Ile	Leu
	130					135					140				
Phe	Cys	Tyr	Phe	Arg	Tyr	Lys	Arg	Gln	Glu	Thr	Arg	Pro	Arg	Tyr	Ser
145					150				155					160	
Ile	Gly	Leu	Glu	Gln	Asp	Glu	Thr	Tyr	Ile	Pro	Pro	Gly	Glu	Ser	Leu
				165				170					175		
Arg	Asp	Leu	Ile	Glu	Gln	Ser	Gln	Ser	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Leu
			180					185					190		
Pro	Leu	Leu	Val	Gln	Arg	Thr	Ile	Ala	Lys	Gln	Ile	Gln	Met	Val	Lys
		195					200					205			
Gln	Ile	Gly	Lys	Gly	Arg	Tyr	Gly	Glu	Val	Trp	Met	Gly	Lys	Trp	Arg
	210					215					220				
Gly	Glu	Lys	Val	Ala	Val	Lys	Val	Phe	Phe	Thr	Thr	Glu	Glu	Ala	Ser
225					230					235				240	
Trp	Phe	Arg	Glu	Thr	Glu	Ile	Tyr	Gln	Thr	Val	Leu	Met	Arg	His	Glu
			245					250					255		
Asn	Ile	Leu	Gly	Phe	Ile	Ala	Ala	Asp	Ile	Lys	Gly	Thr	Gly	Ser	Trp
		260						265					270		
Thr	Gln	Leu	Tyr	Leu	Ile	Thr	Asp	Tyr	His	Glu	Asn	Gly	Ser	Leu	Tyr
		275					280					285			
Asp	Tyr	Leu	Lys	Ser	Thr	Thr	Leu	Asp	Ala	Lys	Ser	Met	Leu	Lys	Leu
	290					295					300				
Ala	Tyr	Ser	Ser	Val	Ser	Gly	Leu	Cys	His	Leu	His	Thr	Glu	Ile	Phe
305					310					315				320	
Ser	Thr	Gln	Gly	Lys	Pro	Ala	Ile	Ala	His	Arg	Asp	Leu	Lys	Ser	Lys
				325						330				335	
Asn	Ile	Leu	Val	Lys	Lys	Asn	Gly	Thr	Cys	Cys	Ile	Ala	Asp	Leu	Gly
		340						345					350		
Leu	Ala	Val	Lys	Phe	Ile	Ser	Asp	Thr	Asn	Glu	Val	Asp	Ile	Pro	Pro
		355					360					365			
Asn	Thr	Arg	Val	Gly	Thr	Lys	Arg	Tyr	Met	Pro	Pro	Glu	Val	Leu	Asp
	370					375						380			
Glu	Ser	Leu	Asn	Arg	Asn	His	Phe	Gln	Ser	Tyr	Ile	Met	Ala	Asp	Met
385					390					395				400	
Tyr	Ser	Phe	Gly	Leu	Ile	Leu	Trp	Glu	Val	Ala	Arg	Arg	Cys	Val	Ser
			405						410					415	
Gly	Gly	Ile	Val	Glu	Glu	Tyr	Gln	Leu	Pro	Tyr	His	Asp	Leu	Val	Pro
			420					425					430		
Ser	Asp	Pro	Ser	Tyr	Glu	Asp	Met	Arg	Glu	Ile	Val	Cys	Ile	Lys	Lys
	435						440					445			
Leu	Arg	Pro	Ser	Phe	Pro	Asn	Arg	Trp	Ser	Ser	Asp	Glu	Cys	Leu	Arg
	450					455					460				
Gln	Met	Gly	Lys	Leu	Met	Thr	Glu	Cys	Trp	Ala	His	Asn	Pro	Ala	Ser
465					470					475				480	
Arg	Leu	Thr	Ala	Leu	Arg	Val	Lys	Lys	Thr	Leu	Ala	Lys	Met	Ser	Glu
				485					490					495	
Ser	Gln	Asp	Ile	Lys	Leu										
				500											

<210> 79
 <211> 532
 <212> PRT
 <213> Rattus sp.

<400> 79

```

Met Thr Gln Leu Tyr Thr Tyr Ile Arg Leu Leu Gly Ala Cys Leu Phe
 1      5      10      15
Ile Ile Ser His Val Gln Gly Gln Asn Leu Asp Ser Met Leu His Gly
 20      25      30
Thr Gly Met Lys Ser Asp Val Asp Gln Lys Lys Pro Glu Asn Gly Val
 35      40      45
Thr Leu Ala Pro Glu Asp Thr Leu Pro Phe Leu Lys Cys Tyr Cys Ser
 50      55      60
Gly His Cys Pro Asp Asp Ala Ile Asn Asn Thr Cys Ile Thr Asn Gly
 65      70      75      80
His Cys Phe Ala Ile Glu Glu Asp Asp Gln Gly Glu Thr Thr Leu
 85      90      95
Thr Ser Gly Cys Met Lys Tyr Glu Gly Ser Asp Phe Gln Cys Lys Asp
100      105      110
Ser Pro Lys Ala Gln Leu Arg Arg Thr Ile Glu Cys Cys Arg Thr Asn
115      120      125
Leu Cys Asn Gln Tyr Leu Gln Pro Thr Leu Pro Pro Val Val Ile Gly
130      135      140
Pro Phe Phe Asp Gly Ser Val Arg Trp Leu Ala Val Leu Ile Ser Met
145      150      155      160
Ala Val Cys Ile Val Ala Met Ile Val Phe Ser Ser Cys Phe Cys Tyr
165      170      175
Lys His Tyr Cys Lys Ser Ile Ser Ser Arg Gly Arg Tyr Asn Arg Asp
180      185      190
Leu Glu Gln Asp Glu Ala Phe Ile Pro Val Gly Glu Ser Leu Lys Asp
195      200      205
Leu Ile Asp Gln Ser Gln Ser Ser Gly Ser Gly Ser Gly Leu Pro Leu
210      215      220
Leu Val Gln Arg Thr Ile Ala Lys Gln Ile Gln Met Val Arg Gln Val
225      230      235      240
Gly Lys Gly Arg Tyr Gly Glu Val Trp Met Gly Lys Trp Arg Gly Glu
245      250      255
Lys Val Ala Val Lys Val Phe Phe Thr Thr Glu Glu Ala Ser Trp Phe
260      265      270
Arg Glu Thr Glu Ile Tyr Gln Thr Val Leu Met Arg His Glu Asn Ile
275      280      285
Leu Gly Phe Ile Ala Ala Asp Ile Lys Gly Thr Gly Ser Trp Thr Gln
290      295      300
Leu Tyr Leu Ile Thr Asp Tyr His Glu Asn Gly Ser Leu Tyr Asp Phe
305      310      315      320
Leu Lys Cys Ala Thr Leu Asp Thr Arg Ala Leu Leu Lys Leu Ala Tyr
325      330      335
Ser Ala Ala Cys Gly Leu Cys His Leu His Thr Glu Ile Tyr Gly Thr
340      345      350
Gln Gly Lys Pro Ala Ile Ala His Arg Asp Leu Lys Ser Lys Asn Ile
355      360      365
Leu Ile Lys Lys Asn Gly Ser Cys Cys Ile Ala Asp Leu Gly Leu Ala
370      375      380
Val Lys Phe Asn Ser Asp Thr Asn Glu Val Asp Ile Pro Leu Asn Thr
385      390      395      400
Arg Val Gly Thr Arg Arg Tyr Met Ala Pro Glu Val Leu Asp Glu Ser
405      410      415
Leu Ser Lys Asn His Phe Gln Pro Tyr Ile Met Ala Asp Ile Tyr Ser
420      425      430
Phe Gly Leu Ile Ile Trp Glu Met Ala Arg Arg Cys Ile Thr Gly Gly
435      440      445
Ile Val Glu Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr Tyr Asn Met Val Pro Ser Asp
450      455      460
Pro Ser Tyr Glu Asp Met Arg Glu Val Val Cys Val Lys Arg Leu Arg
465      470      475      480
Pro Ile Val Ser Asn Arg Trp Asn Ser Asp Glu Cys Leu Arg Ala Val
485      490      495
Leu Lys Leu Met Ser Glu Cys Trp Ala His Asn Pro Ala Ser Arg Leu
500      505      510
Thr Ala Leu Arg Ile Lys Lys Thr Leu Ala Lys Met Val Glu Ser Gln
515      520      525
Asp Val Lys Ile
530

```

<210> 80
 <211> 530
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 80

```

Met Thr Ser Ser Leu Gln Arg Pro Trp Arg Val Pro Trp Leu Pro Trp
1      5      10      15
Thr Ile Leu Leu Val Ser Thr Ala Ala Ser Gln Asn Gln Glu Arg
20      25      30
Leu Cys Ala Phe Lys Asp Pro Tyr Gln Gln Asp Leu Gly Ile Gly Glu
35      40      45
Ser Arg Ile Ser His Glu Asn Gly Thr Ile Leu Cys Ser Lys Gly Ser
50      55      60
Thr Cys Tyr Gly Leu Trp Glu Lys Ser Lys Gly Asp Ile Asn Leu Val
65      70      75      80
Lys Gln Gly Cys Trp Ser His Ile Gly Asp Pro Gln Glu Cys His Tyr
85      90      95
Glu Glu Cys Val Val Thr Thr Thr Pro Pro Ser Ile Gln Asn Gly Thr
100      105      110
Tyr Arg Phe Cys Cys Ser Thr Asp Leu Cys Asn Val Asn Phe Thr
115      120      125
Glu Asn Phe Pro Pro Pro Asp Thr Thr Pro Leu Ser Pro Pro His Ser
130      135      140
Phe Asn Arg Asp Glu Thr Ile Ile Ala Leu Ala Ser Val Ser Val
145      150      155      160
Leu Ala Val Leu Ile Val Ala Leu Cys Phe Gly Tyr Arg Met Leu Thr
165      170      175
Gly Asp Arg Lys Gln Gly Leu His Ser Met Asn Met Met Glu Ala Ala
180      185      190
Ala Ser Glu Pro Ser Leu Asp Leu Asp Asn Leu Lys Leu Leu Glu Leu
195      200      205
Ile Gly Arg Gly Arg Tyr Gly Ala Val Tyr Lys Gly Ser Leu Asp Glu
210      215      220
Arg Pro Val Ala Val Lys Val Phe Ser Phe Ala Asn Arg Gln Asn Phe
225      230      235      240
Ile Asn Glu Lys Asn Ile Tyr Arg Val Pro Leu Met Glu His Asp Asn
245      250      255
Ile Ala Arg Phe Ile Val Gly Asp Glu Arg Val Thr Ala Asp Gly Arg
260      265      270
Met Glu Tyr Leu Leu Val Met Glu Tyr Tyr Pro Asn Gly Ser Leu Cys
275      280      285
Lys Tyr Leu Ser Leu His Thr Ser Asp Trp Val Ser Ser Cys Arg Leu
290      295      300
Ala His Ser Val Thr Arg Gly Leu Ala Tyr Leu His Thr Glu Leu Pro
305      310      315      320
Arg Gly Asp His Tyr Lys Pro Ala Ile Ser His Arg Asp Leu Asn Ser
325      330      335
Arg Asn Val Leu Val Lys Asn Asp Gly Thr Cys Val Ile Ser Asp Phe
340      345      350
Gly Leu Ser Met Arg Leu Thr Gly Asn Arg Leu Val Arg Pro Gly Glu
355      360      365
Glu Asp Asn Ala Ala Ile Ser Glu Val Gly Thr Ile Arg Tyr Met Ala
370      375      380
Pro Glu Val Leu Glu Gly Ala Val Asn Leu Arg Asp Cys Glu Ser Ala
385      390      395      400
Leu Lys Gln Val Asp Met Tyr Ala Leu Gly Leu Ile Tyr Trp Glu Ile
405      410      415
Phe Met Arg Cys Thr Asp Leu Phe Pro Gly Glu Ser Val Pro Glu Tyr
420      425      430
Gln Met Ala Phe Gln Thr Glu Val Gly Asn His Pro Thr Phe Glu Asp
435      440      445
Met Gln Val Leu Val Ser Arg Glu Lys Gln Arg Pro Lys Phe Pro Glu
450      455      460
Ala Trp Lys Glu Asn Ser Leu Ala Val Arg Ser Leu Lys Glu Thr Ile
465      470      475      480
Glu Asp Cys Trp Asp Gln Asp Ala Glu Ala Arg Leu Thr Ala Gln Cys
485      490      495
Ala Glu Glu Arg Met Ala Glu Leu Met Met Ile Trp Glu Arg Asn Lys
500      505      510
Ser Val Ser Pro Thr Val Asn Pro Met Ser Thr Ala Met Gln Asn Glu
515      520      525
Arg Arg
530

```

<210> 81
 <211> 530
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 81

```

Met Thr Ser Ser Leu Gln Arg Pro Trp Arg Val Pro Trp Leu Pro Trp
 1      5      10      15
Thr Ile Leu Leu Val Ser Thr Ala Ala Ser Gln Asn Gln Glu Arg
      20      25      30
Leu Cys Ala Phe Lys Asp Pro Tyr Gln Gln Asp Leu Gly Ile Gly Glu
      35      40      45
Ser Arg Ile Ser His Glu Asn Gly Thr Ile Leu Cys Ser Lys Gly Ser
      50      55      60
Thr Cys Tyr Gly Leu Trp Glu Lys Ser Lys Gly Asp Ile Asn Leu Val
      65      70      75      80
Lys Gln Gly Cys Trp Ser His Ile Gly Asp Pro Gln Glu Cys His Tyr
      85      90      95
Glu Glu Cys Val Val Thr Thr Thr Pro Pro Ser Ile Gln Asn Gly Thr
      100      105      110
Tyr Arg Phe Cys Cys Cys Ser Thr Asp Leu Cys Asn Val Asn Phe Thr
      115      120      125
Glu Asn Phe Pro Pro Pro Asp Thr Thr Pro Leu Ser Pro Pro His Ser
      130      135      140
Phe Asn Arg Asp Glu Thr Ile Ile Ile Ala Leu Ala Ser Val Ser Val
      145      150      155      160
Leu Ala Val Leu Ile Val Ala Leu Cys Phe Gly Tyr Arg Met Leu Thr
      165      170      175
Gly Asp Arg Lys Gln Gly Leu His Ser Met Asn Met Met Glu Ala Ala
      180      185      190
Ala Ser Glu Pro Ser Leu Asp Leu Asp Asn Leu Lys Leu Glu Leu
      195      200      205
Ile Gly Arg Gly Arg Tyr Gly Ala Val Tyr Lys Gly Ser Leu Asp Glu
      210      215      220
Arg Pro Val Ala Val Lys Val Phe Ser Phe Ala Asn Arg Gln Asn Phe
      225      230      235      240
Ile Asn Glu Lys Asn Ile Tyr Arg Val Pro Leu Met Glu His Asp Asn
      245      250      255
Ile Ala Arg Phe Ile Val Gly Asp Glu Arg Val Thr Ala Asp Gly Arg
      260      265      270
Met Glu Tyr Leu Leu Val Met Glu Tyr Tyr Pro Asn Gly Ser Leu Cys
      275      280      285
Lys Tyr Leu Ser Leu His Thr Ser Asp Trp Val Ser Ser Cys Arg Leu
      290      295      300
Ala His Ser Val Thr Arg Gly Leu Ala Tyr Leu His Thr Glu Leu Pro
      305      310      315      320
Arg Gly Asp His Tyr Lys Pro Ala Ile Ser His Arg Asp Leu Asn Ser
      325      330      335
Arg Asn Val Leu Val Lys Asn Asp Gly Thr Cys Val Ile Ser Asp Phe
      340      345      350
Gly Leu Ser Met Arg Leu Thr Gly Asn Arg Leu Val Arg Pro Gly Glu
      355      360      365
Glu Asn Asn Ala Ala Ile Ser Glu Val Gly Thr Ile Arg Tyr Met Ala
      370      375      380
Pro Glu Val Leu Glu Gly Ala Val Asn Leu Arg Asp Cys Glu Ser Ala
      385      390      395      400
Leu Lys Gln Val Asp Met Tyr Ala Leu Gly Leu Ile Tyr Trp Glu Ile
      405      410      415
Phe Met Arg Cys Thr Asp Leu Phe Pro Gly Glu Ser Val Pro Glu Tyr
      420      425      430
Gln Met Ala Phe Gln Thr Glu Val Gly Asn His Pro Thr Phe Glu Asp
      435      440      445
Met Gln Val Leu Val Ser Arg Glu Lys Gln Arg Pro Lys Phe Pro Glu
      450      455      460
Ala Trp Lys Glu Asn Ser Leu Ala Val Arg Ser Leu Lys Glu Thr Ile
      465      470      475      480
Glu Asp Cys Trp Asp Gln Asp Ala Glu Ala Arg Leu Thr Ala Gln Cys
      485      490      495
Ala Glu Glu Arg Met Ala Glu Leu Met Met Ile Trp Glu Arg Asn Lys
      500      505      510
Ser Val Ser Pro Thr Val Asn Pro Met Ser Thr Ala Met Gln Asn Glu
      515      520      525
Arg Arg
      530

```

<210> 82
 <211> 1038
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 82

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

Ile	Ala	Arg	Phe	Ile	Val	Gly	Asp	Glu	Arg	Val	Thr	Ala	Asp	Gly	Arg
			260					265					270		
Met	Glu	Tyr	Leu	Leu	Val	Met	Glu	Tyr	Tyr	Pro	Asn	Gly	Ser	Leu	Cys
		275					280					285			
Lys	Tyr	Leu	Ser	Leu	His	Thr	Ser	Asp	Trp	Val	Ser	Ser	Cys	Arg	Leu
	290					295					300				
Ala	His	Ser	Val	Thr	Arg	Gly	Leu	Ala	Tyr	Leu	His	Thr	Glu	Leu	Pro
	305				310				315					320	
Arg	Gly	Asp	His	Tyr	Lys	Pro	Ala	Ile	Ser	His	Arg	Asp	Leu	Asn	Ser
			325					330					335		
Arg	Asn	Val	Leu	Val	Lys	Asn	Asp	Gly	Thr	Cys	Val	Ile	Ser	Asp	Phe
			340					345					350		
Gly	Leu	Ser	Met	Arg	Leu	Thr	Gly	Asn	Arg	Leu	Val	Arg	Pro	Gly	Glu
		355					360					365			
Glu	Asp	Asn	Ala	Ala	Ile	Ser	Glu	Val	Gly	Thr	Ile	Arg	Tyr	Met	Ala
	370					375					380				
Pro	Glu	Val	Leu	Glu	Gly	Ala	Val	Asn	Leu	Arg	Asp	Cys	Glu	Ser	Ala
	385				390				395					400	
Leu	Lys	Gln	Val	Asp	Met	Tyr	Ala	Leu	Gly	Leu	Ile	Tyr	Trp	Glu	Ile
			405						410					415	
Phe	Met	Arg	Cys	Thr	Asp	Leu	Phe	Pro	Gly	Glu	Ser	Val	Pro	Glu	Tyr
			420					425					430		
Gln	Met	Ala	Phe	Gln	Thr	Glu	Val	Gly	Asn	His	Pro	Thr	Phe	Glu	Asp
		435					440					445			
Met	Gln	Val	Leu	Val	Ser	Arg	Glu	Lys	Gln	Arg	Pro	Lys	Phe	Pro	Glu
	450					455					460				
Ala	Trp	Lys	Glu	Asn	Ser	Leu	Ala	Val	Arg	Ser	Leu	Lys	Glu	Thr	Ile
	465					470			475					480	
Glu	Asp	Cys	Trp	Asp	Gln	Asp	Ala	Glu	Ala	Arg	Leu	Thr	Ala	Gln	Cys
				485				490						495	
Ala	Glu	Glu	Arg	Met	Ala	Glu	Leu	Met	Met	Ile	Trp	Glu	Arg	Asn	Lys
			500					505					510		
Ser	Val	Ser	Pro	Thr	Val	Asn	Pro	Met	Ser	Thr	Ala	Met	Gln	Asn	Glu
		515				520					525				
Arg	Asn	Leu	Ser	His	Asn	Arg	Arg	Val	Pro	Lys	Ile	Gly	Pro	Tyr	Pro
	530					535					540				
Asp	Tyr	Ser	Ser	Ser	Ser	Tyr	Ile	Glu	Asp	Ser	Ile	His	His	Thr	Asp
	545				550				555					560	
Ser	Ile	Val	Lys	Asn	Ile	Ser	Ser	Glu	His	Ser	Met	Ser	Ser	Thr	Pro
			565					570						575	
Leu	Thr	Ile	Gly	Glu	Lys	Asn	Arg	Asn	Ser	Ile	Asn	Tyr	Glu	Arg	Gln
		580						585					590		
Gln	Ala	Gln	Ala	Arg	Ile	Pro	Ser	Pro	Glu	Thr	Ser	Val	Thr	Ser	Leu
		595				600						605			
Ser	Thr	Asn	Thr	Thr	Thr	Thr	Asn	Thr	Thr	Gly	Leu	Thr	Pro	Ser	Thr
	610					615					620				
Gly	Met	Thr	Thr	Ile	Ser	Glu	Met	Pro	Tyr	Pro	Asp	Glu	Thr	Asn	Leu
	625				630				635					640	
His	Thr	Thr	Asn	Val	Ala	Gln	Ser	Ile	Gly	Pro	Thr	Pro	Val	Cys	Leu
			645					650					655		
Gln	Leu	Thr	Glu	Glu	Asp	Leu	Glu	Thr	Asn	Lys	Leu	Asp	Pro	Lys	Glu
			660					665					670		
Val	Asp	Lys	Asn	Leu	Lys	Glu	Ser	Ser	Asp	Glu	Asn	Leu	Met	Glu	His
		675				680						685			
Ser	Leu	Lys	Gln	Phe	Ser	Gly	Pro	Asp	Pro	Leu	Ser	Ser	Thr	Ser	Ser
	690					695						700			
Ser	Leu	Leu	Tyr	Pro	Leu	Ile	Lys	Leu	Ala	Val	Glu	Ala	Thr	Gly	Gln
	705				710					715				720	

Gln Asp Phe Thr Gln Thr Ala Asn Gly Gln Ala Cys Leu Ile Pro Asp
 725 730 735
 Val Leu Pro Thr Gln Ile Tyr Pro Leu Pro Lys Gln Gln Asn Leu Pro
 740 745 750
 Lys Arg Pro Thr Ser Leu Pro Leu Asn Thr Lys Asn Ser Thr Lys Glu
 755 760 765
 Pro Arg Leu Lys Phe Gly Ser Lys His Lys Ser Asn Leu Lys Gln Val
 770 775 780
 Glu Thr Gly Val Ala Lys Met Asn Thr Ile Asn Ala Ala Glu Pro His
 785 790 795 800
 Val Val Thr Val Thr Met Asn Gly Val Ala Gly Arg Asn His Ser Val
 805 810 815
 Asn Ser His Ala Ala Thr Thr Gln Tyr Ala Asn Gly Thr Val Leu Ser
 820 825 830
 Gly Gln Thr Thr Asn Ile Val Thr His Arg Ala Gln Glu Met Leu Gln
 835 840 845
 Asn Gln Phe Ile Gly Glu Asp Thr Arg Leu Asn Ile Asn Ser Ser Pro
 850 855 860
 Asp Glu His Glu Pro Leu Leu Arg Arg Glu Gln Gln Ala Gly His Asp
 865 870 875 880
 Glu Gly Val Leu Asp Arg Leu Val Asp Arg Arg Glu Arg Pro Leu Glu
 885 890 895
 Gly Gly Arg Thr Asn Ser Asn Asn Asn Ser Asn Pro Cys Ser Glu
 900 905 910
 Gln Asp Val Leu Ala Gln Gly Val Pro Ser Thr Ala Ala Asp Pro Gly
 915 920 925
 Pro Ser Lys Pro Arg Arg Ala Gln Arg Pro Asn Ser Leu Asp Leu Ser
 930 935 940
 Ala Thr Asn Val Leu Asp Gly Ser Ser Ile Gln Ile Gly Glu Ser Thr
 945 950 955 960
 Gln Asp Gly Lys Ser Gly Ser Gly Glu Lys Ile Lys Lys Arg Val Lys
 965 970 975
 Thr Pro Tyr Ser Leu Lys Arg Trp Arg Pro Ser Thr Trp Val Ile Ser
 980 985 990
 Thr Glu Ser Leu Asp Cys Glu Val Asn Asn Asn Gly Ser Asn Arg Ala
 995 1000 1005
 Val His Ser Lys Ser Ser Thr Ala Val Tyr Leu Ala Glu Gly Gly Thr
 1010 1015 1020
 Ala Thr Thr Met Val Ser Lys Asp Ile Gly Met Asn Cys Leu
 1025 1030 1035

<210> 83
 <211> 1038
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 83

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

Lys	Gln	Gly	Cys	Trp	Ser	His	Ile	Gly	Asp	Pro	Gln	Glu	Cys	His	Tyr	
				85					90					95		
Glu	Glu	Cys	Val	Val	Thr	Thr	Thr	Pro	Pro	Ser	Ile	Gln	Asn	Gly	Thr	
				100					105					110		
Tyr	Arg	Phe	Cys	Cys	Cys	Ser	Thr	Asp	Leu	Cys	Asn	Val	Asn	Phe	Thr	
		115						120					125			
Glu	Asn	Phe	Pro	Pro	Pro	Asp	Thr	Thr	Pro	Leu	Ser	Pro	Pro	His	Ser	
		130						135				140				
Phe	Asn	Arg	Asp	Glu	Thr	Ile	Ile	Ile	Ala	Leu	Ala	Ser	Val	Ser	Val	
				145					150						160	
Leu	Ala	Val	Leu	Ile	Val	Ala	Leu	Cys	Phe	Gly	Tyr	Arg	Met	Leu	Thr	
				165					170						175	
Gly	Asp	Arg	Lys	Gln	Gly	Leu	His	Ser	Met	Asn	Met	Met	Glu	Ala	Ala	
				180					185					190		
Ala	Ser	Glu	Pro	Ser	Leu	Asp	Leu	Asp	Asn	Leu	Lys	Leu	Leu	Glu	Leu	
		195						200					205			
Ile	Gly	Arg	Gly	Arg	Tyr	Gly	Ala	Val	Tyr	Lys	Gly	Ser	Leu	Asp	Glu	
		210						215				220				
Arg	Pro	Val	Ala	Val	Lys	Val	Phe	Ser	Phe	Ala	Asn	Arg	Gln	Asn	Phe	
				225						235					240	
Ile	Asn	Glu	Lys	Asn	Ile	Tyr	Arg	Val	Pro	Leu	Met	Glu	His	Asp	Asn	
				245					250					255		
Ile	Ala	Arg	Phe	Ile	Val	Gly	Asp	Glu	Arg	Val	Thr	Ala	Asp	Gly	Arg	
				260					265					270		
Met	Glu	Tyr	Leu	Leu	Val	Met	Glu	Tyr	Tyr	Pro	Asn	Gly	Ser	Leu	Cys	
		275						280					285			
Lys	Tyr	Leu	Ser	Leu	His	Thr	Ser	Asp	Trp	Val	Ser	Ser	Cys	Arg	Leu	
		290						295				300				
Ala	His	Ser	Val	Thr	Arg	Gly	Leu	Ala	Tyr	Leu	His	Thr	Glu	Leu	Pro	
				305							315				320	
Arg	Gly	Asp	His	Tyr	Lys	Pro	Ala	Ile	Ser	His	Arg	Asp	Leu	Asn	Ser	
				325						330				335		
Arg	Asn	Val	Leu	Val	Lys	Asn	Asp	Gly	Thr	Cys	Val	Ile	Ser	Asp	Phe	
				340					345					350		
Gly	Leu	Ser	Met	Arg	Leu	Thr	Gly	Asn	Arg	Leu	Val	Arg	Pro	Gly	Glu	
		355						360					365			
Glu	Asp	Asn	Ala	Ala	Ile	Ser	Glu	Val	Gly	Thr	Ile	Arg	Tyr	Met	Ala	
				370				375				380				
Pro	Glu	Val	Leu	Glu	Gly	Ala	Val	Asn	Leu	Arg	Asp	Cys	Glu	Ser	Ala	
				385					395						400	
Leu	Lys	Gln	Val	Asp	Met	Tyr	Ala	Leu	Gly	Leu	Ile	Tyr	Trp	Glu	Ile	
				405					410						415	
Phe	Met	Arg	Cys	Thr	Asp	Leu	Phe	Pro	Gly	Glu	Ser	Val	Pro	Glu	Tyr	
				420					425					430		
Gln	Met	Ala	Phe	Gln	Thr	Glu	Val	Gly	Asn	His	Pro	Thr	Phe	Glu	Asp	
				435					440				445			
Met	Gln	Val	Leu	Val	Ser	Arg	Glu	Lys	Gln	Arg	Pro	Lys	Phe	Pro	Glu	
				450					455				460			
Ala	Trp	Lys	Glu	Asn	Ser	Leu	Ala	Val	Arg	Ser	Leu	Lys	Glu	Thr	Ile	
				465					475						480	
Glu	Asp	Cys	Trp	Asp	Gln	Asp	Ala	Glu	Ala	Arg	Leu	Thr	Ala	Gln	Cys	
				485					490						495	
Ala	Glu	Glu	Arg	Met	Ala	Glu	Leu	Met	Met	Ile	Trp	Glu	Arg	Asn	Lys	
				500					505					510		
Ser	Val	Ser	Pro	Thr	Val	Asn	Pro	Met	Ser	Thr	Ala	Met	Gln	Asn	Glu	
				515					520					525		
Arg	Asn	Leu	Ser	His	Asn	Arg	Arg	Val	Pro	Lys	Ile	Gly	Pro	Tyr	Pro	
				530			535					540				

ES 2 586 401 T3

```

Asp Tyr Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Glu Asp Ser Ile His His Thr Asp
545                                     550                                     555                                     560
Ser Ile Val Lys Asn Ile Ser Ser Glu His Ser Met Ser Ser Thr Pro
                                     565                                     570                                     575
Leu Thr Ile Gly Glu Lys Asn Arg Asn Ser Ile Asn Tyr Glu Arg Gln
                                     580                                     585                                     590
Gln Ala Gln Ala Arg Ile Pro Ser Pro Glu Thr Ser Val Thr Ser Leu
                                     595                                     600                                     605
Ser Thr Asn Thr Thr Thr Thr Thr Asn Thr Thr Gly Leu Thr Pro Ser Thr
610                                     615                                     620
Gly Met Thr Thr Ile Ser Glu Met Pro Tyr Pro Asp Glu Thr Asn Leu
625                                     630                                     635
His Thr Thr Asn Val Ala Gln Ser Ile Gly Pro Thr Pro Val Cys Leu
                                     645                                     650                                     655
Gln Leu Thr Glu Glu Asp Leu Glu Thr Asn Lys Leu Asp Pro Lys Glu
660                                     665                                     670
Val Asp Lys Asn Leu Lys Glu Ser Ser Asp Glu Asn Leu Met Glu His
675                                     680                                     685
Ser Leu Lys Gln Phe Ser Gly Pro Asp Pro Leu Ser Ser Thr Ser Ser
690                                     695                                     700
Ser Leu Leu Tyr Pro Leu Ile Lys Leu Ala Val Glu Ala Thr Gly Gln
705                                     710                                     715                                     720
Gln Asp Phe Thr Gln Thr Ala Asn Gly Gln Ala Cys Leu Ile Pro Asp
725                                     730                                     735
Val Leu Pro Thr Gln Ile Tyr Pro Leu Pro Lys Gln Gln Asn Leu Pro
740                                     745                                     750
Lys Arg Pro Thr Ser Leu Pro Leu Asn Thr Lys Asn Ser Thr Lys Glu
755                                     760                                     765
Pro Arg Leu Lys Phe Gly Ser Lys His Lys Ser Asn Leu Lys Gln Val
770                                     775                                     780
Glu Thr Gly Val Ala Lys Met Asn Thr Ile Asn Ala Ala Glu Pro His
785                                     790                                     795                                     800
Val Val Thr Val Thr Met Asn Gly Val Ala Gly Arg Asn His Ser Val
805                                     810                                     815
Asn Ser His Ala Ala Thr Thr Gln Tyr Ala Asn Arg Thr Val Leu Ser
820                                     825                                     830
Gly Gln Thr Thr Asn Ile Val Thr His Arg Ala Gln Glu Met Leu Gln
835                                     840                                     845
Asn Gln Phe Ile Gly Glu Asp Thr Arg Leu Asn Ile Asn Ser Ser Pro
850                                     855                                     860
Asp Glu His Glu Pro Leu Leu Arg Arg Glu Gln Ala Gly His Asp
865                                     870                                     875
Glu Gly Val Leu Asp Arg Leu Val Asp Arg Arg Glu Arg Pro Leu Glu
885                                     890                                     895
Gly Gly Arg Thr Asn Ser Asn Asn Asn Asn Ser Asn Pro Cys Ser Glu
900                                     905                                     910
Gln Asp Val Leu Ala Gln Gly Val Pro Ser Thr Ala Ala Asp Pro Gly
915                                     920                                     925
Pro Ser Lys Pro Arg Arg Ala Gln Arg Pro Asn Ser Leu Asp Leu Ser
930                                     935                                     940
Ala Thr Asn Val Leu Asp Gly Ser Ser Ile Gln Ile Gly Glu Ser Thr
945                                     950                                     955
Gln Asp Gly Lys Ser Gly Ser Gly Glu Lys Ile Lys Lys Arg Val Lys
965                                     970                                     975
Thr Pro Tyr Ser Leu Lys Arg Trp Arg Pro Ser Thr Trp Val Ile Ser
980                                     985                                     990
Thr Glu Ser Leu Asp Cys Glu Val Asn Asn Asn Gly Ser Asn Arg Ala
995                                     1000                                     1005
Val His Ser Lys Ser Ser Thr Ala Val Tyr Leu Ala Glu Gly Gly Thr
1010                                     1015                                     1020
Ala Thr Thr Met Val Ser Lys Asp Ile Gly Met Asn Cys Leu
1025                                     1030                                     1035

```

<210> 84
 <211> 1038
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 84

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

Glu	Asp	Asn	Ala	Ala	Ile	Ser	Glu	Val	Gly	Thr	Ile	Arg	Tyr	Met	Ala
370						375					380				
Pro	Glu	Val	Leu	Glu	Gly	Ala	Val	Asn	Leu	Arg	Asp	Cys	Glu	Ser	Ala
385					390					395					400
Leu	Lys	Gln	Val	Asp	Met	Tyr	Ala	Leu	Gly	Leu	Ile	Tyr	Trp	Glu	Ile
				405					410					415	
Phe	Met	Arg	Cys	Thr	Asp	Leu	Phe	Pro	Gly	Glu	Ser	Val	Pro	Glu	Tyr
			420					425					430		
Gln	Met	Ala	Phe	Gln	Thr	Glu	Val	Gly	Asn	His	Pro	Thr	Phe	Glu	Asp
		435				440					445				
Met	Gln	Val	Leu	Val	Ser	Arg	Glu	Lys	Gln	Arg	Pro	Lys	Phe	Pro	Glu
	450				455						460				
Ala	Trp	Lys	Glu	Asn	Ser	Leu	Ala	Val	Arg	Ser	Leu	Lys	Glu	Thr	Ile
465					470					475					480
Glu	Asp	Cys	Trp	Asp	Gln	Asp	Ala	Glu	Ala	Arg	Leu	Thr	Ala	Gln	Cys
				485					490					495	
Ala	Glu	Glu	Arg	Met	Ala	Glu	Leu	Met	Met	Ile	Trp	Glu	Arg	Asn	Lys
			500					505					510		
Ser	Val	Ser	Pro	Thr	Val	Asn	Pro	Met	Ser	Thr	Ala	Met	Gln	Asn	Glu
		515				520						525			
Arg	Asn	Leu	Ser	His	Asn	Arg	Arg	Val	Pro	Lys	Ile	Gly	Pro	Tyr	Pro
	530				535						540				
Asp	Tyr	Ser	Ser	Ser	Ser	Tyr	Ile	Glu	Asp	Ser	Ile	His	His	Thr	Asp
545					550					555					560
Ser	Ile	Val	Lys	Asn	Ile	Ser	Ser	Glu	His	Ser	Met	Ser	Ser	Thr	Pro
				565					570					575	
Leu	Thr	Ile	Gly	Glu	Lys	Asn	Arg	Asn	Ser	Ile	Asn	Tyr	Glu	Arg	Gln
			580					585					590		
Gln	Ala	Gln	Ala	Arg	Ile	Pro	Ser	Pro	Glu	Thr	Ser	Val	Thr	Ser	Leu
		595					600					605			
Ser	Thr	Asn	Thr	Thr	Thr	Thr	Asn	Thr	Thr	Gly	Leu	Thr	Pro	Ser	Thr
	610					615					620				
Gly	Met	Thr	Thr	Ile	Ser	Glu	Met	Pro	Tyr	Pro	Asp	Glu	Thr	Asn	Leu
625					630					635					640
His	Thr	Thr	Asn	Val	Ala	Gln	Ser	Ile	Gly	Pro	Thr	Pro	Val	Cys	Leu
				645					650					655	
Gln	Leu	Thr	Glu	Glu	Asp	Leu	Glu	Thr	Asn	Lys	Leu	Asp	Pro	Lys	Glu
			660					665					670		
Val	Asp	Lys	Asn	Leu	Lys	Glu	Ser	Ser	Asp	Glu	Asn	Leu	Met	Glu	His
		675					680					685			
Ser	Leu	Lys	Gln	Phe	Ser	Gly	Pro	Asp	Pro	Leu	Ser	Ser	Thr	Ser	Ser
	690				695						700				
Ser	Leu	Leu	Tyr	Pro	Leu	Ile	Lys	Leu	Ala	Val	Glu	Ala	Thr	Gly	Gln
705					710					715					720
Gln	Asp	Phe	Thr	Gln	Thr	Ala	Asn	Gly	Gln	Ala	Cys	Leu	Ile	Pro	Asp
				725					730					735	
Val	Leu	Pro	Thr	Gln	Ile	Tyr	Pro	Leu	Pro	Lys	Gln	Gln	Asn	Leu	Pro
		740						745					750		
Lys	Arg	Pro	Thr	Ser	Leu	Pro	Leu	Asn	Thr	Lys	Asn	Ser	Thr	Lys	Glu
		755					760					765			
Pro	Arg	Leu	Lys	Phe	Gly	Ser	Lys	His	Lys	Ser	Asn	Leu	Lys	Gln	Val
	770				775						780				
Glu	Thr	Gly	Val	Ala	Lys	Met	Asn	Thr	Ile	Asn	Ala	Ala	Glu	Pro	His
785					790					795					800
Val	Val	Thr	Val	Thr	Met	Asn	Gly	Val	Ala	Gly	Arg	Asn	His	Ser	Val
				805					810					815	
Asn	Ser	His	Ala	Ala	Thr	Thr	Gln	Tyr	Ala	Asn	Arg	Thr	Val	Leu	Ser
			820					825					830		
Gly	Gln	Thr	Thr	Asn	Ile	Val	Thr	His	Arg	Ala	Gln	Glu	Met	Leu	Gln
			835				840					845			
Asn	Gln	Phe	Ile	Gly	Glu	Asp	Thr	Arg	Leu	Asn	Ile	Asn	Ser	Ser	Pro
	850				855						860				
Asp	Glu	His	Glu	Pro	Leu	Leu	Arg	Arg	Glu	Gln	Gln	Ala	Gly	His	Asp
865					870					875					880
Glu	Gly	Val	Leu	Asp	Arg	Leu	Val	Asp	Arg	Arg	Glu	Arg	Pro	Leu	Glu
				885				890						895	
Gly	Gly	Arg	Thr	Asn	Ser	Asn	Asn	Asn	Ser	Asn	Pro	Cys	Ser	Glu	
			900					905					910		
Gln	Asp	Val	Leu	Ala	Gln	Gly	Val	Pro	Ser	Thr	Ala	Ala	Asp	Pro	Gly
		915					920					925			
Pro	Ser	Lys	Pro	Arg	Arg	Ala	Gln	Arg	Pro	Asn	Ser	Leu	Asp	Leu	Ser
					935						940				
Ala	Thr	Asn	Val	Leu	Asp	Gly	Ser	Ser	Ile	Gln	Ile	Gly	Glu	Ser	Thr
945					950					955					960
Gln	Asp	Gly	Lys	Ser	Gly	Ser	Gly	Glu	Lys	Ile	Lys	Lys	Arg	Val	Lys
				965					970					975	
Thr	Pro	Tyr	Ser	Leu	Lys	Arg	Trp	Arg	Pro	Ser	Thr	Trp	Val	Ile	Ser
			980					985					990		
Thr	Glu	Ser	Leu	Asp	Cys	Glu	Val	Asn	Asn	Gly	Ser	Asn	Arg	Ala	
			995				1000					1005			
Val	His	Ser	Lys	Ser	Ser	Thr	Ala	Val	Tyr	Leu	Ala	Glu	Gly	Gly	Thr
	1010					1015					1020				
Ala	Thr	Thr	Met	Val	Ser	Lys	Asp	Ile	Gly	Met	Asn	Cys	Leu		
1025						1030					1035				

<210> 85
<211> 2932
<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 85

```

gctccgcgcc gagggctgga ggatgcgttc cctgggggtcc ggacttatga aaatatgcac 60
cagtttaata ctgtcttgga attcatgaga tggaaagcata ggtcaaagct gtttggagaa 120
aatcagaagt acagttttat cttagccacat ctggaggagag tcgtaagaaa gcagtgaggag 180
ttgaagtcac tgtcaagtgc ttgcgatctt ttacaagaaa atctcactga atgatagtca 240
tttaaatggg tgaagtagca agaccaatta ttaaagggtga cagtacacag gaaacattac 300
aattgaacaa tgactcagct atacatttac atcagattat tgggagccta ttgtttcatc 360
atcttctcgtg ttcaaggaca gaatctggat agtatgcttc atggcactgg gatgaaatca 420
gactccgacc agaaaaagtc agaaaaatgga gtaaccttag caccagagga taccttgctc 480
tttttaaaagt gctattgctc agggcactgt ccagatgatg ctattaataa cacatgcata 540
actaatggac attgctttgc catcatagaa gaagatgacc agggagaaaac cacattagct 600
tcaggggtga tgaatatga aggatctgat ttccagtcca aagattctcc aaaagcccag 660
ctacgcccga caatagaatg ttgtcggacc aatttatgta accagtatct gcaaccacac 720
ctgccccctg ttgtcatagg tccgtttttt gatggcagca ttcgatggct ggttttgcct 780
atcttctatg ctgtctgcat aattgctatg atcatcttct ccagctgctt ttgttacaaa 840
cattattgca agagcatctc aagcagacgt cgttacaaac gtgatttggg acaggatgaa 900
gcattttatc cagtttgaga atcactaaaa gaccttattg accagtcaac aagttctggt 960
agtgggtctg gactaccttt attgggttcag cgaactattg ccaaacagat tcagatggct 1020
cggcaagtgg gttaaaggccg atatggagaa gtatggatgg gcaaatggcg tggcgaaaaa 1080
gtggcgggtga aagtattctt taccactgaa gaagccagct ggttttcgaga aacagaaatc 1140
taccaaaactg tgctaattgcg ccatgaaaac atacttgggt tcatagcggc agacattaaa 1200
ggtaacgggt cctggactca gctctatttg attactgatt accatgaaaa tggatctctc 1260
tatgactctc tgaattgtgc tacactggac accagagccc tgcttaaaat ggcttattca 1320
gctgcctgtg gtctgtgcca cctgcacaca gaaatttatg gcacccaagg aaagcccgcg 1380
attgctcatc gagacctaaa gagcaaaaaa atcctcatca agaaaaatgg gagttgctgc 1440
attgctgacc tgggccttgc tgttaaaatt aacagtgaac caaatgaagt tgatgtgccc 1500
ttgaatacca gggtgggcac caaacgctac atggctcccg aagtgtctgga cgaaagcctg 1560
aacaaaaacc acttccagcc ctacatcatg gctgacatct acagcttcgg cctaatacat 1620
tgggagatgg ctgctgctg tatcacagga gggatcgtgg aagaatacca attgccatat 1680
tacaacatgg taccgagtga tccgtcatac gaagatatgc gtgagggtgt gtgtgtcaaa 1740
cgtttgcggc caattgtgtc taatcggtgg aacagtgatg aatgtctacg agcagttttg 1800
aagctaattg cagaatgctg ggcccacaat ccagcctcca gactcacagc attgagaatt 1860
aagaagacgc ttgccaagat ggttgaatcc caagatgtaa aaatctgatg gttaaaccat 1920
cggaggagaa actctagact gcaagaactg tttttaccca tggcatgggt ggaattagag 1980
tgaataaagg atgttaactt ggttctcaga ctctttcttc actacgtgtt cacaggctgc 2040
taataattaaa ctttccagta ctcttattag gatacaagct gggaaacttct aaacacttca 2100
ttctttatat atggacagct ttatttttaa tgtggttttt gatgcctttt ttaagtggg 2160
tttttatgaa ctgcatcaag acttcaatcc tgattagtgt ctccagtcac gctctgggta 2220
ctgaattgcc tgttcataaa acggtgcttt ctgtgaaagc ctaagaaga taaatgagcg 2280
cagcagagat ggagaaatag actttgcctt ttacctgaga cattcagttc gtttgtattc 2340
tacctttgta aaacagccta tagatgatga tgtgtttggg atactgctta ttttatgata 2400
gtttgtcctg tgtccttagt gatgtgtgtg tgtctccatg cacatgcacg ccgggattcc 2460
tctgctgcca ttgaattag aagaaaaata tttatatgca tgcacaggaa gatattggtg 2520
gccggtgggt ttgtgcttta aaaatgcaat atctgaccaa gattcgccaa tctcatacaa 2580
gccatttact ttgcaagtga gatagcttcc ccaccagctt tattttttaa catgaaagct 2640
gatgccaggg ccaaaaagaag tttaaagcat ctgtaaaatt ggactgtttt cettcaacca 2700
ccattttttt tgtggttatt atttttgtca cggaaaagcat cctctccaaa gttggagctt 2760
ctattgccat gaaccatgct taaaaagaaa gcacttctta ttgaagtga ttcctgcatt 2820
tgatagcaat gtaagtgcct ataaccatgt tctatatctt ttattctcag taacttttaa 2880
aaggggaagt atttatattt tgtgtataat gtgctttatt tgcaaatcac cc 2932

```

<210> 86

<211> 1575

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 86

ES 2 586 401 T3

```

gcaaacbtcc ttgataaacat gcttttgcga agtgcaggaa aattaaatgt gggcaccaag 60
aaagaggatg gtgagagtac agcccccacc ccccgcccaa aggtcttgcg ttgtaaatgc 120
caccaccatt gtccagaaga ctccagtcac aatatttgca gcacagacgg atattgtttc 180
acgatgatag aagaggatga ctctgggttg cctgtgggtc cttctgggtg cctaggacta 240
gaaggctcag attttcagtg tcggggacact cccattccctc atcaaaagaag atcaattgaa 300
tgctgcacag aaaggaacga atgtaataaa gacctacacc ctacactgcc tccattgaaa 360
aacagagatt ttgttgatgg acctatacac cacagggtct tacttatatc tgtgactgtc 420
tgtagtgttc tcttgggtcct tatcatatta ttttgttact tccggtataa aagacaagaa 480
accagacctc gatcacagcat tgggttagaa caggatgaaa cttacattcc tcctggagaa 540
tccctgagag acttaattga gcagtctcag agctcaggaa gtggatcagg cctccctctg 600
ctgggtccaaa ggactatagc taagcagatt cagatgggtg aacagattgg aaaaggtcgc 660
tatggggaa gtttggatgg aaagtggcgt ggcgaaaagg tagctgtgaa agtgttcttc 720
accacagagg aagccagctg gttcagagag acagaaatat atcagacagt gttgatgagg 780
catgaaaaca ttttgggttt catttgctgca gatataaagg ggacagggtc ctggaccgac 840
ttgtacctaa tcacagacta tcatgaaaat ggttcccttt atgattatct gaagtccacc 900
accctagacg ctaaatcaat gctgaagtta gcctactctt ctgtcagtgg cttatgtcat 960
ttacacacag aatctcttag tactcaaggc aaaccagcaa ttgcccacg agatctgaaa 1020
agtaaaaaa tttctgggtgaa gaaaaatgga acttgctgta ttgctgacct gggcctggct 1080
gttaaaattt ttagtgatagc aaatgaagtt gacataccac ctaaacactcg agtgggacc 1140
aaacgctata tgctccaga agtggtggac gagagcttga acagaaatca cttccagttc 1200
tacatcatgg ctgacatgta tagttttggc ctcatccttt gggaggttgc taggagatgt 1260
gtatcaggag gtatagtggg agaataccag ctctcttacc atgacctagt gcccgtagc 1320
ccctcttatt aggaatgag ggagattgtg tgcataaaga agttacgccc ctcattccca 1380
aacgggttga gcagtgatga gtgtctaaag cagatgggaa aactcatgac agaattgctg 1440
gctcacatc ctgcatcaag gctgacagcc ctgagggtta agaaaacact tgccaaaatg 1500
tcagagtcctc aggaacttaa actctgatag gagaggaaaa gtaagcatct ctgcagaaa 1560
ccaacaggtc ccctt

```

1575

<210> 87
 <211> 2032
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 87

```

cgcgggggcg ggagtggcg gggcctcgcg ggacgcgggc agtgcggaga ccgcgggcgt 60
gaggacgcgg gagccgggag cgcacgcgcg ggggtggagt cagccctactc tttcttagat 120
gtgaaaggaa aggaagatca tttcatgcct tgttgataaa ggttcagact tctgctgatt 180
cataaccatt tggctctgag ctatgacaag agaggaaaca aaaagttaa cttacagacc 240
tgccataagt gagaagcaaa cttccttgat aacatgcttt tgcgaagtgc aggaaaatta 300
aatgtgggca ccaagaaaga ggatgggtgag agtacagccc ccaccccccg tccaagggtc 360
ttgcgttgta aatgccacca ccattgtcca gaagactcag tcaacaatat ttgcagcaca 420
gacggatatt gtttcacgat gatagaagag gatgactctg ggttgctgt ggtcacttct 480
ggttgcctag gactagaagg ctccagattt cagtgtcggg acactcccat tctctatcaa 540
agaatgctg ttgaatgctg agattttgtt gatggacctc tacaccacag ggctttactt 660
ctgcctccat tgaaaaacag agattttgtt gtccttatca tattattttg ttacttccgg 720
atatctgtga ctgtctgtag tttgctcttg gtccttatca tagaacagga tgaaacttac 780
tataaaagac aagaaaccag acctcgatac agcattgggt tagaacagga tgaaacttac 840
attctcctcg gagaatccct gagagactta attgagcagt ctccagagctc aggaagtggg 900
tcaggcctcc ctctgctggg ccaaaggact atagctaagc agattcagat ggtgaaacag 960
attggaaaag gtcgctatgg ggaagtgttg atgggaaagt ggcgtggcga aaaggtagct 960
gtgaaagtgt tcttcaccac agaggaagcc agctgggtca gagagacaga aatatatcag 1020
acagtgttga tgaggcatga aaacattttg ggtttcattg ctgcagatat caaagggaca 1080
gggtcctgga cccagttgta cctaatacaca gactatcatg aaaatggttc cctttatgat 1140
tatctgaagt ccaccaccct agacgctaaa tcaatgtcga agttagctc ctcttctgtc 1200
agtggcttat gtcatttaca cacagaaatc tttagtactc aaggcaaac agcaattgcc 1260
catcgagatc tgaaaagtaa aaacattctg gtgaaagaaa atggaacttg ctgtattgct 1320
gacctggggc tggctgttaa atttattagt gatacaaatg aagttgacat accacctaac 1380
actcgattg gcaccaaacc ctatatgcct ccagaagtgt tggacgagag cttgaacaga 1440
aatcacttcc agtcttacct catggctgac atgtatagtt ttggcctcat cctttgggag 1500
gttgctagga gatgtgtatc aggaggtata gtggaagaat accagcttcc ttatcatgac 1560
ctagtgccta gtgacccctc ttataggagc atgagggaga ttgtgtgcat caagaagtta 1620
cgccccctcat tcccaaacgg gtggagcagt gatgagtgtc taaggcagat gggaaaactc 1680
atgacagaat gctgggtcga caatcctgca tcaaggctga cagccctgcg ggttaagaaa 1740
acacttgcca aaatgtcaga gtcccaggac attaaactct gataggagag gaaaagttaag 1800
catctctgca gaaagccaac aggtactctt ctgtttgtgg cgagagcaaa agacatcaaa 1860
taagcatcca cagtacaagc cttgaacatc gtcctgtctc ccagtggtt cagacctcac 1920
ctttcaggga gcgacctggg caaagacaga gaagctccca gaaggagaga ttgatccgtg 1980
tctgtttgta ggcggagaaa ccgttgggtg acttgttcaa gatattgatgc at 2032

```

<210> 88
 <211> 3167
 <212> ADN
 <213> Rattus sp.

<400> 88

```

gaattcatga gatggaaca taggtcaaag ctgtttggag aaattggaac tacagtttta 60
tctagccaca tctctgagaa gtctgaagaa agcagcaggt gaaagtcatt gtcaagtgat 120
tttgttcttc tgtaaggaaa cctcgttcag taaggccggt tacttcagtg aaacagcagg 180
accagtaatc aagggtggccc ggacaggaca cgtgcgaatt ggacaatgac tcagctatac 240
acttacatca gattactggg agcctgtctg ttcatcattt ctcatgttca agggcagaat 300
ctagatagta tgctccatgg tactgggatg aaatcagacg tggaccagaa gaagccggaa 360
aatggagtga cgttagcacc agaggacacc ttacctttct taaaatgcta ttgctcagga 420
cactgcccag atgacgctat taataacaca tgcataacta atggccattg ctttgccatt 480
atagaagaag atgatcaggg agaaaccacg ttaacttctg ggtgatgaa gtatgaaggc 540
tctgattttc aatgcaagga ttcacaaaaa gcccagctac gcaggacaat agaattgtgt 600
cggaccaatt tgtgcaacca atatttgag cctacactgc cccctgtcgt tataggccca 660
ttctttgatg gcagcgtccg atggctggct gtgctcatct ctatggctgt ctgtattgtc 720
gccatgatcg tcttctccag ctgcttctgt tacaacattt actgtaagag tatctcaagc 780
agaggctggt acaaccgtga cttggaacag gatgaagcat ttattccagt aggagaatca 840
ctgaagagac tgattgacca gtcacaaagc tctggtagtg gatctggatt acctttattg 900
gttcagcgaa ctattgccaa acagattcag atgggttcggc aggttggtaa aggccggtat 960
ggagaagtat ggatgggtaa atggcgtggg gaaaaagtgg ctgtcaaaat attttttacc 1020
actagagaag ctactgggt tagagaacaa gaaatctacc agacggtgtt aatgcgtatc 1080
gaaaatatac ttggttttat agctgcagac attaaaggca ccggttcctg gactcagctg 1140
tatttgatta ctgattacca tgagaatggg tctctctatg acttctctgaa atgtgccacc 1200
ctggacacca gagccctact caagttagct tattctgctg cctgtggtct gtgccacctc 1260
cacacagaaa ttataggcac gcaaggcaag cctgcaattg ctcatcgaga cctgaagact 1320
aaaaacatcc ttattaagaa aaatggtagt tgctgtattg ctgacctggg cctagctgtt 1380
aaattcaaca gtgacacaaa tgaagttagc atacccttga acaccagggt gggcaccagg 1440
cggtagatgg ctccagaagt gctggacgag agcctgagta aaaaccattt ccagccctac 1500
atcatcgatg acatctacag ctttgggttg atcatctggg agatggcccg tcgctgtatt 1560
acaggaggaa tctgtggagg atatcaatta ccatattaca acatggtgcc tagtgacca 1620
tcttatgaag acatgcgtga ggtcgtgtgt gtgaaacgct tgcggccaat cgtctctaac 1680
cgctggaaca gtgatgaatg tcttcgagcc gttttgaagc tgatgtcaga atgtgggcc 1740
cataatccag catccagact cacagctttg agaatcaaga agacgctcgc aaagatggtt 1800
gaatcccagg atgtaaagat ttgacaaaac gttttgagaa agaatttaga ctgcaagaaa 1860
ttcacccgag gaaggggtgga gttagcatgg actaggatgt cggcttgggt tccagactct 1920
ctcctctaca tcttcacagg ctgctaacag taaactttca ggactctgca gaatgcaggg 1980
ttggagcttc agacatagga cttcagacat gctgttctct gcgtatggac agctttgttt 2040
taaatgtggg cttttgatgc ctttttgggt tttatgaatt gcatcaagac tccaatctcg 2100
ataagaagtc tctggtcaaa ctctggttac tcaactatct gtccataaag ttgtgctttc 2160
tgtgaaagcc ttaaggaaaat tagtgagctc agcagagatg gagaaaggca tatttgccct 2220
ctacagagaa aatatctgtc tgtgttctgt ctctgtaaac agcctggact atgatctctt 2280
tgggatgctg cctggttgat gatggtgcat catgcctctg atatgcatac cagacttctt 2340
ctgctgccat gggcttacia gacaagaatg tgaaggttgc acaggacggt atttgtggcc 2400
agtggtttaa atatgcaata tctaactgac attcgccaat ctcataaaaag ccatctacct 2460
tgtaactgaa gtaacttctc tacciaacttt atttttagca taatagtgtt aaaggccaaa 2520
ctatgtataa agtgtccata gactcgaact gttttcctcc agtcaccatt ttgttttctt 2580
tttggttaatt atttttgtta tataatctct cctatccaga attggcgctc actgtcttga 2640
accatacttt gaaagaaatg cctcttctct gagtctgcct tactgcatct gatcaccatg 2700
tgcatacctc tgatcaaatc ctggagtctt tgttctcggt acctcttaaa aagggaaatt 2760
gtgtatcatg tgtagtgtgc ttttattttc aaaatcttca tagcctttat tctagccatt 2820
tttacctaca tactcattct gtacaaaaca gctcactcgg tctcacggct gatcctcagt 2880
ggaaatgatt taaagtagag ctgtgtacga atttcagaat tcatgtattt aaaaacttca 2940
cactaacact ttactaagat attgtctcat atcttttatg aggatgtcag ctgattttca 3000
atgactataa atgtatctta gctatctaaa tcttttgaaa tttggtttta taatttctgg 3060
tccctaactt gtgaagacaa agaggcagaa gtaccagtc taccacattt acactgtaca 3120
ttattaaata aaaaaatgta tatttttaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaa 3167

```

5 <210> 89
 <211> 3167
 <212> ADN
 <213> Rattus norvegicus

10 <400> 89

```

gaattcatga gatggaaca taggtcaaag ctgtttggag aaattggaac tacagtttta 60
tctagccaca tctctgagaa gtctgaagaa agcagcaggt gaaagtcatt gtcaagtgat 120
tttgttcttc tgtaaggaaa cctcgttcag taaggccggt tacttcagtg aaacagcagg 180
accagtaatc aagggtggccc ggacaggaca cgtgcgaatt ggacaatgac tcagctatac 240
acttacatca gattactggg agcctgtctg ttcatcattt ctcatgttca agggcagaat 300
ctagatagta tgctccatgg tactgggatg aaatcagacg tggaccagaa gaagccggaa 360
aatggagtga cgttagcacc agaggacacc ttacctttct taaaatgcta ttgctcagga 420

```

ES 2 586 401 T3

```

cactgcccag atgacgctat taataacaca tgcataacta atggccattg ctttgccatt 480
atagaagaag atgatcaggg agaaaccacg ttaacttctg ggtgtatgaa gtatgaaggc 540
tctgattttc aatgcaagga ttcacacaaa gccagctac gcaggacaat agaattgtgt 600
cggaccaatt tgtgcaacca atatttgcag cctacactgc cccctgtcgt tataggcca 660
ttctttgatg gcagcgtccg atggctggct gtgctcatct ctatggctgt ctgtattgtc 720
gccatgatcg tcttctccag ctgcttctgt tacaaacatt actgtaagag tatctcaagc 780
agaggctcgtt acaaccgtga cttggaacag gatgaagcat ttattccagt aggagaatca 840
ctgaaagacc tgattgacca gtcacaaagc tctggtatgt gatctggatt acctttattg 900
gttcagcgaa ctattgccaa acagattcag atgggttcggc aggttggtaa aggccgggat 960
ggagaagtat ggtgggttaa atggcgtggt gaaaaagtgg ctgtcaaaagt attttttacc 1020
actgaagaag ctagctgggt tagagaaaca gaaatctacc agacgggtgtt aatgcgtcat 1080
gaaaatatac ttggttttat agctgcagac attaaaggca ccggttccgt gactcagctg 1140
tatttgattt ctgattacca tgagaatggg tctctctatg acttccgtga atgtgccacc 1200
ctggacacca gagccctact caagttagct tattctgctg cctgtggtct gtgccacctc 1260
cacatagaaa tttatggcac gcaaggcaag cctgcaattg ctcatcgaga cctgaagagc 1320
aaaaacatcc ttattaagaa aaatggtagt tgctgtattg ctgacctggg cctagctgtt 1380
aaattcaaca gtgacacaaa tgaagttagc atacccttga acaccagggt gggcaccagg 1440
cggtagatgg ctccagaagt gctggacgag agcctgagta aaaaccattt ccagccctac 1500
atcatggctg acatctacag ctttgggttg atcatttggg agatggcccc tcgctgtatt 1560
acaggaggaa tctggaggga atatcaatta ccatattaca acatgggtgc tagtgaccac 1620
tcttatgaag acatgcgtga ggtcgtgtgt gtgaaacgct tgcggccaat cgtctctaac 1680
cgctggaaca gtgatgaatg tcttcgagcc gttttgaagc tgatgtcaga atgctggggc 1740
cataatccag catccagact cacagctttg agaatcaaga agacgctcgc aaagatgggt 1800
gaatcccagg atgtaaagat ttgacaaaaca gttttgagaa agaatttaga ctgcaagaaa 1860
ttcacccgag gaagggtgga gtttagcatg actaggatgt cggcttgggt tccagactct 1920
ctcctctaca tcttcacagg ctgctaacag taaactttca ggactctgca gaatgcaggg 1980
ttggagcttc agacatagga cttcagacat gctgttcttt gcgtatggac agctttgttt 2040
taaagtgtgg cttttgatgc ctttttgggt tttatgaatt gcatcaagac tccaatcctg 2100
ataagaagtc tctggtcaaa ctctggttac tcaactatct gtccataaaag tggtgctttc 2160
tgtgaaagcc ttaaggaaat tagtgagctc agcagagatg gagaaaggca tatttgccct 2220
ctacagagaa aatatctgtc tgtgttctgt ctctgtaaac agcctggact atgatctctt 2280
tgggatgctg cctggttgat gatggtgcat catgcctctg atatgcatac cagacttctt 2340
ctgctgccat gggcttacia gacaagaatg tgaaggttgc acaggacggg atttgtggcc 2400
agtgggttaa atatgcaata tctaactgac attcgccaat ctcataaaag ccatctacct 2460
tgtaactgaa gtaacttctc tacciaacttt attttttagca taatagttgt aaaggccaaa 2520
ctatgtataa agtgccata gactcgaact gttttctctc agtcaccatt ttgttttctt 2580
tttggttaatt atttttgtta tataattcct cctatccaga attggcgctc actgtcttga 2640
accatacttt gaaagaaatg cctcttctct gagtctgcct tactgcatct gatcaccatg 2700
tgcatacctc tgatcaaat tctggagtctt tgttctcggg acctcttaaa aagggaaatt 2760
gtgtatcatg tgtagtgtgc ttttattttc aaaatcttca tagcctttat tctagccatt 2820
tttacctaca tactcattct gtacaaaaca gctcactcgg tctcacggct gatcctcagt 2880
ggaaatgatt taaagtagag ctgtgtacga atttcagaat tcatgtattt aaaaacttca 2940
cactaacact ttactaagat attgtctcat atcttttatg aggatgtcag ctgattttca 3000
atgactataa atgtatctta gctatctaaa tcttttgaaa tttgggttta taatttctgg 3060
tccctaactt gtgaagacaa agaggcagaa gtacccagtc taccacattt acactgtaca 3120
ttattaaata aaaaaatgta tattttaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa 3167

```

<210> 90
 <211> 3003
 <212> ADN
 <213> Rattus norvegicus

<400> 90

```

cgttcagtaa ggccggttac ttcagtgaag cagcaggacc agtaatcaag gtggcccggg 60
caggacacgt gcgaattgga caatgactca gctatacact tacatcagat tactggggag 120
ctgtctgttc atcatttctc atgttcaagg gcagaatcta gatagtatgc tccatgggtac 180
tggtatgaaa tcagacgtgg accagaagaa gccggaaaaat ggagtgacgt tagcaccaga 240
ggacacctta cctttcttaa aatgctattg ctcaggacac tgcccagatg acgctattaa 300

```

taacacatgc	ataactaatg	gccattgctt	tgccattata	gaagaagatg	atcagggaga	360
aaccacgtta	acttctgggt	gtatgaagta	tgaaggctct	gattttcaat	gcaaggattc	420
acaaaaagcc	cagctacgca	ggacaataga	atgttgctcg	accaatttgt	gcaaccaata	480
tttgagcct	acactgcccc	ctgtcgttat	aggcccattc	tttgatggca	gcgtccgatg	540
gctggctgtg	ctcatctcta	tggctgtctg	tattgtcgcc	atgatcgtct	tctccagctg	600
cttctgttac	aaacattact	gtaagagtat	ctcaagcaga	ggtcgttaca	accgtgactt	660
ggaacaggat	gaagcattta	ttccagtagg	agaatcactg	aaagacctga	ttgaccagtc	720
acaaagctct	ggtagtggt	ctggattacc	tttattgggt	cagcgaacta	ttgccaataa	780
gattcagatg	gttcggcagg	ttggtaaagg	ccggatgga	gaagtatgga	tgggtaaatg	840
gcgtgggtgaa	aaagtggctg	tcaaagtatt	ttttaccact	gaagaagcta	gctgggttag	900
agaacacagaa	atctaccaga	cgggtgtaat	gcgtcatgaa	aataacttg	gttttatagc	960
tggtagtct	aaaggcacgc	gttcctggac	tcagctgtat	ttgattactg	attaccatga	1020
gaatgggtct	ctctatgact	tcctgaaatg	tgccaccctg	gacaccagag	ccctactcaa	1080
gttagcttat	tctgctgct	gtggtctgtg	ccacctccac	acagaaattt	atggcacgca	1140
aggcaagcct	gcaattgctc	atcgagacct	gaagagcaaa	aacatcctta	taaagaaaaa	1200
tgtagttgc	tgtattgctg	acctgggctt	agctgtttaa	ttcaacagtg	acacaaatga	1260
agttgacata	cccttgaaca	ccagggtggg	caccaggcgg	tacatggctc	cagaagtgtc	1320
ggacgagagc	ctgagtaaaa	accatttcca	gccttacatc	atggctgaca	tctacagctt	1380
tggtttgatc	atttgggaga	tggcccgctg	ctgtattaca	ggaggaatcg	tggaggaata	1440
tcaattacca	tattacaaca	tgggtcctag	tgacctatct	tatgaagaca	tcggtgaggt	1500
cgtgtgtgtg	aaacgcttgc	ggccaatcgt	ctctaaccgc	tggaaacagt	atgaatgtct	1560
tcgagccgtt	ttgaagctga	tgtcagaatg	ctgggcccct	aatccagcat	ccagactcac	1620
agctttgaga	atcaagaaga	cgtcgcga	gatggttgaa	tcaccagatg	taaagatttg	1680
acaaacagtt	ttgagaaaga	atttagactg	caagaaattc	acccgaggaa	gggtggagtc	1740
agcatggact	aggatgtcgg	cttggtttcc	agactctctc	ctctacatct	tcacaggctg	1800
ctaacagtaa	actttcagga	ctctgcagaa	tgcaggggtg	gagcttcaga	cataggactt	1860
cagacatgct	gttcttttgc	tatggacagc	tttggtttta	atgtgggctt	ttgatgcctt	1920
tttggttttt	atgaattgca	tcaagactcc	aatcctgata	agaagtctct	ggtcaaaactc	1980
tggttactca	ctatcctgtc	cataaagtgg	tgctttctgt	gaaagcctta	aggaaatttag	2040
tgagctcagc	agagatggag	aaaggcatat	ttgcccctca	cagagaaaat	atctgtctgt	2100
gttctgtctc	tgtaaacagc	ctggactatg	atctcttttg	gatgctgcct	ggttgatgat	2160
ggtgcatcat	gcctctgata	tgcataccag	acttctctctg	ctgccatggg	cttacaagac	2220
aagaatgtga	aggttgcaca	ggacggtatt	tgtggccagt	ggttttaata	tgcaatatct	2280
aatcgacatt	cgccaatctc	ataaaagcca	tctaccttgt	aactgaagta	acttctctac	2340
caactttatt	tttagcataa	tagttgtaaa	ggccaaacta	tgtataaagt	gtccatagac	2400
tcgaactgtt	ttcctccagt	caccattttg	ttttcctttt	ggtaattatt	tttgttatat	2460
aattcctcct	atccagaatt	ggcgtcact	gtcttgaacc	atactttgaa	agaaatgcct	2520
cttctggag	tctgcttac	tgcactgat	caccatgtgc	atactctga	tcaaatctctg	2580
gagtccttct	tctcggtacc	tcttaaaaag	ggaaattgtg	tatcatgtgt	agtgtgctt	2640
tattttcaaa	atcttcatag	cctttattct	agccattttt	acctacatac	tcattctgta	2700
caaaacagct	cactcggctc	cacggctgat	cctcagtgga	aatgatttaa	agtagagctg	2760
tgtacgaatt	tcagaattca	tgtatttaaa	aacttcacac	taacacttta	ctaagatatt	2820
gtctcatatc	ttttatgagg	atgtcagctg	attttcaatg	actataaatg	tatcttagct	2880
atctaaatct	tttgaaattt	ggttttataa	ttcttggtcc	ctaacttggt	aagacaaaga	2940
ggcagaagta	cccagctctac	cacatttaca	ctgtacatta	ttaaaataaaa	aaatgtatat	3000
ttt						3003

<210> 91
 <211> 2063
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 91

gaattccggt	gatgatgatg	gtgatgggtga	tgatgggtgat	gaggatgatg	gtgatgatga	60
tgatgggtggt	ggtgatgggt	tttgcactct	ccattcatga	actaagtact	cttattagtgt	120
aatttctttt	ctttgcccctc	ctgattcttg	gctggcccag	ggatgacttc	ctcgtgcag	180
cggccctggc	gggtgcccctg	gctaccatgg	accatcctgc	tggtcagcac	tgcggctgct	240
tcgcagaatc	aagaacggct	atgtgcgttt	aaagatccgt	atcagcaaga	ccttgggata	300

```

ggtagagagta gaattctctca tgaaaaatggg acaatattat gctcgaaagg tagcaactgc 360
tatggcctttt gggagaaaatc aaaaaggggac ataaatcttg taaaaacaagg atgttggtct 420
cacattggag atccccaaga gtgtcactat gaagaatgtg tagtaactac cactcctccc 480
tcaattcaga atggaacata ccgtttctgc tgttgtagca cagatttatg taatgtcaac 540
tttactgaga attttccacc tcttgacaca acaccactca gtccacctca ttcatTTaac 600
cgagatgaga caataatcat tgctttggca tcagtctctg tattagctgt tttgatagtt 660
gccttatgct ttggatacag aatggttgaca ggagaccgta aacaagggtct tcacagtatg 720
aacatgatgg aggcagcagc atccgaaccc tctcttgatc tagataatct gaaactgttg 780
gagctgattg gccgaggtcg atatggagca gtatataaag gctccttgga tgagcgtcca 840
gttgctgtaa aagtgttttc ctttgcaaac cgtcagaatt ttatcaacga aaagaacatt 900
tacagagtgc ctttgatgga acatgacaac attgcccgtc ttatagttgg agatgagaga 960
gtcactgcag atggacgcat ggaatatTTg cttgtgatgg agtactatcc caatggatct 1020
ttatgcaagt atttaagtct ccacacaagt gactgggtaa gctcttgccg tcttgctcat 1080
tctgttacta gaggactggc ttatcttcac acagaattac cagcaggaga tcattataaa 1140
cctgcaattt cccatcgaga tttaaacagc agaaatgtcc tagtgaaaaa tgatggaacc 1200
tgtgttatta gtgactttgg actgtccatg aggctgactg gaaatagact ggtgcgccca 1260
ggggaggaag ataatgcagc cataagcgag gttggcacta tcagatatat ggcaccagaa 1320
gtgctagaag gagctgtgaa cttgagggag tgtgaatcag ctttgaaaca agtagacatg 1380
tatgctcttg gactaatcta ttgggagata ttatgagat gtacagacct ctcccaggg 1440
gaatccgtac cagagtacca gatggctttt cagacagagg ttggaacca tcccactttt 1500
gaggatattg aggttctcgt gtctagggaa aaacagagac ccaagtcccc agaagcctgg 1560
aaagaaaata gcctggcagt gaggtcactc aaggagacaa tcgaagactg ttgggactg 1620
gatgcaaggg ctgggcttac tgcacagtgt gctgaggaaa ggaaggctga actttgatg 1680
atTTgggaaa gaacaaatc tgtgagccca acagtcaatc caatgtctac tgctatgcag 1740
aatgaacgta ggtgagtc aaacaaatg cacaagatgg caaatcagga tcaggtgaaa agatcaagaa 1800
acgtgtgaaa actccctatt ctcttaagcg gtggcgcccc tccacctggg tcatctccac 1860
tgaatgcctg gactgtgaag tcaacaataa tggcagtaac agggcagttc attccaaatc 1920
cagcactgct gtttaccttg cagaaggagg cactgctaca accatgggtg ctaaagatat 1980
aggaatgaac tgtctgtgaa atgttttcaa gcctatggag tgaaattatt ttttgcatca 2040
tttaaacatg cagaagatgt tta 2063

```

<210> 92
 <211> 1964
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 92

```

atTTcttttc tttgccctcc tgattcttgg ctggcccagg gatgacttcc tcgctgcagc 60
ggccctggcg ggtgccctgg ctaccatgga ccatcctgct ggtcagcact gcggtgctt 120
cgcagaatca agaacggcta tgtgcgttta aagatccgta tcagcaagac cttgggtag 180
gtgagagtag aatctctcat gaaaatggga caatattatg ctcgaaaggc agcacctgct 240
atggcctttg ggagaaatca aaaggggaca taaatcttgt aaaacaagga tgttggtctc 300
acatttgaga tccccaagag tgtcactatg aagaatgtgt agtaactacc actcctccct 360
caattcagaa tggaaacata cgtttctgct gttgtagcac agatttatgt aatgtcaact 420
ttactgagaa tttccacact cctgacacaa caccactcag tccacctcat tcatTTaac 480
gagatgagac aataatcatt gctttggcat cagtctctgt attagctgtt ttgatagttg 540
ccttatgctt tggatacaga gagaccgtaa acaagggtctt cacagtatga 600
acatgatgga ggagcagca tccgaacctc ctcttgatct agataatctg aaactgttgg 660
agctgatTgg ccgaggTcga tatggagcag tatataaagg ctccctggat gaggctccag 720
ttgctgtaaa agtgttttcc tttgcaaac gtcagaattt tatcaacgaa aagaacattt 780
acagagtgcc tttgatggaa catgacaaca ttgcccgctt tatagttgga gatgagagag 840
tcaactgcaga tggacgcagc gaatatTTgc ttgtgatgga gtactatccc aatggatctt 900
tatgcaagta ttaagtctc cacacaagtg actgggtTaa ctcttgccgt cttgctcat 960
ctgttactag aggactggct tatcttcaca cagaattacc acgaggagat cattataaac 1020
ctgcaatttc ccatcgagat ttaaacagca gaaatgtcct agtgaaaaat gatggaacct 1080
gtgttattag tgactttgga ctgtccatga ggctgactgg aaatagactg gtgcgcccag 1140
gggaggaaga taatgcagcc ataagcgagg ttggcactat cagatatatg gcaccagaag 1200
tgctagaagg agctgtgaac ttgagggact gtgaatcagc tttgaaacaa gttagacatg 1260
atgctcttgg actaatctat tgggagatat ttatgagatg tacagacctc ttcccagggg 1320
aatccgtacc agagtaccag atggcttttc agacagaggt tggaaacct cccacttttg 1380
aggatatgca ggttctcgtg tctagggaaa aacagagacc caagtTccca gaagcctgga 1440
aagaaaaatag cctggcagtg aggtcactca aggagacaat cgaagactgt tgggaccagg 1500
atgcagaggc tcggcttact gcacagtgtg ctgaggaaag gatggctgaa cttatgatga 1560
tttgggaaag aaacaaatct gtgagcccaa cagtcaatcc aatgtctact gctatgcaga 1620
atgaacgtag gtgagtcaac acaagatggc aaatcaggat caggtgaaaa gatcaagaaa 1680
cgtgtgaaaa ctccctattc tcttaagcgg tggcgccct ccacctgggt catctccact 1740
gaatcgctgg actgtgaagt caacaataat ggcagtaaca gggcagttca ttccaaatcc 1800
agcactgctg tttaccttgc agaaggaggc actgctacaa ccatgggtgc taaagatat 1860
ggaatgaact gtctgtgaaa tgttttcaag cctatggagt gaaattattt tttgcatcat 1920
ttaaacatgc agaagatgtt taaaaataaa aaaaaactg cttt 1964

```

<210> 93
 <211> 3611
 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 93

```

cgccccccga ccccgatcg aatccccgcc ctccgcaccc tggatatgtt ttctcccaga 60
cctggatatt tttttgatatt cgtgaaacta cgagggaat aatttggggg atttcttctt 120
ggctccctgc tttccccaca gacatgcctt ccgtttggag ggccgcggca ccccgctcga 180
ggcgaaggaa cccccccagc cgcgagggag agaaatgaag ggaatttctg cagcggcatg 240
aaagctctgc agctaggtcc tctcatcagc catttgtcct ttcaaactgt atttgtatgac 300
gggcaggatc agtccacggg agagaagacg agcctcccggt ctgtttctcc gccggtctac 360
ttcccatatt tcttttcttt gccctcctga ttcttggctg gcccagggat gacttctctg 420
ctgcagcggc cctggcgggt gccctggcta ccatggacca tcctgctggt cagcactgcg 480
gctgcttcgc agaacaaga acggctatgt gcgtttaaag atccgtatca gcaagacctt 540
gggtaggtg agagtagaat ctctcatgaa aatgggacaa tattatgctc gaaaggtagc 600
acctgctatg gcctttggga gaaatcaaaa ggggacataa atcttgtaaa acaaggatgt 660
tgggtctaca ttggagatcc ccaagagtgt cactatgaag aatgtgtagt aactaccact 720
cctccctcaa ttcagaatgg aacataccgt ttctgctgtt gtgacacaga tttatgtaat 780
gtcaacttta ctgagaattt tccacctcct gacacaacac cactcagtc acctcattca 840
tttaaccgag atgagacaat aatcattgct ttggcatcag tctctgtatt agctgttttg 900
atagttgcct tatgctttgg atacagaatg ttgacaggag accgtaaaaca aggtcttcac 960
agtagaaca tgatggaggc agcagcatcc gaacctctc ttgatctaga taatctgaaa 1020
ctgttggagc tgattggcgg aggtcgatat ggagcagtat ataaaggctc ctggatgag 1080
cgtccagttg ctgtaaaagt gttttctctt gcaaaccgtc agaattttat caacgaaaag 1140
aacatttaca gagtgccttt gatggaacat gacaacattg cccgctttat agttggagat 1200
gagagagtca ctgcagatgg acgcatggaa tatttgcttg tgatggagta ctatcccaat 1260
ggatctttat gcaagtattt aagtctccac acaagtgaat gggtaagctc ttgcccgtctt 1320
ttactagagg actggcttat ctccacacag aattaccagc agggatcat 1380
tataaacctg caatttccca tcgagattta aacagcagaa atgtcctagt gaaaaatgat 1440
ggaaacctgt ttattagtga ctttggactg tccatgaggc tgactggaaa tagactggtg 1500
cgccagggg aggaagataa tgcagccata agcgaggtg gcactatcag atatatggca 1560
ccagaagtgc tagaaggagc tgtgaacttg agggactgtg aatcagcttt gaaacaagta 1620
gacatgtatg ctcttggact aatctatctg gatatttta tgagatgtac agacctcttc 1680
ccagggaat ccgtaccaga gtaccagatg gcttttcaga cagagggttg aaacctccc 1740
acttttgagg atatgcaggt tctcgtgtct agggaaaaac agagacccaa gttcccagaa 1800
gcctggaaag aaaatagcct ggcagtgagg tcaactcaag agacaatcga agactgttgg 1860
gaccaggatg cagaggctcg gcttactgca cagtgtgtcg aggaaaggat ggctgaactt 1920
atgatgattt gggaaagaaa caaatctgtg agcccaacag tcaatccaat gcttactgct 1980
atgcagaatg aacgcaacct gtcacataat aggcgtgtgc caaaaatttg tcttatcca 2040
gattattctt cctcctcata cattgaagac tctatccatc atactgacag catcgtgaag 2100
aatatttctt ctgagcattc tatgtccagc acaccttga ctatagggga aaaaaacga 2160
aattcaatta actatgaacg acagcaagca caagctcgaa tccccagccc tgaaacaagt 2220
gtcaccagcc tctccacca cacaacaacc acaaacacca caggactcac gccaaagtact 2280
ggcatgacta ctatatctga gatgccatac ccagatgaaa caaatctgca taccacaaat 2340
gttgcacagt caattgggac aacctgtgc tgcctacagc tgacagaaga agacttggaa 2400
accaacaagc tagaccctaa agaagtgtat aagaacctca aggaaagctc tgatgagaat 2460
ctcatggagc actctcttaa acagttcagt ggcacagacc cactgagcag tactagttct 2520
agcttgcttt accactcat aaaacttgca gtagaagcaa ctggacagca ggacttcaca 2580
cagactgcaa atggccaagc atgtttgat cctgatgttc tgccactca gatctatct 2640
ctccccaagc agcagaacct tcccaagaga cctactagt tgcccttgaa caccacaaat 2700
tcaacaaaag agccccggct aaaatttggc agcaagcaca aatcaaactt gaaacaagtc 2760
gaaactggag ttgccaagat gaatacaatc aatgcagcag aacctcatgt ggtgacagtc 2820
accatgaatg gtgtggcagg tagaaaccac agtggttaact cccatgctgc cacaacccaa 2880
tatgccaatg ggacagtact atctggccaa acaaccaaca tagtgacaca tagggcccaa 2940
gaaatgttgc agaactcagtt tattggtgag gacacccggc tgaatattaa ttccagtcct 3000
gatgagcatg agcctttact gagacgagag caacaagctg gccatgatga aggtgttctg 3060
gatcgtcttg ttgacaggag ggaacggcca ctagaagggt gccgaactaa ttccaataac 3120
aacaacagca atccatgttc agaacaagat gttcttgac aggggtgttc aagcacagca 3180
gcagatcctg ggccatcaaa gcccagaaga gcacagaggg ctaattctct ggatctttca 3240
gccacaatg tcctggatgg cagcagtata cagataggtg agtcaacaca agatggcaaa 3300
tcaggatcag gtgaaaagat caagaaacgt gtgaaaactc cctattctct taagcgggtg 3360
cgccctcca cctgggtcat ctccactgaa tcgctggact gtgaagtcaa caataatggc 3420
agtaacaggg cagttcatte caaatccagc actgctgttt accttgacag aggaggcact 3480
gctacaacca tgggtgtctaa agatatagga atgaactgtc tgtgaaatgt tttcaagcct 3540
atggagtga attatttttt gcatcattta aacatgcaga agatgtttta aaataaaaaa 3600
aaaactgctt t 3611

```

<210> 94

<211> 3871

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 94

```

ggcctccgca ccttggatat gttttctccc agacctggat atttttttga tategtgaaa 60
ctacgaggga aataatttgg gggattttctt cttggtccc tgctttcccc acagacatac 120
cttcctgttt gagggcccg ggcaccccgtc cgaggcgaag gaaccccccc atccgcgagg 180
gagagaaatg aagggaattt ctgcagcggc atgaaagctc tgcagctagg tcctctcatc 240
agccatttgt cctttcaaac tgtatttgtga tacgggcagg atcagtcacac gggagagaag 300
acgagcctcc cggctgtttc tccgcccgtc tacttcccat atttcttttc tttgccctcc 360
tgattcttgg ctggcccagg gatgacttcc tgcgtgcagc ggccctggcg ggtgccctgg 420
ctaccatgga ccatcctgct ggtcagcact gcggtgctt cgagaaatca agaaccgcta 480
tgtgcgttta aagatccgta tcagcaagac cttgggtag gtgagagtag aatctctcat 540
gaaaatggga caatattatg ctgaaagggt agcacctgct atggcctttg ggagaaatca 600
aaaggggaca taaatcttgt aaaacaagga tgttggctc acattggaga tccccaagag 660
tgtcactatg aagaatgtgt agtaactacc actcctccct caattcagaa tggaaacatac 720
cgttttctgt gttgtagcac agatttatgt aatgtcaact ttactgagaa ttttccacct 780
cctgacacaa caccactcag tccacactcat tcatttaacc gagatgagac aataatcatt 840
gctttggcat cagtctctgt attagctgtt ttgatagttg ccttatgctt tggatacaga 900
atgttgacag gagaccgtaa acaaggctctt cacagtatga acatgatgga ggcagcagca 960
tccgaacctt ctcttgatct agataatctg aaactgttgg agctgatttg ccgaggtcga 1020
tatggagcag tatataaagg ctccctggat gagcgtccag ttgctgtaa agtgttttcc 1080
tttgaaacc gtcagaattt tatcaacgaa aagaacattt acagagtgc tttgatggaa 1140
catgacaaca ttgcccgctt tatagtggga gatgagagag tcaactgcaga tggacgcag 1200
gaatatttgc ttgtgatgga tactatccc aatggatctt tatgcaagta ttaagtctc 1260
cacacaagtg actgggtaag ctcttgccgt cttgctcatt ctgtacttag aggactggct 1320
tatcttcaca cagaattacc acgaggagat cattataaac ctgcaatttc ccatcgagat 1380
ttaaacagca gaaatgtcct agtgaaaaat gatggaacct gtgttattag tgactttgga 1440
ctgtccatga ggctgactgg aaatagactg gtgcgcccag gggaggaaga taatgcagcc 1500
ataagcgagg ttggcactat cagatatatg gcaccagaag tgctagaagg agctgtgaac 1560
ttgagggact gtgaatcagc tttgaaacaa gtacacatgt atgctcttgg actaatctat 1620
tgggagatat ttatgagatg tacagacctc ttcccagggt aatccgtacc agagtaccag 1680
atggcttttc agacagaggt tggaaaccat cccacttttg aggatatgca ggttctcgtg 1740
tctagggaaa aacagagacc caagtcccca gaagcctgga aagaaaatag cctggcagtg 1800
aggctactca aggagacaat cgaagactgt tgggaccagg atgcagagge tcggcttact 1860
gcacagtgtg ctgaggaaag gatggctgaa cttatgatga ttgggaaaag aaacaaatct 1920
gtgagcccaa cagtcaatcc aatgtctact gctatgcaga atgaacgcaa cctgtcacat 1980
aataggcgtg tgccaaaaat tggctccttat ccagattatt cttcctctc atacattgaa 2040
gactctatcc atcatactga cagcatcgtg aagaatattt cctctgagca ttctatgtcc 2100
agcacacctt tgactatagg ggaaaaaaac cgaaattcaa ttaactatga acgacagcaa 2160
gcacaagctc gaatccccag ccctgaaaca agtgtcacca gcctctccac caacacaaca 2220
accacaaaca ccacaggact cagcccaagt actggcatga ctactatatc tgagatgcc 2280
taccagatg aaacaaatct gcataccaca aatgttgcac agtcaattgg gccaaacct 2340
gtctgcttac agctgacaga agaagacttg gaaaccaaca agctagacc aaaagaagtt 2400
gataagaacc tcaaggaaag ctctgatgag aatctcatgg agcactctct taaacagttc 2460
agtggccag acccactgag cagtactagt tctagcttgc ttaccact cataaaact 2520
gcagtagaag caactggaca gcaggacttc acacagactg caaatggcca agcatgtttg 2580
attcctgatg ttctgcctac tcagatctat cctctcccca agcagcagaa ccttcccaag 2640
agacctacta gtttgccttt gaacaccaa aattcaacaa aagagcccc gctaaaattt 2700
ggcagcaagc acaaatcaaa cttgaaacaa gtcgaaactg gagttgccaa gatgaataca 2760
atcaatgcag cagaacctca tgtggtgaca gtcaccatga atggtgtggc aggtagaaac 2820
cacagtgtta actcccatgc tgccacaacc caatagcca ataggacagt actatctggc 2880
caacaacca acatagtgac acatagggcc caagaaatgt tgcagaatca gtttatggg 2940
gaggacaccc ggctgaatat taattccagt cctgatgagc atgagcctt actgagacga 3000
gagcaacaag ctggccatga tgaaggtgt ctggatcgtc ttgtggacag gagggaacgg 3060
ccactagaag gtggccgaac taattccaat aacaacaaca gcaatccatg ttcagaacaa 3120
gatgttcttg cacagggtgt tccaagcaca gcagcagatc ctgggccatc aaagcccaga 3180
agagcacaga ggctaatc tctggatctt tcagccacaa atgtcctgga tggcagcagt 3240
atacagatag gtgagtcaac acaagatggc aaatcaggat caggtgaaaa gatcaagaaa 3300
cgtgtgaaaa ctccctatc tettaagcgg tggcgccct ccacctgggt catctccact 3360
gaatcgctgg actgtgaagt caacaataat ggcagtaaca gggcagttca ttccaaatcc 3420
agcactgctg tttaacctgc agaaggaggc actgctacaa ccaatgggtc taaagatat 3480
ggaatgaact gtctgtgaaa tgtttcaag cctatggagt gaaattattt tttgcatcat 3540
ttaaacatgc agaagatgtt taccgggcgg ggtgacagga gagagcgtca gcgcaagct 3600
gtggaggatg gggctcagaa tgcagacctg ggctggccgc atggcctctc cctgagccct 3660
gatttgtgtt agggagcag tatgggtgca gtcctcctc aggcctcct etggggtccc 3720
ccgatcctat cccacctctt cagggtgagc cagcctcacc tcttctagt cctgaggggtg 3780
agggcaggct gaggcaacga gtgggaggtt caacaagag tgggctggag ccaagggaaa 3840
atagagatga tgaattttct ttccggaatt c 3871

```

<210> 95
 <211> 88
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 95

ES 2 586 401 T3

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

<210> 96
 <211> 82
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 96

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

<210> 97
 <211> 82
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 97

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

<210> 98
 <211> 84
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 98

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

<210> 99
 <211> 83
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 99

ES 2 586 401 T3

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

<210> 100
 <211> 80
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 100

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

<210> 101
 <211> 80
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 101

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

<210> 102
 <211> 85
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 102

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

<210> 103
 <211> 86
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 103

ES 2 586 401 T3

```

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

```

<210> 104
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 104

```

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

```

<210> 105
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 105

```

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

```

<210> 106
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 106

```

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

```

<210> 107
 <211> 205
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 107

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

<210> 108
 <211> 197
 <212> PRT
 <213> Gallus gallus

 <400> 108

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

<210> 109
 <211> 196
 <212> PRT
 <213> Xenopus laevis

 <400> 109

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

ES 2 586 401 T3

```

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

```

<210> 110
 <211> 195
 <212> PRT
 <213> Takifugu rubripes

 <400> 110

```

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

```

<210> 111
 <211> 196
 <212> PRT
 <213> Danio rerio

 <400> 111

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

<210> 112
 <211> 188
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

 <400> 112

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

REIVINDICACIONES

1. Un inmunógeno consistente en un péptido de la secuencia de aminoácidos de la SEC. ID. Nº 53.
- 5 2. El inmunógeno de la reivindicación 1, donde el péptido se asocia a una molécula de soporte.
3. El inmunógeno de la reivindicación 2, donde la molécula de soporte es hemocianina de lapa.
- 10 4. Un método no terapéutico para producir un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido SOST, consistente en inmunizar a un animal no humano con un inmunógeno según cualquiera de las reivindicaciones precedentes.
- 15 5. Un anticuerpo producido por el método de la reivindicación 4 que es capaz de aumentar la densidad mineral ósea en un mamífero.
6. El anticuerpo de la reivindicación 5, donde el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.
7. El anticuerpo de la reivindicación 6, donde el anticuerpo monoclonal es seleccionado entre un anticuerpo monoclonal murino, un anticuerpo monoclonal humano, un anticuerpo monoclonal de rata y un anticuerpo monoclonal de hámster.
- 20 8. El anticuerpo de la reivindicación 5, donde el anticuerpo es un anticuerpo humanizado o un anticuerpo quimérico.
9. Un fragmento de unión a antígeno del anticuerpo de la reivindicación 5.
- 25 10. El fragmento de unión a antígeno del anticuerpo de la reivindicación 9, donde el fragmento de unión a antígeno es seleccionado entre el grupo consistente en F(ab')₂, Fab', Fab, Fd y Fv.
- 30 11. Una composición farmacéutica consistente en el anticuerpo de la reivindicación 5 o un fragmento de unión a antígeno del mismo y un soporte fisiológico.
12. Un método para identificar un anticuerpo que aumenta el contenido mineral óseo consistente en: (a) poner en contacto (i) un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido SOST que tiene una secuencia de aminoácidos indicada en la SEC. ID. Nº 1 con (ii) al menos un péptido SOST como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en condiciones y durante un tiempo suficientes para permitir la formación de un complejo anticuerpo/péptido SOST; y (b) detectar el nivel de complejo anticuerpo/péptido SOST, y detectar así la presencia de un anticuerpo que aumenta el contenido mineral óseo.
- 35 13. El método según la reivindicación 12, donde el anticuerpo es seleccionado entre el grupo consistente en un anticuerpo que está presente en una muestra biológica y un anticuerpo purificado.
- 40 14. El método según la reivindicación 13, donde el anticuerpo purificado es seleccionado entre el grupo consistente en un anticuerpo policlonal, un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado y un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo.
- 45 15. Un anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8 o un fragmento de unión a antígeno según la reivindicación 9 ó 10 para uso en el tratamiento o la prevención de una afección que da como resultado pérdida de contenido mineral óseo, donde la afección es al menos una de acondroplasia, disostosis cleidocraneal, encondromatosis, displasia fibrosa, enfermedad de Gaucher, raquitismo hipofosfatémico, síndrome de Marfan, exostosis múltiples hereditarias, neurofibromatosis, osteogénesis imperfecta, osteopetrosis, osteopoiquiosis, una lesión esclerótica, una fractura, enfermedad periodontal, pseudoartrosis, osteomielitis piogénica, un estado anémico, una afección causada por esteroides, una afección causada por heparina, un trastorno de la médula ósea, escorbuto, malnutrición, deficiencia de calcio, osteoporosis idiopática, osteopenia u osteoporosis congénita, alcoholismo, enfermedad hepática crónica, senilidad, estado posmenopáusico, oligomenorrea, amenorrea, gestación, diabetes mellitus, hipertiroidismo, enfermedad de Cushing, acromegalia, hipogonadismo, inmovilización o mal uso, síndrome de distrofia simpática refleja, osteoporosis regional transitoria y osteomalacia.
- 50 16. Uso de un anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8 o de un fragmento de unión a antígeno según la reivindicación 9 ó 10 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una afección que da como resultado pérdida de contenido mineral óseo, donde la afección es al menos una de acondroplasia, disostosis cleidocraneal, encondromatosis, displasia fibrosa, enfermedad de Gaucher, raquitismo hipofosfatémico, síndrome de Marfan, exostosis múltiples hereditarias, neurofibromatosis, osteogénesis imperfecta, osteopetrosis, osteopoiquiosis, una lesión esclerótica, una fractura, enfermedad periodontal, pseudoartrosis, osteomielitis piogénica, un estado anémico, una afección causada por esteroides, una afección causada por heparina, un trastorno de la médula ósea, escorbuto, malnutrición, deficiencia de calcio, osteoporosis idiopática,
- 60 65

osteopenia u osteoporosis congénita, alcoholismo, enfermedad hepática crónica, senilidad, estado posmenopáusico, oligomenorrea, amenorrea, gestación, diabetes mellitus, hipertiroidismo, enfermedad de Cushing, acromegalia, hipogonadismo, inmovilización o mal uso, síndrome de distrofia simpática refleja, osteoporosis regional transitoria y osteomalacia.

5

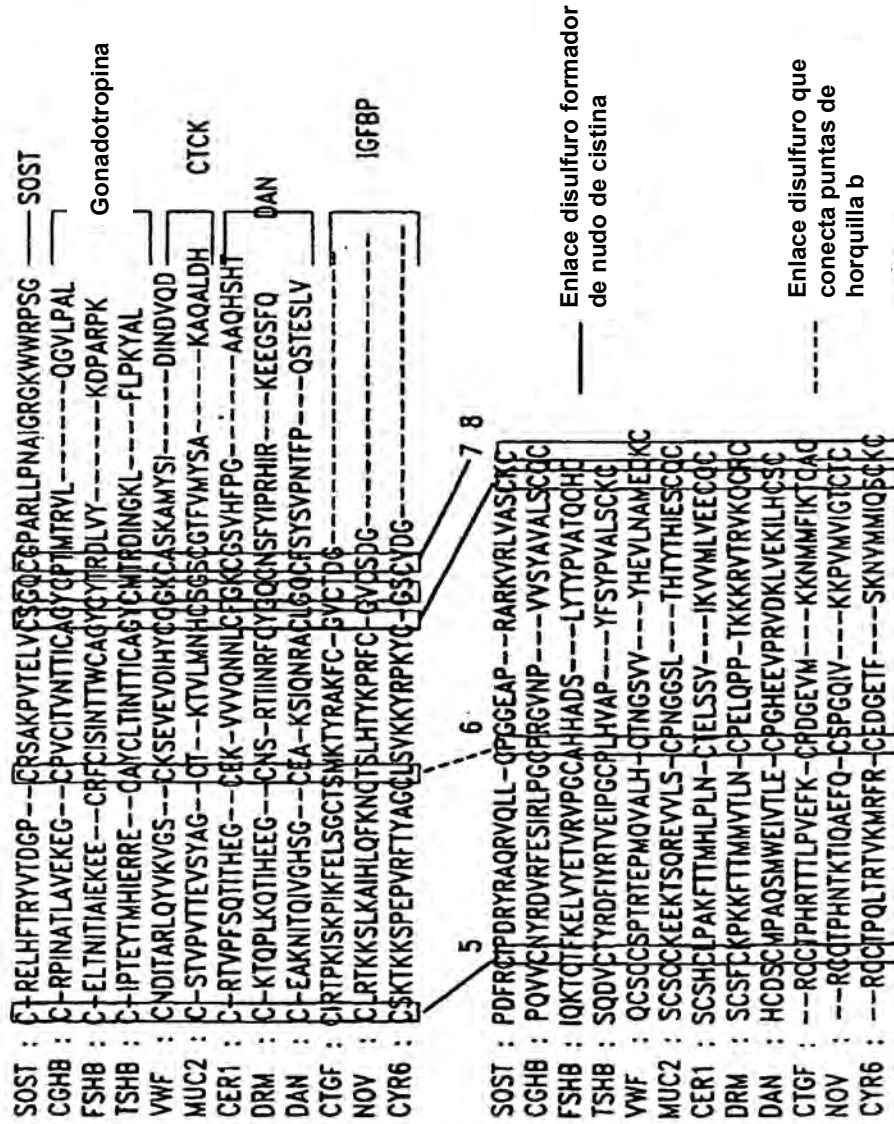


FIG. 1

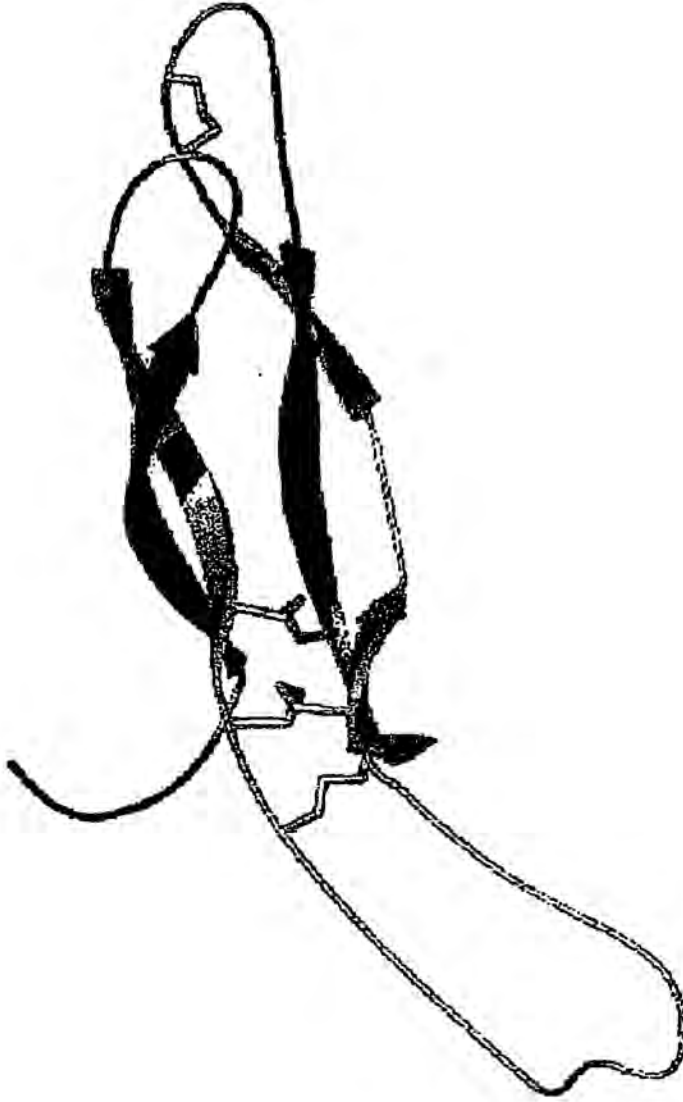


FIG. 2

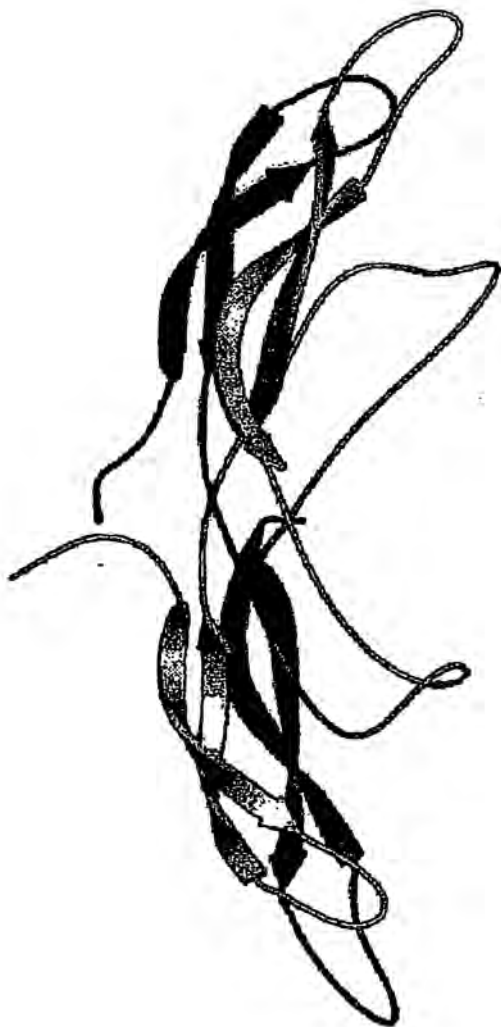


FIG. 3

	20	40	60	
NOGG_HUMAN :	QHYHIRPA--PSDNLPVLDIEPTPTFDPKEKDNETLRSLLGGHYDPGFMATSPP-EDRPG :	62		
NOGG_CHICK :	QHYHIRPA--PSDNLPVLDIEPTPTFDPKEKDNETLRSLLGGHYDPGFMATSPP-EDRLG :	62		
NOGG_XENLA :	QHYHIRPA--PSDNLPVLDIEPTPTFDPKEKDNETLRSLLGGHYDPGFMATSPP-EDRLG :	62		
NOGG_FUGRU :	QHYVLLRP--PSDSLPIVELKEPDPVLDPKERDNETELKSVLSDFDSRFLSVLPPEADGHA :	62		
NOGG_ZEBRA :	QHYVLLRP--PSDSLPIVELKEPDPVLDPKERDNETELRAILGSHFQNFMSINPP-EDKHA :	62		
SOST_HUMAN :	QENDA--FKNDATETIP--GLGEMPEP--PPELENNQTMRAENGSRP-PHPFETKDV----- :	52		
SOST_RAT :	QENDA--FKNDATETIP--GLGEMPEP--PPELENNQTMRAENGSRP-PHPYDTKDV----- :	52		
SOST_MOUSE :	QENDA--FKNDATETIP--GLGEMPEP--PPELENNQTMRAENGSRP-PHPYDAKDV----- :	50		
	80	100	120	
NOGG_HUMAN :	GGGGAAGGAEDLAELDQLLRORPSGAMPSEIKGLEFSEGLAQGKQRLSKKLRRLQMLVSOIT :	127		
NOGG_CHICK :	-----VDDLAEIDLRLRORPSGAMPSEIKGLEFYDGLQPGKQRLSKKLRRLQMLVSOIT :	119		
NOGG_XENLA :	-----VEDLGEIDLRLRORPSGAMPSEIKGLEFYEGLS-KKQRLSKKLRRLQMLVSOIT :	118		
NOGG_FUGRU :	G-----NDELDFD-AQR--HGALPKEIRAVDF-DAPOLGKQKPSKKLRRLQMLVAYSF :	116		
NOGG_ZEBRA :	G-----QDELNESE-LMKQRPNGIMPKEIKAMEF-DIQ-HGKQKPSKKLRRLQMLVSYTF :	117		
SOST_HUMAN :	-----SEYS :	56		
SOST_RAT :	-----SEYS :	56		
SOST_MOUSE :	-----SEYS :	54		
	140	160	180	
NOGG_HUMAN :	CP-VLYA--INDLGRFWFRMVKGSCSKRSCSVPEGM-----VCKPRTSVHL :	173		
NOGG_CHICK :	CP-VLYT--INDLGRFWFRMVKGSCSKRSCSVPEGM-----VCKPRTSVHL :	165		
NOGG_XENLA :	CP-VLYT--INDLGRFWFRMVKGSCSKRSCSVPEGM-----VCKAAGSMHL :	164		
NOGG_FUGRU :	CP-LAHA--INDLGRFWFRMVKGSCSKRSCSVPEGM-----TCKPATSTHL :	162		
NOGG_ZEBRA :	CP-VVHF--INDLGRFWFRMVKGSCYNKRSCSVPEGM-----VCKPRTSVHL :	163		
SOST_HUMAN :	CRLLHYTFYTTGPCRSAGVITELVCS--GQCGPARLLPNAIGRGKMRPNSGDFRCIPDRYRAQ :	119		
SOST_RAT :	CRLLHYTFYTTGPCRSAGVITELVCS--GQCGPARLLPNAIGRVKMRPNSGDFRCIPDRYRAQ :	119		
SOST_MOUSE :	CRLLHYTFYTTGPCRSAGVITELVCS--GQCGPARLLPNAIGRVKMRPNSGDFRCIPDRYRAQ :	117		

FIG. 4A

	200	220	240	260	
NOGG_HUMAN :	TVLRNFCQ-RRGGRCGWIPIQYHITISEK	-----			: 205
NOGG_CHICK :	TVLRNFCQ-RRGGRCGWIPIQYHITAEK	-----			: 197
NOGG_XENLA :	TVLRNFCQ-RRVQKCAWITTIQYHITISEK	-----			: 196
NOGG_FUGRU :	TVLRNFCVQRKVELKCAWIPMQYHITIDK	-----			: 195
NOGG_ZEBRA :	TVLRNFCVQRKVELKCAWIPVQYHITISEK	-----			: 196
SOST_HUMAN :	RVQLLCP---GG--EAPRARKVRLVASOKKRLTRFHNSSELKDFGTEAARPKGRKPRPRARS				: 178
SOST_RAT :	RVQLLCP---GG--AAPRSRKVRLVASOKKRLTRFHNSSELKDFGPETARPKGRKPRPRARG				: 178
SOST_MOUSE :	RVQLLCP---GG--AAPRSRKVRLVASOKKRLTRFHNSSELKDFGPETARPKGRKPRPGARG				: 176

NOGG_HUMAN :	-----	:	-
NOGG_CHICK :	-----	:	-
NOGG_XENLA :	-----	:	-
NOGG_FUGRU :	-----	:	-
NOGG_ZEBRA :	-----	:	-
SOST_HUMAN :	AKANQAELENAY	:	190
SOST_RAT :	AKANQAELENAY	:	190
SOST_MOUSE :	AKANQAELENAY	:	188

FIG. 4B

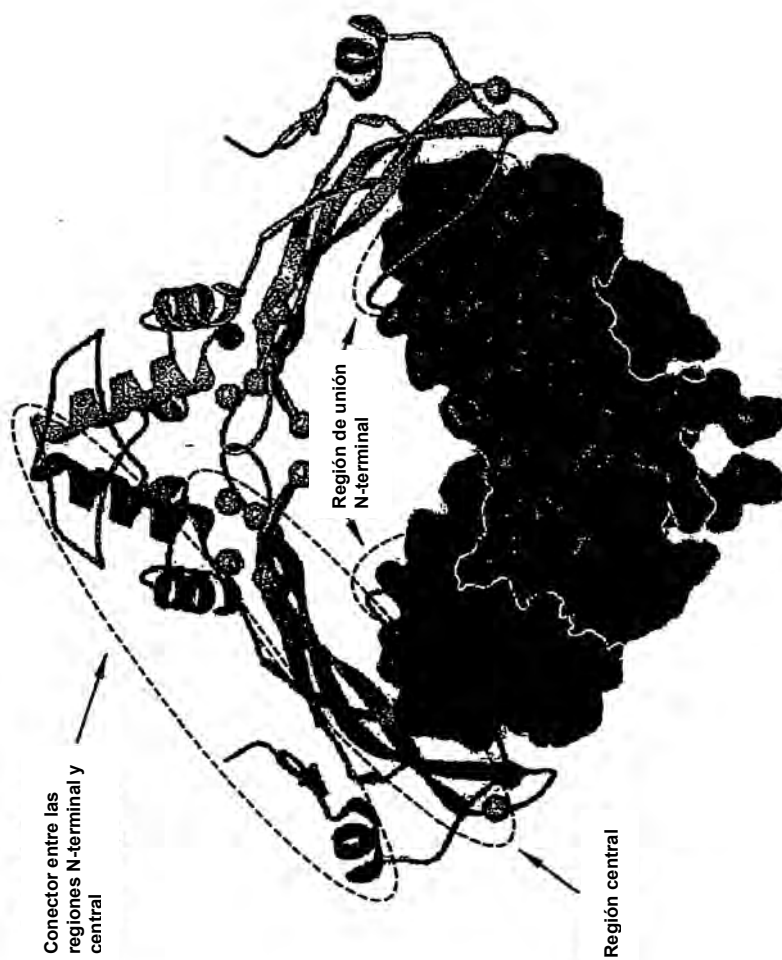


FIG. 5

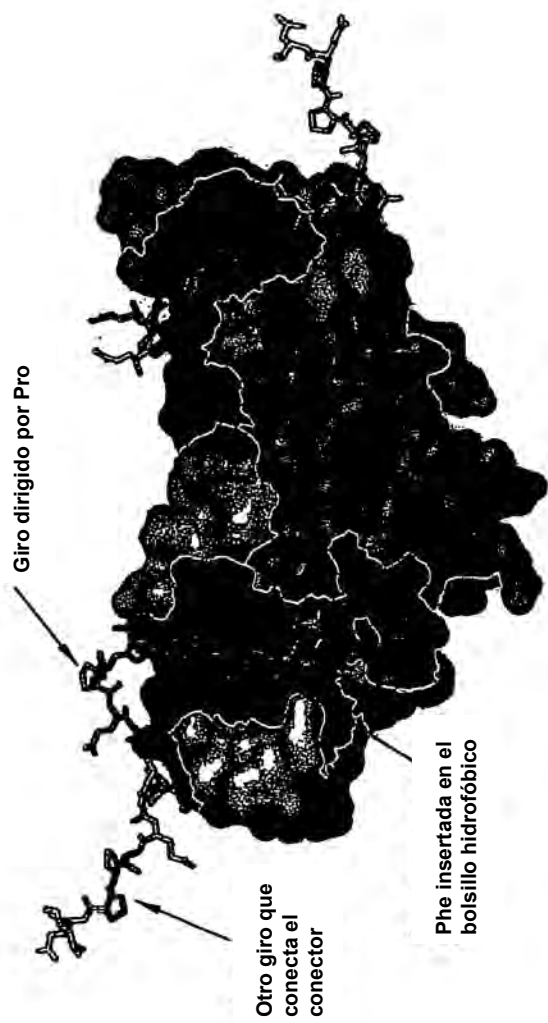


FIG. 6