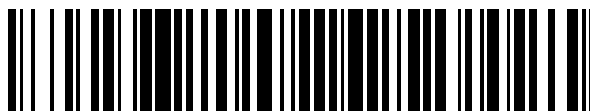


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 588 484**

51 Int. Cl.:

C07K 16/40 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.04.2012** E 12164107 (0)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.06.2016** EP 2650310

54 Título: **Anticuerpo anti-ADAMTS-5, derivados y usos del mismo**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.11.2016

73 Titular/es:

**ROTTAPHARM BIOTECH S.R.L. (100.0%)
Via Valosa di Sopra 3
20900 Monza (MB), IT**

72 Inventor/es:

**VISINTIN, MICHELA;
CASELLI, GIANFRANCO;
CHIUSAROLI, RICCARDO y
ROVATI, LUCIO CLAUDIO**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

Observaciones :

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

ES 2 588 484 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

Anticuerpo anti-ADAMTS-5, derivados y usos del mismo

Campo de la invención

5 Esta invención se refiere a anticuerpos anti-ADAMTS-5 útiles en el tratamiento de una afección asociada con la degradación de cartílago.

En particular, tal degradación se observa en osteoartritis y en otras formas de artritis.

Antecedentes de la técnica

10 La osteoartritis (OA) es un grupo de diferentes enfermedades coincidentes en parte, que pueden tener diferentes etiologías, pero resultados biológicos, morfológicos y clínicos similares. El proceso de la enfermedad no solamente afecta al cartílago articular, sino que involucra a la articulación entera, incluyendo el hueso subcondral, ligamentos, cápsula, membrana sinovial, y músculos periarticulares. Por último, el cartílago articular se degenera con fibrilación, fisuras, ulceración y pérdida completa de espesor de la superficie de la articulación. Esta afección se caracteriza por áreas focales de pérdida de cartílago articular dentro de las articulaciones sinoviales, asociada con la hipertrofia de hueso (osteofitos y esclerosis del hueso subcondral) y espesamiento de la cápsula. Se puede interpretar como la reacción de las articulaciones sinoviales a lesión. Este fenómeno se puede dar en una articulación, pero es más común en articulaciones seleccionadas de la mano, espina dorsal, rodilla, pie y cadera. Este cambio patológico, cuando es grave, da como resultado cambios radiológicos (pérdida de espacio de articulación y osteofitos), lo cual se ha usado en los estudios epidemiológicos para estimar la prevalencia de OA en diferentes sitios de articulación. Los mecanismos moleculares y celulares en base al inicio de OA son, por ahora, desconocidos; se tiene la hipótesis de que la carga anormal, así como el trauma pueden tener un papel, pero parece seguro que también están involucrados los factores genéticos y hereditarios. La inflamación, cuando está presente, es solamente secundaria a un evento principal.

25 OA es la forma más común de artritis. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que, por todo el mundo, el 9,6 % de los hombres y el 18 % de las mujeres de edad por encima de los 60 años tienen OA sintomática, clasificando la OA como la cuarta causa de invalidez en mujeres y la octava causa en hombres. Se considera que el riesgo de invalidez es el mismo para OA de rodilla que para enfermedad cardíaca.

La artritis reumatoide (AR), otra forma común de artritis, es una enfermedad inflamatoria crónica caracterizada por sinovitis articular que conduce a degradación de cartílago, erosión de hueso y dolor, conduciendo a invalidez grave y mortalidad prematura.

30 Aunque OA y AR pueden ser desencadenadas por diferentes causas y progresan según diferentes rutas, comparten el proceso subyacente que consiste en un desequilibrio en la síntesis de la matriz del cartílago y rotura, conduciendo a la destrucción del cartílago articular que poco a poco dan como resultado movimiento de articulación restringida, inestabilidad de articulación, dolor e invalidez crónica. Además, a pesar del impresionante número de pacientes afectados por OA y AR, se conoce relativamente poco con respecto a su etiología, patogénesis y progresión. Incluso más impresionantemente, muy pocos fármacos antirreumáticos como agentes modificadores de la enfermedad (FAME) existen para su tratamiento, y están principalmente limitados a AR.

40 Para OA, en ausencia de una cura, el tratamiento solamente puede ser paliativo, estando limitado al uso de inhibidores selectivos COX-2, tales como celecoxib y fármacos antiinflamatorios no esteroides (AINEs) tradicionales, tales como naproxeno y diclofenaco, o incluso fármacos más antiguos para el control del dolor, tales como acetaminofén. Una clase adicional de fármacos, que incluyen compuestos tales como condroitina y sulfato de glucosamina, también existe como una opción de tratamiento para OA, pero muchos médicos permanecen sin estar convencidos de su eficacia.

45 Con respecto a AR, a lo largo de la última década, el uso óptimo de FAMEs, en particular metotrexato y la capacidad de nuevos agentes biológicos, generalmente soportados por AINEs y/o corticoesteroides para proporcionar alivio del dolor, así como para controlar la inflamación en algún grado, han aumentado dramáticamente el éxito de su administración. Sin embargo, los FAMEs tradicionales tienen un lento inicio de la acción y toxicidad que requiere frecuente control. Además, el uso de AINEs ha sido eclipsado por los efectos secundarios gastrointestinales, cuando se tienen en cuenta los fármacos AINEs clásicos, y por los efectos secundarios cardiovasculares y renales cuando se tienen en cuenta los inhibidores COX-2 selectivos.

50 Por lo tanto, la investigación de nuevos agentes terapéuticos que previenen la degradación de cartílago es de gran interés, puesto que OA y AR afectan a millones de personas en todo el mundo con una incidencia esperada que sube con el incremento de la edad promedio de la población.

55 La degradación de cartílago que se da en OA y AR es el resultado de la escisión enzimática de sus componentes estructurales. El cartílago principalmente está constituido por condrocitos y una matriz extracelular (MEC) que consiste en proteoglicanos (principalmente agrecano), colágenos y agua. Dentro de la matriz, la interacción entre

agrecano, ácido hialurónico (AH) y colágeno Tipo II proporciona el cartílago con compresibilidad y elasticidad única, propiedades biomecánicas para las funciones de soporte de peso y movimiento de la articulación. El agrecano consiste en tres regiones globulares: G1 y G2 cerca del terminal N de la proteína y G3 en el terminal C. Las regiones G1 y G2 están separadas por un dominio interglobular (IGD) corto mientras que las regiones G2 y G3 están separadas por una región de unión a glicosaminoglicano (GAG) larga. El dominio G1 constituye, a través de una proteína auxiliar, la región de unión de agrecano a AH. La región de unión a GAG del agrecano proporciona la alta densidad de carga aniónica necesaria para unir agua y conferir al cartílago sus propiedades osmóticas únicas necesarias para garantizar su funcionalidad. Por lo tanto, entender los mecanismos bioquímicos que conducen a la escisión del agrecano ayudará en el desarrollo de las terapias adecuadas para bloquear o controlar la enfermedad de la OA. La pérdida de integridad de cartílago en artritis está asociada con la integridad afectada del agrecano debido a la escisión proteolítica de la proteína. Las agrecanasas (principalmente la agrecanasa-2, también denominada ADAMTS-5 y la agrecanasa-1, también denominada ADAMTS-4), recientemente se identificaron por estar entre las enzimas clave para la degradación de cartílago. En particular, las publicaciones Glasson y col., 2005. *Nature*. 434:644-648) y Stanton y col., 2005. *Nature*. 434:648-652), demostraron que ADAMTS-5 juega un papel fundamental en los cambios patológicos de articulación asociados con dos modelos de OA y de AR en ratón. Tanto ADAMTS-4 como -5 son glutamil endopeptidasas y escinden agrecano en cinco sitios específicos: enlaces Glu373-Ala374 (dominio interglobular IGD), Glu1545-Gly1546, Glu1714-Gly1715, Glu1819-Ala1820 y Glu1919-Leu1920 (secuencia humana), dando como resultado la destrucción de cartílago.

ADAMTS-4 (Fig. 1, SEQ ID NO: 1) y ADAMTS-5 (Fig. 1, SEQ ID NO: 2) humanas son metaloproteinasas multidominio secretadas desde la célula dentro del espacio extracelular. Ambas enzimas tienen una disposición de dominio similar que consiste en una secuencia señal (SS), un prodominio (Pro), un dominio de metaloproteinasas catalítica (Cat), un dominio de desintegrina (Dis), un dominio de trombospondina tipo I (TS), un dominio rico en cisteína (CysR), y un dominio espaciador (Sp). Además, ADAMTS-5 contiene un dominio TS extra después del dominio espaciador. Todas las regiones de dominio anteriormente mencionadas fuera del dominio catalítico, juegan papeles significativos en el reconocimiento y procesamiento de los sustratos de proteína naturales, se califican "exositio".

Se demuestra, por ejemplo, que los dominios Sp y CysR de las agrecanasas contienen motivos (motif) de unión a GAG que modulan la afinidad de las proteinasas con sus sustratos (Kashiwagi y col., 2004, *J. Biol. Chem.* 279:10.109-10.119), (Gendron y col., 2007, *J. Biol. Chem.* 282:18.294-18.306); (Flannery, *Curr.* 11:614-619); (Zeng y col., 2006, *Biochim Biophys Acta.* 1.760:517-524).

Por tanto, ha ido creciendo el interés en el desarrollo de inhibidores de ADAMTS-4 y -5 para el tratamiento de OA y/o AR. Se han desarrollado numerosos inhibidores de metaloproteinasas, y varios se ensayaron clínicamente en pacientes con cáncer (Zucker y col., 2000. *Oncogene*. 19:6.642-6.650) y artritis reumatoide (Milner y Cawston, 2005. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*. 4:363-375), pero fallaron en mostrar eficacia y mostraron efectos secundarios tales como dolor musculoesquelético y trombocitopenia leve (Zucker y col., 2000. *Oncogene*. 19:6.642-6.650). Estos fallos se cree que se deben a la falta de selectividad de los inhibidores e inhibición de metaloproteinasas fuera de diana (off-target) biológicamente importantes y otros efectos. Por tanto, la selectividad es un prerrequisito para los inhibidores terapéuticos no tóxicos. Un modo de incrementar la selectividad frente a metaloproteinasas específicas es generar unión alostérica o a exositio. Los inhibidores que se unen a un exositio de enzima podrían bloquear la interacción con sustratos naturales de la MEC y podrían ser una alternativa atractiva para activar los inhibidores dirigidos a sitio activos porque pueden ser altamente específicos y bloquear eficazmente la hidrólisis solamente del sustrato diana, minimizando así *in vivo* los efectos secundarios (Troeborg y col., 2008. *Faseb J.* 22:3.515-3.524).

La solicitud WO 2011/002968 describe un anticuerpo capaz de unirse tanto al dominio catalítico como al dominio de desintegrina de ADAMTS-5 humana. Los documentos WO 01/11074 y WO 00/53774 describen una proteína ADAMTS-5 y generalmente se refieren a anticuerpo frente a dicha proteína.

Descripción de la invención

En la presente invención, los autores aislaron anticuerpos que reconocen y se unen a un epitopo comprendido en el dominio espaciador de ADAMTS-5 (denominado anticuerpos anti-Sp_ADAMTS-5). Los anticuerpos son útiles para las aplicaciones terapéuticas en humanos. Generalmente, los anticuerpos son completamente humanos o quiméricos o humanizados para minimizar el riesgo de respuestas inmunes frente a los anticuerpos cuando se administran a un paciente. Tal como se describe en la presente memoria, otras moléculas de unión a antígeno tales como, por ejemplo, fragmentos de anticuerpo de unión a antígeno, derivados de anticuerpo, y moléculas multiespecíficas, pueden ser diseñadas o derivadas de tales anticuerpos. Los anticuerpos de la presente invención manifiestan acción inhibitoria frente a la degeneración de matriz de cartílago, controlan la producción de enzima degradadora de matriz de cartílago y mejoran la síntesis de matriz de cartílago, tratan y/o previenen así la degradación de cartílago. Por lo tanto, el anticuerpo se puede usar en el tratamiento y/o prevención de una afección asociada con la degradación de cartílago. Tal afección incluye osteoartritis (OA), artritis reumatoide (AR), gota, artritis psoriática, lupus eritematoso sistémico, artritis séptica, polimialgia reumática, espondilitis enquistante, pseudogota, polimiositis, fibromialgia o enfermedad de Lyme.

En particular, los anticuerpos de la presente invención, se pueden usar para tratar y/o prevenir la enfermedad clasificada dentro de la fase temprana a la fase avanzada de OA y AR. Cada fase desde la fase inicial a la fase avanzada de OA está clasificada de acuerdo con la clasificación de OARSI y Mankin.

5 En ambas patologías, las enfermedades clasificadas dentro de cualquiera de los grados o puntuaciones anteriormente mencionados están acompañados de la degeneración de cartilago como afección de la enfermedad. Los anticuerpos de la presente invención se pueden usar eficazmente para tratar o prevenir las enfermedades clasificadas dentro de la fase inicial a la fase avanzada de OA y AR.

10 Fragmentos de unión a anticuerpo de tales anticuerpos, así como moléculas que comprenden tales fragmentos de unión a antígeno, incluyendo fragmentos de anticuerpo producidos por ingeniería, derivados de anticuerpo, anticuerpos biespecíficos y otras moléculas multiespecíficas, también están descritos.

Composiciones y kits farmacéuticos u otros artículos que comprenden los anticuerpos de la invención son también parte de la invención.

15 Por lo tanto, es un objetivo de la invención un anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo capaces de reconocer y unirse a un epitopo comprendido en la región de aa 732 a aa 874 de SEQ ID NO. 2 de ADAMTS-5. Preferiblemente el epitopo está comprendido en aa 732 a aa 745 de SEQ ID NO. 2, preferiblemente en aa 746 a aa 763 de SEQ ID NO. 2, preferiblemente en aa 764 a aa 779 de SEQ ID NO. 2, preferiblemente en aa 780 a aa 795 de SEQ ID NO. 2, preferiblemente en aa 796 a aa 811 de SEQ ID NO. 2, preferiblemente en aa 812 a aa 827 de SEQ ID NO. 2, preferiblemente en aa 828 a aa 843 de SEQ ID NO. 2, preferiblemente en aa 844 a aa 859 de SEQ ID NO. 2, preferiblemente en aa 860 a aa 874 de SEQ ID NO. 2. Aun preferiblemente, el epitopo está comprendido en la región aa 757 a aa 771 de SEQ ID NO. 2.

20 Preferiblemente, el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo como se han descrito anteriormente comprenden al menos una secuencia de aminoácidos de la región determinante de complementariedad de la cadena pesada (CDRH3) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 62, 65, 68, 71, 74, 77, 80, 83, 86, 89 y 92.

25 Preferiblemente, el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo como se han descrito anteriormente comprenden una secuencia de aminoácidos de la región determinante de complementariedad de la cadena pesada (CDRH2) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 61, 64, 67, 70, 73, 76, 79, 82, 85, 88 y 91.

30 Preferiblemente, el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo de la invención comprenden además una secuencia de aminoácidos de la región determinante de complementariedad de la cadena pesada (CDRH1) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 60, 63, 66, 69, 72, 75, 78, 81, 84, 87 y 90.

35 En una realización preferida, el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo como se han descrito anteriormente comprenden además al menos una secuencia de aminoácidos de la región determinante de complementariedad de la cadena ligera (CDRL3) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 29, 32, 35, 38, 41, 44, 47, 50, 53, 56 y 59.

40 En una realización preferida, el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo de la invención comprenden además una secuencia de aminoácidos de la región determinante de complementariedad de la cadena ligera (CDRL2) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 28, 31, 34, 37, 40, 43, 46, 49, 52, 55 y 58.

45 En una realización preferida, el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo como se han descrito anteriormente comprenden además una secuencia de aminoácidos de la región determinante de complementariedad de la cadena ligera (CDRL1) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 27, 30, 33, 36, 39, 42, 45, 48, 51, 54 y 57.

50 Preferiblemente, el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo de la invención comprenden una secuencia de aminoácidos de las regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (CDRH1) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 60, 63, 66, 69, 72, 75, 78, 81, 84, 87 y 90 y una secuencia de aminoácidos de las regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (CDRH2) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 61, 64, 67, 70, 73, 76, 79, 82, 85, 88 y 91 y una secuencia de aminoácidos de las regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (CDRH3) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 62, 65, 68, 71, 74, 77, 80, 83, 86, 89 y 92.

55 En una realización preferida, el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo como se han descrito anteriormente comprenden además una secuencia de aminoácidos de las regiones

5 determinantes de complementariedad de la cadena ligera (CDRL1) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 27, 30, 33, 36, 39, 42, 45, 48, 51, 54 y 57 y una secuencia de aminoácidos de las regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (CDRL2) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 28, 31, 34, 37, 40, 43, 46, 49, 52, 55 y 58 y una secuencia de aminoácidos de las regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (CDRL3) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 29, 32, 35, 38, 41, 44, 47, 50, 53, 56 y 59.

10 En una realización aún preferida, el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo como se han descrito anteriormente comprenden una secuencia de aminoácidos de CDRH1 que tiene al menos 80% de identidad con SEQ ID NO. 60, una secuencia de aminoácidos de CDRH2 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 61 y una secuencia de aminoácidos de CDRH3 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 62.

15 En una realización aún preferida, el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo de la invención comprenden además una secuencia de aminoácidos de CDRL1 que tiene al menos 80% de identidad con SEQ ID NO. 27, una secuencia de aminoácidos de CDRL2 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 28 y una secuencia de aminoácidos de CDRL3 que tienen al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 29.

20 En una realización aún preferida, el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo como se han descrito anteriormente comprenden una secuencia de aminoácidos de CDRH1 que tiene al menos 80% de identidad con SEQ ID NO. 81, una secuencia de aminoácidos de CDRH2 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 82 y una secuencia de aminoácidos de CDRH3 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 83. En una realización aún preferida, el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo de la invención comprenden además una secuencia de aminoácidos de CDRL1 que tiene al menos 80% de identidad con SEQ ID NO. 48, una secuencia de aminoácidos de CDRL2 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 49 y una secuencia de aminoácidos de CDRL3 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 50.

30 Preferiblemente, el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo de la invención comprenden una secuencia de aminoácidos de CDRH1 que tiene al menos 80% de identidad con SEQ ID NO. 87, una secuencia de aminoácidos de CDRH2 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 88 y una secuencia de aminoácidos de CDRH3 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 89. Aún preferiblemente, el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo comprenden además una secuencia de aminoácidos de CDRL1 que tiene al menos 80% de identidad con SEQ ID NO. 54, una secuencia de aminoácidos de CDRL2 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 55 y una secuencia de aminoácidos de CDRL3 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 56.

35 Preferiblemente, el anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo se seleccionan entre el grupo que consiste en un anticuerpo que comprende:

40 a) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 69, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 70, una CDRH3 que consiste en SEQ ID NO. 71, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 36, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 37, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 38;

b) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 72, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 73, una CDRH3 que consiste en SEQ ID NO. 74, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 39, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 40, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 41;

45 c) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 75, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 76, una CDRH3 que consiste en SEQ ID NO. 77, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 42, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 43, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 44;

d) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 78, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 79, una CDRH3 que consiste en SEQ ID NO. 80, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 45, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 46, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 47;

50 e) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 81, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 82, una CDRH3 que consiste en SEQ ID NO. 83, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 48, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 49, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 50;

55 f) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 84, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 85, una CDRH3 que consiste en SEQ ID NO. 86, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 51, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 52, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 53;

g) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 87, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 88, una CDRH3 que

consiste en SEQ ID NO. 89, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 54, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 55, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 56;

5 h) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 90, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 91, una CDRH3 que consiste en SEQ ID NO. 92, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 57, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 58, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 59.

El anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según la reivindicación 1 también se seleccionan entre el grupo que consiste en un anticuerpo que comprende:

10 a) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 60, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 61, una CDRH3 que consiste en SEQ ID NO. 62, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 27, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 28, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 29;

b) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 63, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 64, una CDRH3 que consiste en SEQ ID NO. 65, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 30, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 31, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 32;

15 c) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 66, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 67, una CDRH3 que consiste en SEQ ID NO. 68, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 33, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 34, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 35.

En la presente invención "al menos 80 % de identidad" significa que la identidad puede ser al menos del 80 % o al menos del 85 % o 90 % o 95 % o 100 % de identidad de secuencia con las secuencias referidas.

20 Preferiblemente, el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo como se han descrito anteriormente son un anticuerpo quimérico o uno humanizado, o uno desinmunizado o uno completamente humano.

Es un objetivo adicional de la invención, el anticuerpo, recombinante o sus fragmentos de unión a antígeno como se han descrito anteriormente para su uso médico. Preferiblemente, para su uso en el tratamiento y/o prevención de una afección asociada con la degradación de cartílago, tal como osteoartritis y/o artritis reumatoide.

25 Es un objetivo adicional de la invención una molécula de ácidos nucleicos que codifica el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo como se han definido anteriormente. Preferiblemente, la molécula de ácidos nucleicos que codifica el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo de la invención comprende al menos una secuencia de ácidos nucleicos seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO. 99 a SEQ ID NO. 120. Preferiblemente, el ácido nucleico comprende al menos una de las siguientes secuencias: SEQ ID NO: 99, 100, 113, 114, 117 y 118.

30 Es un objetivo adicional de la invención un vector de expresión que codifica el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo de la invención.

35 Es un objetivo adicional de la invención una célula hospedante que comprende el ácido nucleico como se ha descrito anteriormente. Preferiblemente, la célula hospedante produce el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo.

Es un objetivo adicional de la invención un método de producción del anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo de la invención que comprende cultivar la célula que produce el anticuerpo como anteriormente se describe y recuperar el anticuerpo del cultivo celular.

40 Es otro objetivo de la invención una composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo como se han descrito anteriormente y excipientes farmacéuticamente aceptables. La composición comprende una cantidad eficaz de anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo. Las composiciones farmacéuticas son convencionales en este campo y pueden estar producidas por expertos en la técnica solo en base al conocimiento general común. Composiciones farmacéuticas que comprenden el anticuerpo y/o un fragmento y/o un derivado recombinante y/o un conjugado del mismo en mezcla con al menos un excipiente y/o vehiculizante farmacéuticamente aceptable están incluidas en el alcance de la presente invención.

En una realización preferida, la composición de acuerdo con la invención es para su uso en la administración intraarticular.

50 Es también un objetivo de la invención el anticuerpo para su uso en un método de tratamiento y/o prevención de una afección asociada con degradación de cartílago, tal como osteoartritis, artritis reumatoide y otras formas de artritis que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo como se han descrito anteriormente. También es un objetivo de la invención el anticuerpo para su uso en un método para tratar y/o prevenir la destrucción de articulación, para el tratamiento y/o prevención de enfermedades autoinmunes y/o inflamatorias que comprende administrar una cantidad eficaz

terapéutica del anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo como se han descrito anteriormente.

5 Es un objetivo de la invención un método de reducción y/o inhibición de ADAMTS-5 que comprende administrar una cantidad eficaz del anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo como se han descrito anteriormente.

10 En la presente invención, los mutantes de las CDRs descritas pueden estar generados por mutación de uno o más aminoácidos en la secuencia de las CDRs. Se sabe que una sustitución de aminoácidos sencilla apropiadamente colocada en una CDR puede ser suficiente para mejorar la afinidad. Los investigadores han usado mutagénesis dirigida a sitio para incrementar la afinidad de algunos productos de inmunoglobulina aproximadamente 10 veces. Este método de incremento o disminución (es decir, modulación) de la afinidad de los anticuerpos por mutación de CDRs es un conocimiento común (véase, por ejemplo, Paul, W.E., 1993). Por tanto, la sustitución, delección o adición de aminoácidos a las CDRs de la invención para incrementar o disminuir (es decir, modular) la afinidad de unión o la especificidad también está dentro del alcance de esta invención.

15 Para ser breve, el anticuerpo preferido según la presente invención se identificará con el nombre CRB0017 (que comprende SEQ ID NO. 3 y SEQ ID NO. 4), CRB0102 (que comprende SEQ ID NO. 17 y SEQ ID NO. 18) y CBR0123 (que comprende SEQ ID NO. 21 y SEQ ID NO. 22) tal como se indica en la Tabla III. Aunque la presente invención está enfocada a tales anticuerpos, a modo de ejemplo de la presente invención, un experto en la técnica apreciará que, una vez dada la presente descripción, otros anticuerpos similares, y fragmentos de anticuerpo de los mismos, así como los fragmentos de anticuerpo de estos anticuerpos similares se pueden producir y usar dentro del alcance de la presente invención. Tales anticuerpos similares se pueden producir mediante una cantidad razonable de la experimentación por un experto en la técnica.

20 Aún preferiblemente, el anticuerpo es scFv, un fragmento Fv, un fragmento Fab, un fragmento F(ab)₂, un anticuerpo multimérico, un péptido o un fragmento proteolítico que contiene la región de unión a epitopo. Preferiblemente el fragmento scFv comprende una secuencia seleccionada entre el grupo de SEQ ID NO. 125 a 132 y SEQ ID NO. 135, 136, 137.

Es un objetivo adicional de la presente invención un ácido nucleico que codifica el anticuerpo o sus derivados funcionales del mismo de la invención, o que hibrida con el anterior ácido nucleico, o que consiste de una secuencia degenerada del mismo.

30 El proceso para la preparación del anticuerpo monoclonal está dentro de las habilidades del experto en la técnica y comprende cultivar la célula hospedante e aislar el anticuerpo según los procedimientos estándar.

Por lo que respecta a los aspectos industriales de la presente invención, el anticuerpo descrito en la presente memoria se formulará adecuadamente en las composiciones farmacéuticas como normalmente se hace en este campo de la técnica.

35 Los anticuerpos de la presente invención pueden comprender al menos una CDRH como se ha definido anteriormente que contiene una o más sustituciones de aminoácidos, delecciones o inserciones de no más de 4 aminoácidos, preferiblemente de no más de 2 aminoácidos. Los anticuerpos de la presente invención además pueden comprender al menos una CDRL como se ha definido anteriormente que contiene una o más sustituciones de aminoácidos, delecciones o inserciones de no más de 4 aminoácidos, preferiblemente de no más de 2 aminoácidos.

40 Los anticuerpos de la invención compiten por unirse a ADAMTS-5. El método para tratar o prevenir una afección asociada con degradación de cartílago, comprende administrar a un paciente en necesidad de la misma una cantidad de al menos un anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo como se han descrito anteriormente. En algunos aspectos, la invención comprende un método de inhibición de la unión de ADAMTS-5 a agrecano en un sujeto que comprende administrar una cantidad eficaz de al menos un anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo como se han descrito anteriormente.

Los anticuerpos, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo de la invención se unen selectivamente a ADAMTS-5, preferiblemente con una K_d que es ≤ 2 nM.

50 En algunos aspectos, la invención comprende el anticuerpo para su uso en el método para tratar o prevenir una afección asociada con degradación de cartílago en un sujeto, comprendiendo el método administrar a un sujeto en necesidad de la misma una cantidad eficaz de al menos un anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo de la invención simultánea o secuencialmente con un agente que bloquea específicamente el dolor.

55 El anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo de la invención son anticuerpos neutralizantes (es decir, un anticuerpo que reduce o suprime la actividad biológica del antígeno relacionado) que se une a ADAMTS-5 y reduce la probabilidad de que ADAMTS-5 se una a agrecano.

Preferiblemente, el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo de la invención se unen a ADAMTS-5 en una posición dentro de los residuos 732-734 de SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo de la invención, cuando se unen a ADAMTS-5, están colocados 8 angstroms o menos desde al menos uno de los siguientes residuos de ADAMTS-5:

5 T732, K733, I734, V735, G736, T737, F738, N739, K740, K741, S742, K743, G744, Y745, T746, D747, V748, V749, R750, I751, P752, E753, G754, A755, T756, H757, I758, K759, V760, R761, Q762, F763, K764, A765, K766, D767, Q768, T769, R770, F771, T772, A773, Y774, L775, A776, L777, K778, K779, K780, N781, G782, E783, Y784, L785, I786, N787, G788, K789, Y790, M791, I792, S793, T794, S795, E796, T797, I798, I799, D800, I801, N802, G803, T804, V805, M806, N807, Y808, S809, G810, W811, S812, H813, R814, D815, D816, F817, L818, H819, G820, M821, G822, Y823, S824, A825, T826, K827, E828, I829, L830, I831, V832, Q833, I834, L835, A836, T837, D838, P839, T840, K841, P842, L843, D844, V845, R846, Y847, S848, F849, F850, V851, P852, K853, K854, S855, T856, P857, K858, V859, N860, S861, V862, T863, S864, H865, G866, S867, N868, K869, V870, G871, S872, H873 o T874.

En algunas realizaciones, el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo de la invención bloquean un anticuerpo a ADAMTS-5 de la unión dentro de 8 angstroms de un residuo de ADAMTS-5. En algunas realizaciones el residuo de ADAMTS-5 está seleccionado entre al menos uno de los siguientes residuos de ADAMTS-5: T732, K733, I734, V735, G736, T737, F738, N739, K740, K741, S742, K743, G744, Y745, T746, D747, V748, V749, R750, I751, P752, E753, G754, A755, T756, H757, I758, K759, V760, R761, Q762, F763, K764, A765, K766, D767, Q768, T769, R770, F771, T772, A773, Y774, L775, A776, L777, K778, K779, K780, N781, G782, E783, Y784, L785, I786, N787, G788, K789, Y790, M791, I792, S793, T794, S795, E796, T797, I798, I799, D800, I801, N802, G803, T804, V805, M806, N807, Y808, S809, G810, W811, S812, H813, R814, D815, D816, F817, L818, H819, G820, M821, G822, Y823, S824, A825, T826, K827, E828, I829, L830, I831, V832, Q833, I834, L835, A836, T837, D838, P839, T840, K841, P842, L843, D844, V845, R846, Y847, S848, F849, F850, V851, P852, K853, K854, S855, T856, P857, K858, V859, N860, S861, V862, T863, S864, H865, G866, S867, N868, K869, V870, G871, S872, H873 o T874.

Preferiblemente, el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo de la invención se unen a ADAMTS-5 en una localización que se solapa con una localización en la que el agrecano se une a ADAMTS-5.

Preferiblemente, el anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo de la invención reducen la probabilidad de que el agrecano se una a ADAMTS-5 dentro de 8 angstroms de al menos uno de los siguientes residuos de ADAMTS-5: T732, K733, I734, V735, G736, T737, F738, N739, K740, K741, S742, K743, G744, Y745, T746, D747, V748, V749, R750, I751, P752, E753, G754, A755, T756, H757, I758, K759, V760, R761, Q762, F763, K764, A765, K766, D767, Q768, T769, R770, F771, T772, A773, Y774, L775, A776, L777, K778, K779, K780, N781, G782, E783, Y784, L785, I786, N787, G788, K789, Y790, M791, I792, S793, T794, S795, E796, T797, I798, I799, D800, I801, N802, G803, T804, V805, M806, N807, Y808, S809, G810, W811, S812, H813, R814, D815, D816, F817, L818, H819, G820, M821, G822, Y823, S824, A825, T826, K827, E828, I829, L830, I831, V832, Q833, I834, L835, A836, T837, D838, P839, T840, K841, P842, L843, D844, V845, R846, Y847, S848, F849, F850, V851, P852, K853, K854, S855, T856, P857, K858, V859, N860, S861, V862, T863, S864, H865, G866, S867, N868, K869, V870, G871, S872, H873 o T874.

La invención proporciona formulaciones que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo como se describe en la presente memoria, un tampón que mantiene el pH en el intervalo de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 6,5, y, opcionalmente, un tensioactivo.

Las formulaciones generalmente son para un anticuerpo como se describe en la presente memoria, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo de la invención como concentración del principio activo de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 100 mg/ml. En ciertas realizaciones, la concentración de anticuerpo, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo es de aproximadamente 0,1 mg/ml a 1 mg/ml; preferiblemente de 1 mg/ml a 10 mg/ml, preferiblemente de 10 a 100 mg/ml.

Para los propósitos del presente documento, una "composición farmacéutica" es una que se adapta y es adecuada para la administración a un mamífero, especialmente un ser humano. Por tanto, la composición se puede usar para tratar una enfermedad o trastorno en el mamífero. Además, el anticuerpo en la composición ha sido sometido a una o más etapas de purificación o aislamiento, de manera que el(los) contaminante(s) que pudiera(n) interferir con su uso terapéutico se ha(n) separado del mismo.

Generalmente, la composición farmacéutica comprende la proteína terapéutica y un vehículo o diluyentes farmacéuticamente aceptables. La composición es normalmente estéril y puede estar liofilizada. Las preparaciones farmacéuticas están descritas a más detalle más adelante.

Las formulaciones terapéuticas de anticuerpo/anticuerpos se pueden preparar mezclando el anticuerpo que tiene el grado deseado de pureza con vehículos, excipientes o estabilizadores fisiológicamente aceptables (Remington's Pharmaceutical Sciences 16^o Edición, Osol, A. Ed., 1980), en la forma de formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas. Los vehículos, excipientes o estabilizadores aceptables son no tóxicos a destinatarios en las dosificaciones

y concentraciones empleadas, y pueden incluir tampones, antioxidantes, conservantes, péptidos, proteínas, polímeros hidrófilos, agentes quelantes tales como EDTA, azúcares, iones contadores de formación de sal tales como sodio; complejos de metal (por ejemplo, complejos Zn-proteína); y/o tensioactivos no iónicos tales como TWEEN®, PLURONICS® o polietilenglicol (PEG).

- 5 Los principios activos también pueden estar atrapados en microcápsula preparada, por ejemplo, mediante técnicas de coacervación o mediante polimerización interfacial, por ejemplo, microcápsula de hidrometilcelulosa o gelatina y microcápsula de poli-(metilmetacrilato), respectivamente, en sistemas de reparto de fármaco coloidales (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Tales técnicas están descritas en *Remington's Pharmaceutical Sciences* 16ª edición, Osol, A. Ed., 1980). Las formulaciones a usar para la administración *in vivo* deben ser estériles. Esto se consigue fácilmente por filtración a través de membranas de filtración estériles.

- 15 En otra realización, para la prevención o tratamiento de enfermedad, la dosificación apropiada de anticuerpo/anticuerpos anti-Sp_ADAMTS-5 de la presente invención, dependerá del tipo de enfermedad a tratar, la gravedad y el curso de la enfermedad, si el anticuerpo se administra con fines preventivos o terapéuticos, terapia previa, el historial clínico del paciente y la respuesta al anticuerpo, y el criterio del médico que atiende. El anticuerpo se administra adecuadamente al paciente de una vez o durante una serie de tratamientos. Dependiendo del tipo y la gravedad de la enfermedad, aproximadamente 1 µg/kg a 15 mg/kg de anticuerpo o fragmento del mismo es una dosificación candidata inicial para la administración al paciente, sea, por ejemplo, mediante una o más administraciones separadas, o mediante infusión continua. Para administraciones repetidas durante varios días o más, dependiendo de la afección, el tratamiento se mantiene hasta que se da una supresión deseada de los síntomas de la enfermedad. Sin embargo, otros regímenes de dosificación pueden ser útiles. El progreso de esta terapia es fácilmente seguido por técnicas y ensayos convencionales.

- 25 La composición del anticuerpo se debería formular, dosificar y administrar de una manera consecuente con la buena práctica médica. Los anticuerpos/derivados de la presente invención se pueden administrar mediante cualquier vía apropiada. Esto incluye (pero no se limita a) administración intraperitoneal, intramuscular, intravenosa, subcutánea, intraarticular, intratraqueal, oral, enteral, perenteral, intranasal o dérmica. Un modo preferido de administración es la vía intraarticular. Factores para considerar en este contexto incluyen el trastorno particular a tratar, el mamífero particular a tratar, la condición clínica del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de reparto del agente, el método de administración, el horario de administración, y otros factores conocidos por los médicos. La "cantidad terapéuticamente eficaz" del anticuerpo a administrar estará gobernada por tales consideraciones y es la cantidad mínima necesaria para prevenir, mejorar, o tratar una enfermedad o trastorno. El anticuerpo no necesita estar, pero está opcionalmente formulado con uno o más agentes actualmente usados para prevenir o tratar el trastorno en cuestión. La cantidad eficaz de tales otros agentes depende de la cantidad de anticuerpo presente en la formulación, el tipo de trastorno o tratamiento y otros factores anteriormente discutidos.

- 35 El término "anticuerpo" en la presente memoria se usa en el más amplio sentido y abarca diversas estructuras de anticuerpo, que incluyen, pero no se limitan, a anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos), y fragmentos de anticuerpo siempre que muestren la actividad de unión a anticuerpo deseada.

- 40 Un "fragmento de anticuerpo" se refiere a una molécula a parte de un anticuerpo intacto que comprende una porción de un anticuerpo intacto que se une al antígeno al cual se une el anticuerpo intacto. Ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen, pero no se limitan, a Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; diacuerpos; anticuerpos lineales, moléculas de anticuerpo de cadena simple (por ejemplo, scFv); y anticuerpos multiespecíficos formados de fragmentos de anticuerpo.

- 45 Un "anticuerpo que se une al mismo epitopo" como anticuerpo de referencia se refiere a un anticuerpo que bloquea la unión del anticuerpo de referencia a su antígeno en un ensayo de competición mediante el 50 % o más, y a la inversa, el anticuerpo de referencia bloquea la unión a su antígeno en un ensayo de competición mediante el 50 % o más. Un ensayo de competición como ejemplo está proporcionado en la presente memoria.

- 50 El término anticuerpo "quimérico" se refiere a un anticuerpo en el cual una porción de la cadena pesada y/o ligera está derivada de una fuente o especie particular, mientras que el resto de la cadena pesada y/o ligera está derivada de una fuente o especie diferente.

- 55 La "clase" de un anticuerpo se refiere al tipo de dominio constante o región constante poseídos por su cadena pesada. Hay cinco clases fundamentales de anticuerpos: IgA, IgD, IgE, IgG y IgM, y varias de estas pueden dividirse más en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 y IgA2. Los dominios constantes de la cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulinas se denominan [alfa], [delta], [épsilon], [gamma] y [mu], respectivamente.

El término "región Fc" en la presente memoria se usa para definir una región C terminal de una cadena pesada de inmunoglobulina que contiene al menos una porción de la región constante. El término incluye las regiones Fc de la secuencia nativa y las regiones Fc variantes. Al menos que se especifique lo contrario en la presente memoria, la

numeración de los residuos de aminoácidos en la región Fc o región constante es según el sistema de numeración de EU, también denominado índice EU, como se describe en Kabat y col., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5^o Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991.

La “región estructural (Framework)” o “FR” se refiere a los residuos de dominio variables aparte de los residuos de la región hipervariable (HVR). La FR de un dominio variable generalmente consiste en cuatro dominios FR: FR1, FR2, FR3 y FR4. Por consiguiente, las secuencias HVR y FR generalmente aparecen en la siguiente secuencia en VH (o VL): FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4. Los términos “anticuerpo de longitud completa”, “anticuerpo intacto”, y “anticuerpo entero” se usan en la presente memoria de manera intercambiable para referirse a un anticuerpo que tiene una estructura básicamente similar a una estructura de anticuerpo nativa o que tiene cadenas pesadas que contienen una región Fc como se define en la presente memoria.

Los términos “célula hospedante”, “línea celular hospedante” y “cultivo de célula hospedante” se usan de manera intercambiable y se refieren a células dentro de las cuales se ha introducido ácido nucleico exógeno, incluyendo la progenie de tales células. Células hospedantes incluyen “transformantes” y “células transformadas”, que incluyen la célula transformada primaria y la progenie derivada de la misma sin consideración del número de pasos. La progenie no puede ser completamente idéntica en contenido de ácidos nucleicos a una célula madre, pero puede contener mutaciones. Progenie mutante que tiene la misma función o actividad biológica que la cribada o seleccionada en la célula originalmente transformada está incluida en la presente memoria. Un “anticuerpo humano” es uno que posee una secuencia de aminoácidos que corresponde al de un anticuerpo producido por un ser humano o una célula humana o derivada de una fuente no humana que utiliza repertorios de anticuerpo humano u otras secuencias codificadoras de anticuerpo humano. Esta definición de un anticuerpo humano excluye específicamente un anticuerpo humanizado que comprende residuos de unión a antígeno no humanos.

Una “región estructural consenso humana” es una región estructural que representa los residuos de aminoácidos que se dan más comúnmente en una selección de secuencias de región estructural VL o VH de inmunoglobulina humana. Generalmente, la selección de las secuencias VL o VH de inmunoglobulina humana es entre un subgrupo de secuencias de dominio variables. Generalmente, el subgrupo de secuencias es un subgrupo como en Kabat y col., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Quinta edición, NIH Publication 91-3.242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3.

Un anticuerpo “humanizado” se refiere a un anticuerpo quimérico que comprende residuos de aminoácidos de HVRs no humanas y residuos de aminoácidos de FRs humanas. En ciertas realizaciones, un anticuerpo humanizado comprenderá básicamente todos de al menos uno, generalmente dos, dominios variables, en los cuales todas o básicamente todas de las HVRs (por ejemplo, CDRs) corresponden a aquellas de un anticuerpo no humano, y todas o básicamente todas de las FRs corresponden a aquellas de un anticuerpo humano. Un anticuerpo humanizado opcionalmente puede comprender al menos una porción de una región constante de anticuerpo derivada de un anticuerpo humano. Una “forma humanizada” de un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo no humano, se refiere a un anticuerpo que se ha sometido a humanización.

Un anticuerpo “desinmunizado” es un anticuerpo con inmunogenicidad reducida basado en la interrupción de la unión a HLA, un requerimiento subyacente para la estimulación de linfocito T.

El término “región hipervariable” o “HVR”, como se usa en la presente memoria se refiere a cada una de las regiones de un dominio variable del anticuerpo que son hipervariables en secuencia y/o forman estructuralmente horquillas definidas (“horquillas hipervariables”). Generalmente, los anticuerpos de cuatro cadenas nativos comprenden seis HVRs; tres en la VH (H1, H2, H3), y tres en la VL (L1, L2, L3). HVRs generalmente comprenden residuos de aminoácidos de las horquillas hipervariables y/o de las “regiones determinantes de complementariedad” (CDRs), siendo éstas de la más alta variabilidad de secuencia y/o implicadas en reconocimiento de antígeno. Horquillas hipervariables como ejemplo se dan en los residuos de aminoácidos 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2) y 96-101 (H3) (Clothia y Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917, 1987). CDRs como ejemplo (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3) se dan en los residuos de aminoácidos 24-34 de L1, 50-56 de L2, 89-97 de L3, 31-35B de H1, 50-65 de H2 y 95-102 de H3 (Kabat y col., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5^o Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991). Con la excepción de CDR1 en VH, CDRs generalmente comprenden los residuos de aminoácidos que forman las horquillas hipervariables. CDRs también comprenden “residuos determinantes de especificidad”, o “SDRs”, que son residuos que contactan con el antígeno. SDRs están contenidas en regiones de las CDRs denominadas CDRs abreviadas, o a-CDRs. a-CDRs como ejemplo (a-CDR-L1, a-CDR-L2, a-CDR-L3, a-CDR-H1, a-CDR-H2 y a-CDR-H3) se dan en residuos de aminoácidos 31-34 de L1, 50-55 de L2, 89-96 de L3, 31-35B de H1, 50-58 de H2, y 95-102 de H3 (Véase Almagro y Fransson, *Front. Biosci.* 13:1.619-1.633, 2008). Al menos que se indique lo contrario, los residuos HVR y otros residuos en el dominio variable (por ejemplo, residuos FR) se enumeran en la presente memoria de acuerdo con Kabat y col.

El término “anticuerpo monoclonal” como se usa en la presente memoria se refiere a un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos básicamente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos y/o se unen al mismo epítipo, excepto para posibles anticuerpos variantes, por ejemplo, que contienen mutaciones que se dan de manera natural o que surgen durante la producción de una preparación de

anticuerpo monoclonal, estando tales variantes generalmente presentes en cantidades menores. Al contrario que las preparaciones de anticuerpo policlonal, que normalmente incluyen diferentes anticuerpos dirigidos a diferentes determinantes (epitopos), cada anticuerpo monoclonal de una preparación de anticuerpo monoclonal está dirigida a un determinante único sobre un antígeno. Por tanto, el modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo a obtener de una población básicamente homogénea de anticuerpos, y no es para ser construido requiriendo producción del anticuerpo mediante cualquier método particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales a usar según la presente invención se pueden producir mediante una variedad de técnicas, que incluyen, pero no se limitan, al método de hibridoma, métodos de ADN recombinante, métodos de exposición a fago, y métodos que utilizan animales transgénicos que contienen todos o parte de los loci de la inmunoglobulina humana, tales métodos y otros métodos como ejemplo para producir los anticuerpos monoclonales están siendo descritos en la presente memoria.

El término "folleto" se usa para referirse a las instrucciones habitualmente incluidas en los paquetes comerciales de productos terapéuticos, que contienen información sobre las indicaciones, uso, dosificación, administración, terapia de combinación, contraindicaciones y/o avisos concernientes al uso de tales productos terapéuticos.

"Identidad de secuencia de aminoácidos en porcentaje (%)" con respecto a una secuencia de polipéptido de referencia está definida como el porcentaje de residuos de aminoácidos en una secuencia candidata que son idénticos a los residuos de aminoácidos en la secuencia de polipéptido de referencia, después de alinear las secuencias y los huecos (gaps) de introducción, si es necesario, para conseguir el máximo porcentaje de identidad de secuencia, y sin tener en cuenta ninguna de las sustituciones conservadoras como parte de la identidad de secuencia. El alineamiento con propósito de determinar la identidad de secuencia de aminoácidos en porcentaje se puede conseguir de diversos modos que están dentro de la habilidad de la técnica, por ejemplo, usando un programa informático público tal como el programa BLAST, BLAST-2, ALIGN o Megalign (DNASTAR). Los expertos en la técnica pueden determinar parámetros apropiados para alinear secuencias, incluyendo algún algoritmo necesario para conseguir el alineamiento máximo a lo largo de la longitud completa de las secuencias a comparar.

El término "formulación farmacéutica" se refiere a una preparación que está de tal forma que permite la actividad biológica de un principio activo contenido en la misma para ser eficaz, y que no contiene componentes adicionales que son inaceptablemente tóxicos a un sujeto al cual se administraría la formulación.

Un "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un ingrediente en una formulación farmacéutica, aparte de un principio activo, que es no tóxico a un sujeto. Un vehículo farmacéuticamente aceptable incluye, pero no se limita a, un tampón, excipiente, estabilizador o conservante.

Tal como se usa en la presente memoria, "tratamiento" (y sus variaciones gramaticales tales como "trato" o "tratar") se refiera a intervención clínica en un intento de alterar el curso natural del individuo a tratar, y se puede realizar o bien durante la profilaxis o durante el curso de la patología clínica. Efectos deseables del tratamiento incluyen, pero no se limitan a, prevenir el suceso o recurrencia de la enfermedad, alivio de los síntomas, disminución de alguna consecuencia patológica directa o indirecta, prevenir metástasis, disminuir el índice de progresión de la enfermedad, mejoramiento o paliación del estado de enfermedad, y remisión o prognosis mejorada. En algunas realizaciones, los anticuerpos de la invención se usan para retrasar el desarrollo de una enfermedad o para ralentizar la progresión de una enfermedad.

El término "región variable" o "dominio variable" se refiere al dominio de una cadena pesada o ligera de anticuerpo que está implicada en la unión del anticuerpo al antígeno. Los dominios variables de la cadena pesada y la cadena ligera (VH y VL, respectivamente) de un anticuerpo nativo generalmente tienen estructuras similares, comprendiendo con cada dominio cuatro regiones estructurales conservadas (FRs) y tres regiones hipervariables (HVRs, Véase, por ejemplo, Kindt y col., *Kuby Immunology*, 6^o ed. W.H. Freeman y col. página 91, 2007). Un dominio único de VH o VL puede ser suficiente para conferir especificidad de unión a antígeno. Además, los anticuerpos que se unen a un antígeno particular se pueden aislar usando un dominio VH o VL de un anticuerpo que se une al antígeno para seleccionar una genoteca de los dominios VL o VH complementarios, respectivamente (Véase, por ejemplo, Portolano y col., *J. Immunol.* 150:880-887, 1993; Clarkson y col., *Nature* 352:624-628, 1991).

El término "vector", como se usa en la presente memoria, se refiere a una molécula de ácidos nucleicos capaz de propagar otros ácidos nucleicos a los cuales se une. El término incluye el vector como una estructura de ácidos nucleicos auto-replicante, así como el vector incorporado en el genoma de una célula hospedante en la cual se ha introducido. Ciertos vectores son capaces de dirigir la expresión de los ácidos nucleicos a los que se unen operativamente. Tales vectores se refieren en la presente memoria como "vectores de expresión".

En otro aspecto, el anticuerpo o derivados del mismo comprenden una secuencia del dominio variable de la cadena pesada (VH) que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo de: SEQ ID NO: 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 o 24.

En otro aspecto, el anticuerpo o derivados del mismo comprenden una secuencia del dominio variable de la cadena ligera (VK o VL) que tiene al menos 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o

100 % de identidad de secuencia a una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo de: SEQ ID NO: 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21 o 23.

En ciertas realizaciones, la secuencia VH o la secuencia VK/VL que tienen al menos 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad a dicha SEQ ID NO. contienen sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o deleciones relativas a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-Sp-ADAMTS-5 que comprende esa secuencia retiene la capacidad de unirse al dominio espaciador de ADAMTS-5. En ciertas realizaciones, un total de 1 a 4 aminoácidos han sido sustituidos, insertados y/o delecionados en la secuencia de la CDRH3 tal como en SEQ ID NO. 62. En ciertas realizaciones, las sustituciones, inserciones o deleciones se dan en regiones fuera de las HVRs (es decir, en las FRs).

Preferiblemente, el anticuerpo de la invención es el anticuerpo CRB0017, CRB0102, CRB0123 como se define en la Tabla III.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo o fragmento del mismo de la invención tiene una constante de disociación (Kd) de <100 nM, <10 nM, <1 nM, <0,1 nM, <0,01 nM o <0,001 nM o menos, por ejemplo, de 10^{-8} M a 10^{-13} M, por ejemplo, de 10^{-9} M a 10^{-13} M.

En una realización, Kd se mide por un ensayo de unión a antígeno radiomarcado (RIA) realizado con la versión Fab de un anticuerpo de interés y su antígeno como se describe por el siguiente ensayo. La afinidad de unión a solución de Fabs para antígeno se mide calibrando Fab con una concentración mínima de antígeno (I)-marcado en presencia de una serie de titulaciones de antígeno no marcado, capturando a continuación el antígeno unido con una placa recubierta con anticuerpo anti-Fab (véase, por ejemplo, Chen y col., *J. Mol. Biol.* 293:865-881 (1999)).

La invención se describirá a continuación mediante ejemplos no limitantes en referencia a las siguientes figuras.

Leyendas de las Figuras

Figura 1. Representación esquemática de ADAMTS-4 y ADAMTS-5. Ambas enzimas son metaloproteinasas de multidominio secretadas de la célula dentro del espacio extracelular. Ambas enzimas tienen una disposición de dominio similar que consiste en una secuencia señal (SS), un prodominio (Pro), un dominio de metaloproteinasa catalítica (Cat), un dominio de desintegrina (Dis), un dominio de trombospondina tipo I (TS), un dominio rico en cisteína (CysR), y un dominio espaciador (Sp). Además, ADAMTS-5 contiene un dominio TS extra después del dominio espaciador.

Figura 2. Análisis por transferencia tipo Western de ADAMTS-5 p 75 después de la purificación por FPLC, usando un anticuerpo frente a la etiqueta FLAG de la proteína. Las membranas tipo Western se sondaron con anticuerpo monoclonal que reconoce las proteínas de fusión que contienen una secuencia peptídica FLAG (Sigma Aldrich, Monoclonal ANTI-FLAG M2, dilución 1:1.000). Para la detección que usa sustrato de peroxidasa quimioluminiscente, se empleó un anti-IgG de ratón-peroxidasa (1:10.000). TS5 = células sometidas a transfección de ADAMTS-5; NT = células no sometidas a transfección; M = simulación.

Figura 3. Reactividad ELISA de anti-Sp_ADAMTS-5 scFvs aislados con Espaciador-GST y GST control negativo. Los antígenos espaciador-GST y GST se recubrieron a 10 µg/ml. Anti-Sp_ADAMTS-5 scFvs se usaron a 50 y/o 5 µg/ml (datos no mostrados). La absorbancia media a 450 nm de los experimentos realizados en pocillos por duplicado se muestran con SD indicada por las barras.

Figura 4. ELISA tipo sándwich. Curvas de dilución de CRB001_IgG4 unido a Espaciador-GST y/o GST en solución a 30 µg/ml. Como anticuerpo secundario se usó un anti-GST (1:1.000) seguido de un anti-IgG HRP de conejo (1:2.000) para la dilución final. La absorbancia media a 450 nm de los experimentos realizados en pocillos por duplicado se muestra con SD indicada por las barras.

Figura 5. Análisis cinético de CRB0017_IgG4 que se une a Espaciador-GST en solución usando Biacore X-100. 5610 RU de CRB0017_IgG4 se inmovilizaron sobre CM5 chip. La asociación y la disociación se realizaron para 180s y 800s respectivamente. Las constantes del índice cinético y la afinidad determinadas para la interacción CRB0017_IgG4/Espaciador-GST se muestran en la tabla de a continuación.

Figura 6. Inmunoprecipitación (IP) de la longitud completa de ADAMTS-5 (TS5-FL) por CRB0017_IgG4. 0,1 µg de TS5-FL purificada por afinidad/sometida a diálisis se inmunoprecipitaron (IP) con anticuerpo anti-Sp-ADAMTS-5 CRB0017_IgG4 (11, 22 y 25 µg en la línea 1, 2 y 3 respectivamente) o con 11 µg de anticuerpo no relacionado como control negativo (línea 4). Los inmunoprecipitados se analizaron mediante inmunotransferencia con anticuerpo anti-FLAG (1:1.000). se observó banda de TS5-FL de alrededor 81 kDa inmunoprecipitada con CRB0017_IgG4 que corresponde a la proteína TS5-FL p75. La masa molecular de la proteína TS5-FL inmunoprecipitada es ligeramente mayor a la prevista a partir de su composición de aminoácidos. Esta diferencia es debida a la N-glicosilación en los dominios Dis, CysR, Sp y a la O-glicosilación en el dominio C terminal. Los marcadores de masa molecular están indicados en el lado derecho de la Figura.

Figura 7. IP de la longitud completa de ADAMTS-4 (TS4-FL) por CRB0017_IgG4. Se inmunoprecipitaron (IP) 0,2 µg

de TS4-FL purificada por afinidad/sometida a diálisis con anticuerpo anti-Sp_ADAMTS-5 CRB0017_IgG4 (30 y 60 µg en la línea 1 y 2, respectivamente) o con un anticuerpo no relacionado (30 µg) como control negativo (línea 3). En la línea 4, se cargó TS4-FL purificada por afinidad/sometida a diálisis como control positivo. Se analizaron los inmunoprecipitados mediante inmunoprecipitación con anticuerpo anti-FLAG (1:1.000). Se observó banda de TS5-FL de alrededor 75 kDa inmunoprecipitada con CRB0017_IgG4 que correspondía a la proteína TS4-FL p68. La masa molecular de la proteína TS4-FL inmunoprecipitada es ligeramente mayor que la prevista a partir de su composición de aminoácidos y esto es principalmente debido a la N- y O- glicosilación en la proteína. Los marcadores de masa molecular están indicados en el lado izquierdo de la Figura.

Figura 8. Efecto de anti-Sp_ADAMTS-5 IgG4 en proteólisis *in vitro* de cartílago bovino inducida por IL-1α. La Figura representa la actividad de 5 ng/ml de IL-1α en ausencia o presencia de CRB0017_IgG4 después de 48 h de incubación (tres experimentos independientes diferentes). Como control negativo en cada uno de los experimentos se usó un IgG4 nativo humano (Serotec). Como control positivo en cada experimento se usaron un inhibidor de ADAMTS-5 sintético (Cpd 23) y un inhibidor de ADAMTS-5 natural (TIMP-3). Los resultados se expresan como % de liberación de GAG, es decir, la cuantificación de glicosaminoglicanos (GAGs) en forma de fragmentos de agarosano liberados del cartílago en cultivo; este método mide la eficacia de citoquinina en simular el metabolismo del cartílago.

Figura 9. Evaluación del efecto de la proteína CRB0016_IgG4 de unión a HelixB-ADAMTS-5 en el modelo de ratón STR/ort de osteoartritis. Se administró intraarticularmente CRB0016_IgG4 en ambas rodillas de cada animal, una vez en el inicio del experimento y de nuevo 6 semanas, a dosis de 1,2 y 12 µg/rodilla. Tres meses después de la primera administración, CRB0016_IgG4 no modificó el curso de OA en la cepa de ratón STR/ort, valorado histopatológicamente. El grado está definido como la profundidad de la lesión a través del cartílago articular. La fase está definida como la extensión horizontal de la implicación del cartílago dentro de un lado del compartimento de la articulación independientemente del grado subyacente. Tomándolos en conjunto, ambos constituyen un índice de la gravedad o progresión patológica del proceso osteoartítico, y de hecho la puntuación de OARSI está definida como grado x fase. La pérdida celular está definida como la fracción de condrocitos articulares que se han sometido a muerte celular, dentro del compartimento articular considerado. La pérdida de GAG (glicosaminoglicano) está definida como y valorada por la pérdida de un tinte de catión que presenta metacromasia hacia GAGs, tal como por ejemplo azul de Toluidina o Safranina O. Mankin ha definido su puntuación como la suma de grado, pérdida celular y pérdida de GAG, mientras que la puntuación total está definida como la suma de la puntuación de OARSI y pérdida celular y pérdida de GAG. Todos los anteriores parámetros constituyen características de OA, y su puntuación da una medida de la gravedad y progresión de la patología.

Figura 10. Evaluación del efecto de CRB0017_IgG4 en el modelo de ratón STR/ort de osteoartritis. Se administró intraarticularmente CRB0017_IgG4 en ambas rodillas de cada animal, una vez en el comienzo del experimento y de nuevo 6 semanas, a dosis de 1,2 y 12 µg/rodilla. Tres meses después de la primera administración, CRB0017_IgG4 mostró una actividad dependiente de la dosis en la reducción de la gravedad de OA en el modelo de ratón STR/ort. Todos los parámetros están definidos como en la Fig. 9.

Descripción detallada de la invención

Descripción de las secuencias

SEQ ID NO:1: ATS4_HUMANA Una desintegrina y metaloproteinasas con motivos de trombospondina 4 (UniProtKB/Swiss-Prot: 075173.3)

SEQ ID NO:2: ATS5_HUMANA Una desintegrina y metaloproteinasas con motivos de trombospondina 5 (UniProtKB/Swiss-Prot: Q9UNA0.2)

SEQ. ID NO: 3, CRB0017VK
 SEQ. ID NO: 4, CRB0017VH
 SEQ. ID NO: 5, CRB0018VK
 SEQ. ID NO: 6, CRB0018VH
 SEQ. ID NO: 7, CRB0019VK
 SEQ. ID NO: 8, CRB0019VH
 SEQ. ID NO: 9, CRB0091VK
 SEQ. ID NO: 10, CRB0091VH
 SEQ. ID NO: 11, CRB0092VK
 SEQ. ID NO: 12, CRB0092VH

SEQ. ID NO: 13, CRB0093VK
SEQ. ID NO: 14, CRB0093VH
SEQ. ID NO: 15, CRB0094VL
SEQ. ID NO: 16, CRB0094VH
SEQ. ID NO: 17, CRB0102VK
SEQ. ID NO: 18, CRB0102VH
SEQ. ID NO: 19, CRB0122VL
SEQ. ID NO: 20, CRB0122VH
SEQ. ID NO: 21, CRB0123VK
SEQ. ID NO: 22, CRB0123VH
SEQ. ID NO: 23, CRB0124VL
SEQ. ID NO: 24, CRB0124VH
SEQ. ID NO: 25, CRB0016VK
SEQ. ID NO: 26, CRB0016VH
SEQ. ID NO: 27, CDRL1_17
SEQ. ID NO: 28, CDRL2_17
SEQ. ID NO: 29, CDRL3_17
SEQ. ID NO: 30, CDRL1_18
SEQ. ID NO: 31, CDRL2_18
SEQ. ID NO: 32, CDRL3_18
SEQ. ID NO: 33, CDRL1_19
SEQ. ID NO: 34, CDRL2_19
SEQ. ID NO: 35, CDRL3_19
SEQ. ID NO: 36, CDRL1_91
SEQ. ID NO: 37, CDRL2_91
SEQ. ID NO: 38, CDRL3_91
SEQ. ID NO: 39, CDRL1_92
SEQ. ID NO: 40, CDRL2_92
SEQ. ID NO: 41, CDRL3_92
SEQ. ID NO: 42, CDRL1_93
SEQ. ID NO: 43, CDRL2_93
SEQ. ID NO: 44, CDRL3_93
SEQ. ID NO: 45, CDRL1_94
SEQ. ID NO: 46, CDRL2_94
SEQ. ID NO: 47, CDRL3_94
SEQ. ID NO: 48, CDRL1_102
SEQ. ID NO: 49, CDRL2_102
SEQ. ID NO: 50, CDRL3_102
SEQ. ID NO: 51, CDRL1_122
SEQ. ID NO: 52, CDRL2_122
SEQ. ID NO: 53, CDRL3_122
SEQ. ID NO: 54, CDRL1_123
SEQ. ID NO: 55, CDRL2_123
SEQ. ID NO: 56, CDRL3_123
SEQ. ID NO: 57, CDRL1_124
SEQ. ID NO: 58, CDRL2_124
SEQ. ID NO: 59, CDRL3_124
SEQ. ID NO: 60, CDRH1_17
SEQ. ID NO: 61, CDRH2_17
SEQ. ID NO: 62, CDRH3_17
SEQ. ID NO: 63, CDRH1_18
SEQ. ID NO: 64, CDRH2_18
SEQ. ID NO: 65, CDRH3_18
SEQ. ID NO: 66, CDRH1_19
SEQ. ID NO: 67, CDRH2_19
SEQ. ID NO: 68, CDRH3_19

SEQ. ID NO: 69, CDRH1_91
 SEQ. ID NO: 70, CDRH2_91
 SEQ. ID NO: 71, CDRH3_91
 SEQ. ID NO: 72, CDRH1_92
 SEQ. ID NO: 73, CDRH2_92
 SEQ. ID NO: 74, CDRH3_92
 SEQ. ID NO: 75, CDRH1_93
 SEQ. ID NO: 76, CDRH2_93
 SEQ. ID NO: 77, CDRH3_93
 SEQ. ID NO: 78, CDRH1_94
 SEQ. ID NO: 79, CDRH2_94
 SEQ. ID NO: 80, CDRH3_94
 SEQ. ID NO: 81, CDRH1_102
 SEQ. ID NO: 82, CDRH2_102
 SEQ. ID NO: 83, CDRH3_102
 SEQ. ID NO: 84, CDRH1_122
 SEQ. ID NO: 85, CDRH2_122
 SEQ. ID NO: 86, CDRH3_122
 SEQ. ID NO: 87, CDRH1_123
 SEQ. ID NO: 88, CDRH2_123
 SEQ. ID NO: 89, CDRH3_123
 SEQ. ID NO: 90, CDRH1_124
 SEQ. ID NO: 91, CDRH2_124
 SEQ. ID NO: 92, CDRH3_124
 SEQ. ID NO: 93, lexA-Espaciador
 SEQ. ID NO: 94, Espaciador-GST
 SEQ. ID NO: 95, CRB0016_VK
 SEQ. ID NO: 96, CRB0016_IgG4
 SEQ. ID NO: 97, CRB0017_VK_CK
 SEQ. ID NO: 98, CRB0017_IgG4
 SEQ. ID NO: 99, CRB0017_VK
 SEQ. ID NO: 100, CRB0017_VH
 SEQ. ID NO: 101, CRB0018_VK
 SEQ. ID NO: 102, CRB0018_VH
 SEQ. ID NO: 103, CRB0019_VK
 SEQ. ID NO: 104, CRB0019_VH
 SEQ. ID NO: 105, CRB0091_VK
 SEQ. ID NO: 106, CRB0091_VH
 SEQ. ID NO: 107, CRB0092_VL
 SEQ. ID NO: 108, CRB0092_VH
 SEQ. ID NO: 109, CRB0093_VK
 SEQ. ID NO: 110, CRB0093_VH
 SEQ. ID NO: 111, CRB0094_VL
 SEQ. ID NO: 112, CRB0094_VH
 SEQ. ID NO: 113, CRB0102_VL
 SEQ. ID NO: 114, CRB0102_VH
 SEQ. ID NO: 115, CRB0122_VL
 SEQ. ID NO: 116, CRB0122_VH
 SEQ. ID NO: 117, CRB0123_VK
 SEQ. ID NO: 118, CRB0123_VH
 SEQ. ID NO: 119, CRB0124_VL
 SEQ. ID NO: 120, CRB0124_VH
 SEQ. ID NO: 121, DOMINIO ESPACIADOR HUMANO_AA
 SEQ. ID NO: 122, HELIX_B_ADAMTS-5_AA
 SEQ. ID NO: 123, DOMINIO ESPACIADOR HUMANO
 SEQ. ID NO: 124, HELIX_B_ADAMTS-5

SEQ. ID NO: 125, CRB0017_scFv
 SEQ. ID NO: 126, CRB0018_scFv
 SEQ. ID NO: 127, CRB0019_scFv
 SEQ. ID NO: 128, CRB0091_scFv
 SEQ. ID NO: 129, CRB0092_scFv
 SEQ. ID NO: 130, CRB0093_scFv
 SEQ. ID NO: 131, CRB0094_scFv
 SEQ. ID NO: 132, CRB0102_scFv
 SEQ. ID NO: 133, ADAMTS-5_ADN c HUMANO
 SEQ. ID NO: 134, ADAMTS-4_ADN c HUMANO
 SEQ. ID NO: 135, CRB0122_scFv
 SEQ. ID NO: 136, CRB0123_scFv
 SEQ. ID NO: 137, CRB0124_scFv
 SEQ. ID NO: 138, conector peptídico pequeño
 SEQ. ID NO: 139-216, cebadores sintéticos

MATERIALES Y MÉTODOS

Genoteca SPLINT de linfocitos humanos

5 El desarrollo de los anticuerpos terapéuticos para su uso en el tratamiento de enfermedades humanas ha sido durante mucho tiempo un objetivo para muchos investigadores en el campo del anticuerpo. Un modo de obtener estos anticuerpos es a través de Genoteca de Pote Simple de Anticuerpos Intracelulares (genotecas SPLINT) construidas a partir de linfocitos humanos. La tecnología con SPLINT expresa genotecas de scFv humano (fragmento de anticuerpo de cadena simple) clonadas en vector pMV1, un vector derivado del vector pLinker220 (Visintin y col., 2004. *J. Immunol Methods* 290:135-153), como fusión al dominio de activación VP16. Las regiones variables se unen con un conector (linker) peptídico pequeño (SGGSTSGSGKPGSGEGSSGT SEQ ID NO 138). pMV1 contiene gen LEU2 que permite el mantenimiento del plásmido y la selección sobre medios que carecen de leucina en cepa de levadura L40 y el gen *bla* que permite la selección del plásmido en *E. coli*.

15 Para la construcción de genotecas SPLINT humanas se usaron las donaciones de sangre periférica de cien donantes no inmunizados. Se recogieron aproximadamente 2-20 ml de muestras de sangre de cada donante. Los linfocitos B se aislaron de la sangre periférica usando reactivo de placa Ficoll (Amersham, USA). En resumen, la muestra de sangre diluida (1:1 de sangre por PBS) se extendió cuidadosamente sobre el reactivo Ficoll-Paque y, a continuación, se centrifugó la solución de dos fases a 400 x g durante 30 minutos. Se recogieron los linfocitos B de la interfaz entre las dos fases. El ARN total se extrajo de los linfocitos B mediante RNeasy Mini Kit (Qiagen) según las instrucciones del fabricante. El ARN total se preparó a partir de los linfocitos B y se juntaron antes de ser usados para el aislamiento de ARNm. El ARNm se preparó usando Oligotex mRNA mini kit (Qiagen) según las instrucciones del fabricante. Se usó sistema RT-PCR ThermoScript™ (Invitrogen) para las reacciones de síntesis de ADNc según las instrucciones del fabricante. Se usaron Oligo (dT)20 para sintetizar ADNc del repertorio de genes V. Para reducir el sesgo de la amplificación, los autores realizaron 62 (para huSPLINT_09) y 75 (para huSPLINT_10) reacciones de PCR independientes para amplificar segmentos del gen V, usando todas las combinaciones posibles dentro de un conjunto de cebador (para huSPLINT_09 véase Tabla I; para huSPLINT_10 véase Tabla II).

25 Las secuencias cebador (primer), las cuales en teoría abarcan el repertorio entero de genes de anticuerpo humano, se obtuvieron de IMGT/GENE-DB (Giudicelli y col., 2005. *Stud Health Technol Inform.* 116:3-8), y se modificaron según los protocolos previamente publicados (Sblattero y Bradbury, 1998. *Immunotechnology.* 3:271-278); (Marks y col., 1991. *Eur J. Immunol.* 21:985-991); (Orlandi y col., 1992. *Biotechnology.* 24:527-531). En este método, las regiones variables de la cadena pesada y ligera reorganizadas individuales se amplifican por separado y se unen a través de una serie de etapas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para dar los productos scFv finales que se usan para la clonación (Visintin y col., 2004. *J. Immunol Methods.* 290:135-153). Las reacciones de PCR para huSPLINT_9 (Tabla I) incluían siete cebadores directos VH emparejados con cuatro cebadores inversos VH que generaban un total de veintiocho reacciones; mientras que cuatro cebadores directos V λ emparejados con cuatro cebadores inversos generaban un total de siete reacciones; y nueve cebadores directos V λ emparejados con dos cebadores inversos V λ generaban un total de ocho reacciones.

Tabla I: cebadores de PCR de huSPLINT_09 inversos (rv) y directos (fw) para la cadena de genes V humanos

| CEBADORES | SECUENCIA |
|-------------|--|
| HuSPLINT_09 | VHfw TTATCCTCGAGCGGTACCCAGGTACAGCTGCAGCAGTCA SEQ ID No. 140 TTATCCTCGAGCGGTACCCAGGTGCAGCTACAGCAGTGGG SEQ ID No. 141 TTATCCTCGAGCGGTACCCAGGTGCAGCTGKTGGAGWCY SEQ ID No. 142 TTATCCTCGAGCGGTACCCAGGTCCAGCTKGTRCAGTCTGG SEQ ID No. 143 TTATCCTCGAGCGGTACCCAGRTCACCTTGAAGGAGTCTG SEQ ID No. 144 TTATCCTCGAGCGGTACCCAGGTGCAGCTGGTGSARTCTGG SEQ ID No. 145 |
| | VHrv GATTGGTTTGCCGCTAGCTGAGGAGACRGTGACCAGGGTG SEQ ID No. 146 GATTGGTTTGCCGCTAGCTGAGGAGACGGTGACCAGGGTT SEQ ID No. 147 GATTGGTTTGCCGCTAGCTGAAGAGACGGTGACCATTGT SEQ ID No. 148 GATTGGTTTGCCGCTAGCTGAGGAGACGGTGACCCTGGTCC SEQ ID No. 149 |
| | Vkfw AGCAAGCGGCGCGCATGCCGACATCCRGDTGACCCAGTCTCC SEQ ID No. 150 AGCAAGCGGCGCGCATGCCGAAATGTRWTGACRCAGTCTCC SEQ ID No. 151 AGCAAGCGGCGCGCATGCCGATATTGTGMTGACBCAGWCTCC SEQ ID No. 152 AGCAAGCGGCGCGCATGCCGAAACGACACTCACGCAGTCTC SEQ ID No. 153 |
| | Vkrv GAAGTTATGGTCGACCCTCCGGATTTGATTTCCACCTTGGTCC SEQ ID No. 154 GAAGTTATGGTCGACCCTCCGGATTTGATCTCCASCTTGGTCC SEQ ID No. 155 GAAGTTATGGTCGACCCTCCGGATTTGATATCCACTTTGGTCC SEQ ID No. 156 GAAGTTATGGTCGACCCTCCGGATTTAATCTCCAGTCGTGTCC SEQ ID No. 157 |
| | Vlfw AGCAAGCGGCGCGCATGCCAGTCTGTSBTGACGCAGCCGCC SEQ ID No. 158 AGCAAGCGGCGCGCATGCCCTCCTATGWGCTGACWCAGCCAC SEQ ID No. 159 AGCAAGCGGCGCGCATGCCCTCCTATGAGCTGAYRCAGCYACC SEQ ID No. 160 AGCAAGCGGCGCGCATGCCAGCCTGTGCTGACTCARYC SEQ ID No. 161 AGCAAGCGGCGCGCATGCCAGDCTGTGGTGACYCAGGAGCC SEQ ID No. 162 AGCAAGCGGCGCGCATGCCAGCCWKGCTGACTCAGCCMCC SEQ ID No. 163 AGCAAGCGGCGCGCATGCCCTCCTGAGCTGASTCAGGASCC SEQ ID No. 164 AGCAAGCGGCGCGCATGCCAGTCTGYCYCTGAYTCAGCCT SEQ ID No. 165 AGCAAGCGGCGCGCATGCCAATTTTATGCTGACTCAGCCCC SEQ ID No. 166 |
| | Vlrv GAAGTTATGGTCGACCCTCCGGATAGGACGGTSASCTTGGTCC SEQ ID No. 167 GAAGTTATGGTCGACCCTCCGGAGAGGACGGTCAGCTGGGTGC SEQ ID No. 168 |
| | VL_PTfw CGCTGGATTGTTATTACTCGCAGCAAGCGGCGCGCATGCC SEQ ID No. 169 |
| | VL_PTrv ACCGCTCGAGCCTTCACCGGAACCTGGTTTCCCAGAACCGCTGGTCGACCCTCC SEQ ID No. 170 |
| | VH_PTfv GGAGGGTCGACCAGCGGTTCTGGGAAACCAGGTTCCGGTGAAGGCTCGAGCGGTA SEQ ID No. 171 |
| | VH_PTrv CCAGGCCAGCAGTGGGTTTGGGATTGGTTTGGCCGTA SEQ ID No. 172 |
| | VL_FINALfw TACCTATTGCCTACGGCAGCCGCTGGATTGTTATTACTC SEQ ID No. 173 |
| | VH_FINALrv TGGTGATGGTGAGTACTATCCAGGCCAGCAGTGGGTTTG SEQ ID No. 174 |

Las reacciones PCR para huSPLINT_10 (Tabla II) incluían seis cebadores directos VH emparejados con cuatro cebadores inversos VH que generaban un total de veinticuatro reacciones; mientras seis cebadores directos Vκ emparejados con cinco cebadores inversos Vκ generaban un total de treinta reacciones; y siete cebadores directos Vλ emparejados con tres cebadores inversos Vλ generaban un total de veintiuna reacciones.

5 Tabla II: cebadores PCR de huSPLINT_10 inversos (rv) y directos (fw) para la cadena de genes V humanos

| | CEBADORES | SECUENCIA |
|-------------|-----------|--|
| HuSPLINT_10 | VHfw | AGCAAGCGGCGCGCATGCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGG SEQ ID No. 175 AGCAAGCGGCGCGCATGCCAGGTCAACTTAAGGGAGTCTGG SEQ ID No. 176 AGCAAGCGGCGCGCATGCCAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGG SEQ ID No. 177 AGCAAGCGGCGCGCATGCCAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGG SEQ ID No. 178 AGCAAGCGGCGCGCATGCCAGGTGCAGCTGTTGCAGTCTGC SEQ ID No. 179 AGCAAGCGGCGCGCATGCCAGGTACAGCTGCAGCAGTCAGG SEQ ID No. 180 |
| | VHrv | GAAGTTATGGTCGACCCTCCGGATGAGGAGACGGTGACCAGGGTGCC SEQ ID No. 181 GAAGTTATGGTCGACCCTCCGGATGAAGAGACGGTGACCATTGTCCC SEQ ID No. 182 GAAGTTATGGTCGACCCTCCGGATGAGGAGACGGTGACCAGGGTCC SEQ ID No. 183 GAAGTTATGGTCGACCCTCCGGATGAGGAGACGGTGACCCTGGTCCC SEQ ID No. 184 |
| | Vκfw | TTATCCTCGAGCGGTACCGACATCCAGATGACCCAGTCTCC SEQ ID No. 185 TTATCCTCGAGCGGTACCGATGTTGTGATGACTCAGTCTCC SEQ ID No. 186 TTATCCTCGAGCGGTACCGAAATTGTGTTGACGCAGTCTCC SEQ ID No. 187 TTATCCTCGAGCGGTACCGACATCGTGATGACCCAGTCTCC SEQ ID No. 188 TTATCCTCGAGCGGTACCGAAACGACACTCACGCAGTCTCC SEQ ID No. 189 TTATCCTCGAGCGGTACCGAAATTGTGCTGACTCAGTCTCC SEQ ID No.190 |
| | Vκrv | GATTGGTTTGCCGCTAGCACGTTTGATTTCCACCTTGGTCCC SEQ ID No.191 GATTGGTTTGCCGCTAGCACGTTTGATCTCCAGCTTGGTCCC SEQ ID No.192 GATTGGTTTGCCGCTAGCACGTTTGATATCCACTTTGGTCCC SEQ ID No.193 GATTGGTTTGCCGCTAGCACGTTTGATCTCCACCTTGGTCCC SEQ ID No.194 GATTGGTTTGCCGCTAGCACGTTTAATCTCCAGTCGTGTCCC SEQ ID No. 195 |
| | Vλfw | TTATCCTCGAGCGGTACCCAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCC SEQ ID No.196 TTATCCTCGAGCGGTACCCAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGC SEQ ID No.197 TTATECTCGAGCGGTACCTCCTATGTGCTGACTCAGCCACC SEQ ID No.198 TTATCCTCGAGCGGTACCTCTTCTGAGCTGACTCAGGACCC SEQ ID No.199 TTATCCTCGAGCGGTACCCACGTTATACTGACTCAACCGCC SEQ ID No.200 TTATCCTCGAGCGGTACCCAGGCTGTGCTCACTCAGCCGTC SEQ ID No.201 |
| | Vλrv | GATTGGTTTGCCGCTAGCACCTAGGACGGTGACCTTGGTCCC SEQ ID No.202 GATTGGTTTGCCGCTAGCACCTAGGACGGTCAGCTTGGTCCC SEQ ID No.203 GATTGGTTTGCCGCTAGCACCTAAAACGGTGAGCTGGGTCCC SEQ ID No. 204 |

| | CEBADORES | SECUENCIA |
|-------------|------------|---|
| HuSPLINT_10 | VH_PTfw | CGCTGGATTGTTATTACTCGCAGCAAGCGGGCGCATGCC SEQ ID No. 205 |
| | VH_PTrv | ACCGCTCGAGCCTTCACCGAACCTGGTTCCAGAACCGCTGGTCGACCCTCC SEQ ID No.206 |
| | VL_PTfv | GGAGGGTCGACCAGCGGTTCTGGGAAACCAGGTTCCGGTGAAGGCTCGAGCGGTA SEQ ID No.207 |
| | VL_PTrv | CCAGGCCAGCAGTGGGTTGGGATTGGTTGCCGCTA SEQ ID No.208 |
| | VH_FINALfw | TACCTATTGCCTACGGCAGCCGCTGGATTGTTATTACTC SEQ ID No.209 |
| | VL_FINALrv | TGGTGATGGTGAGTACTATCCAGGCCAGCAGTGGGTTTG SEQ ID No.210 |

Las PCRs guiaron a la representación en el repertorio de regiones variables derivadas de todos los ensamblajes de regiones estructurales concebibles. Todos los cebadores contenían o bien sitios de restricción *BssHII* o *NheI* o secuencia conector. La PCR de arrastre final (pull-through PCR) se pudo realizar con dos cebadores (PTfw y PTrv). Después de que los repertorios del gen scFv finales se hubieran digerido secuencialmente con *BssHII* y *NheI*, se ligaron directamente dentro del vector pMV1 predigerido y desfosforilado. A partir de una reacción de ligación y treinta electroporaciones para cada genoteca, los autores fueron capaces de obtener las genotecas huSPLINT_09 y huSPLINT_10 finales consistiendo cada una en aproximadamente 10^8 moléculas de scFv diferentes con 0,04 % de clones a partir de ligación no inserto.

10 Clonación de señuelo Espaciador-ADAMTS-5 y la expresión en células L40 en levadura

Se amplificó el ADNc que codifica Espaciador-ADAMTS-5 humano (SEQ ID NO 123) a partir de ADAMTS-5 pSecTag2A que usa cebadores:

5'-TGGCTGGAATTCACAAAAGATTGTTGGA-3' SEQ ID No. 211

5'-GTCGACGGATCCTTAAGTGTGTGATCCAC-3' SEQ ID No. 212

El ADNc digerido por EcoRI-BamHI se clonó en el vector pMICBD1 (Visintin y col., 2004. *J. Immunol Methods*. 290:135-153) diseñado para contener resistencia a cloranfenicol bacteriano, el gen TRP1 (el cual permite que la levadura que contiene este plásmido crezca en medio mínimo que carece de triptófano) y el origen de 2 μ de replicación. Este plásmido contiene la región entera de la proteína *lexA* de *Escherichia coli*, expresada a partir del promotor de la alcohol deshidrogenasa I (ADH1) de levadura, seguido de un policonector para la inserción de ADNc, para generar fusiones en el marco a *lexA*. El señuelo se secuenció para confirmar la fusión en el marco del inserto con el dominio de unión a *lexA* en el vector.

Las células de levadura L40 se sometieron a transfección con el vector señuelo Sp_ADAMTS-5/MICBD1 usando el protocolo de transformación de acetato de litio. Los transformantes se ensayaron para la prototropía de histidina sobre placas YC-Lys/-Ura/-His/-Trp (Visintin y Cattaneo, 2001. *Antibody Engineering*. 1:790; Visintin y col., 2004. *J. Immunol Methods*. 290:135-153; Visintin y col., 2004. *Methods*. 34:200-214; Visintin y col., 2002. *J. Mol Biol*. 317:73-83; Visintin y col., 1999. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:11.723-11.728). Se ensayaron colonias de levadura para la actividad de β -galactosidasa usando filtros levantados de colonia, como previamente se ha descrito (Visintin y Cattaneo, 2001. *Antibody Engineering* 1:170). La transfección del señuelo no dio como resultado activación del gen *LacZ* (datos no mostrados).

30 Clonación de señuelo HelixB-ADAMTS-5 y expresión en célula L40 de levadura

Se ensambló el ADNc que codifica una hélice α (HelixB, SEQ ID NO. 124) en la posición de superficie del dominio catalítico humano de ADAMTS-5 usando cebadores:

5'-AATTCAACGCTGCCACCACACTCAAGAACTTTGCAAGTGGCAGCACCAACAC
AACTAACTGCA-3' SEQ ID No. 213

5'-GTTAGTTGTGTTGGTGCTGCCACTTGCAAAAAGTTCTTGAGTGTGGTGGCAGCGT
TG-3' SEQ ID No. 214

5 El ADNc digerido por EcoRI-PstI se clonó en el vector pMICBD1 (Visintin y col., 2004. *J. Immunol Methods*. 290:135-153). Las células de levadura L40 se sometieron a transfección con el vector señuelo helixB/MICBD1 usando el protocolo de transformación de acetato de litio. Los transformantes se ensayaron para el prototipo de histidina sobre placas YC-Lys/-Ura/-His/-Trp (Visintin y Cattaneo, 2001. *Antibody Engineering*. 1:790). Se ensayaron colonias de levadura para la actividad de β -galactosidasa usando filtros elevados de colonia, como previamente se ha descrito (Visintin y Cattaneo, 2001. *Antibody Engineering* 1:790). La transfección del señuelo no dio como resultado activación del gen *LacZ* (datos no mostrados).

Análisis por transferencia tipo Western de señuelo Espaciador-ADAMTS-5

10 Se diluyó un cultivo de levadura de toda la noche en 5 ml de medio YC a DO600 0,15 y se dejó crecer a 30 °C hasta DO600 0,6. Se centrifugó 1 ml de cultivo a 10.000xg durante 5 min. y el precipitado celular se resuspendió en tampón de Laemmli, se puso en solución sobre SDS-PAGE al 12 %, y se transfirió sobre una membrana de PVDF (Millipore). Se usó anticuerpo policlonal anti-LexA (Invitrogen), seguido de anti-HPR de conejo (DAKO). Se usó el sistema de quimioluminiscencia ECL (Amersham) para la detección (datos no mostrados).

Selecciones de SPLINT

15 Las genotecas de SPLINT se transformaron dentro de la cepa L40 de levadura que expresa el señuelo (Sp_ADAMTS-5/MICBD1 o HelixB-ADAMTS-5/MICBD1) usando el método de acetato de litio y la selección como se describe (Visintin y Cattaneo, 2001. *Antibody Engineering*. 1:790; Visintin y col., 2004. *J. Immunol Methods*. 290:135-153; Visintin y col., 2004. *Methods*. 34:200-214; Visintin y col., 2002. *J. Mol Biol*. 317:73-83; Visintin y col., 1999. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:11.723-11.728). Las células transformadas de levadura se colocaron en una placa sobre medio sólido que carecía de Trp (W), Leu (L), Uracilo (U), Lys (K) y His (H) (YC-WHULK). La expresión del marcador selectivo Trp (W) se proporciona por el plásmido pMICBD1, Leu (L) por el plásmido pMV1, y Uracilo (U), Lys (K) y His (H) son marcadores protótrofos de la cepa de levadura. Los clones positivos se dejaron crecer sobre medio selectivo YC-WHULK. Los ensayos de β -Galactosidasa se realizaron tal como se describen (Visintin y Cattaneo, 2001. *Antibody Engineering*. 1:790; Visintin y col., 2004. *J. Immunol Methods*. 290:135-153; Visintin y col., 2004. *Methods*. 34:200-214; Visintin y col., 2002. *J. Mol Biol*. 317:73-83; Visintin y col., 1999. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:11.723-11.728). Se aislaron 11 anti-Sp_ADAMTS-5 scFvs positivos después del cribado secundario a partir de cuatro cribados independientes de diferentes genotecas SPLINT (mSPLINT, huSPLINT_09 y huSPLINT_10). Los resultados de las selecciones realizadas para el señuelo de SP_ADAMTS-5 están resumidas en la Tabla III.

Tabla III. Compendio de selecciones SPLINT de Sp-ADAMTS-5

| SEÑUELO | GENOTECA SPLINT | N#CLONES (I cribado) | N#CLONES (II cribado) | CLON | CBR | SEQ ID NO |
|--------------------|-----------------|----------------------|-----------------------|------|---------|-----------|
| Sp-ADAMTS-5/MICBD1 | mSPLINT | 15 | 3 | M6 | CRB0017 | 3;4 |
| | | | | 7A | CRB0018 | 5;6 |
| | | | | 14 | CRB0019 | 7;8 |
| Sp-ADAMTS-5/MICBD1 | huSPLINT_09 | 121 | 4 | 7A | CRB0091 | 9;10 |
| | | | | C21 | CRB0092 | 11;12 |
| | | | | 47A | CRB0093 | 13;14 |
| | | | | 48B | CRB0094 | 15;16 |
| Sp-ADAMTS-5/MICBD1 | huSPLINT_10 | 90 | 1 | 15A | CRB0102 | 17;18 |
| Sp-ADAMTS-5/MICBD1 | huSPLINT_10 | 99 | 3 | S39 | CRB0122 | 19;20 |
| | | | | S50 | CRB0123 | 21;22 |
| | | | | S53a | CRB0124 | 23;24 |

30

Clonación y expresión de la Espaciador-ADAMTS-5GST proteína recombinante

El Dominio Espaciador Humano de ADAMTS-5 (SEQ ID NO: 121 Y 123) se clonó en sitios de restricción *Nco-XhoI* de pET41b (Novagen). El ADNc que codifica el dominio Espaciador se amplificó a partir de ADAMTS-5 pSecTag2A usando cebadores:

5'-ATCCATGGTCACAAAGATTGTTGGAACC-3' SEQ ID No. 215

5 5'-ATCTCGAGTTAAGTGTGTGATCCCACTTTATTG-3' SEQ ID No. 216

El plásmido Sp_ADAMTS-5-GST/pET4b se transformó dentro de Rosetta 2 (DE3) de *E. coli* (Novagen) por sistema de transformación por choque de calor (Hanahan, 1983. *J. Mol Biol.* 166:557-580) y se colocaron en placas de LB Kan/Cam.

10 Al día siguiente, se inoculó una única colonia y se diluyó en 10 ml de medios LB Kan/Cam. Las bacterias transformadas se dejaron crecer durante la noche a 37 °C agitando a 250 rpm.

15 Al día siguiente, las bacterias crecidas durante la noche se diluyeron en 500 ml de medios LB Kan/Cam y, a continuación, se dejaron crecer a 37 °C con agitación a 250 rpm desde que el cultivo ha alcanzado DO(600) = 0,7. A continuación, se añadió IPTG 0,2 mM (concentración final). Las bacterias inducidas se cultivaron durante 5 a 6 horas a 25°C con agitación a 250 rpm. Las bacterias finalmente se centrifugaron a 6.000 rpm durante 15 minutos y el precipitado se congeló a -80 °C.

Reformateado de anti-ADAMTS-5-scFVs a anticuerpos IgG enteros

20 Anti-catalítico_ADAMTS-5 CRB 0016 scFv y anti-Sp_ADAMTS-5 CRB0017 scFv se reformatearon a anticuerpos IgG quiméricos enteros acoplando los dominios variables de unión a antígeno murino a dominios constantes humanos. Para cada anticuerpo los ADNcs que codifican la cadena ligera y pesada (Fc de IgG4 humano) se generaron por GENEART (Alemania) con sitios de restricción adecuados para la subclonación. Las secuencias se optimizaron para la expresión en mamífero (línea celular CHO-S) (SEQ ID NO: 95 y 96, 97 y 98). Después de la síntesis de ambas cadenas, los ADNcs se subclonaron en plásmidos de expresión (derivados de pcDNA3.1 que contienen un extenso promotor CMV para la expresión del gen de interés) usando *HindIII* y *XhoI* como sitios de clonación. Para cada cadena de anticuerpo, se generaron dos plásmidos de expresión: un plásmido que contenía el ADNc que codifica la cadena ligera, uno que contenía el ADNc que codifica la cadena pesada. El plásmido de expresión que contenía los insertos correctos se verificó mediante análisis de restricción y análisis de secuencia de ADN del inserto.

25 Los Anti-Sp_ADAMTS-5 CRB0102 y CRB0123 scFvs también se reformatearon a anticuerpos IgG4 completamente humanos enteros siguiendo el procedimiento de clonación adoptado para CRB0016 y CRB0017 anteriormente descrito.

30 Producción de anticuerpos CRB0016_IgG4 y CRB0017_IgG4 quiméricos recombinantes a partir de células sometidas a transfección

Los anticuerpos anti-ADAMTS-5 se produjeron a partir de células sometidas a transfección, Células CHO-S se sometieron a transfección con plásmidos que codifican cadenas pesadas y ligeras de CRB0016 y CRB0017. Los medios acondicionados a partir de las células sometidas a transfección se recuperaron mediante la separación de las células y los restos. Los medios acondicionados aclarados se cargaron en columna con proteína A-sefarosa. Se separaron las uniones no específicas mediante lavados con tampón de amplia unión (fosfato de sodio 20 mM pH 7,0). Las proteínas de anticuerpo unidas en la columna de proteína A se recuperaron por la elución ácida de anticuerpo de la proteína A (glicina-HCl 0,1 M pH 3,0). Las proteínas eluidas inmediatamente se neutralizaron con Tris-HCl 1 M pH = 9,0 (100 µl por ml de fracciones eluidas). Las fracciones eluidas juntas se sometieron a diálisis frente a PBS- Las proteínas de anticuerpo agregadas se separaron mediante cromatografía de exclusión por tamaño.

Purificación de Espaciador-ADAMTS-5-GST proteína recombinante

45 Se resuspendió bacteria de expresión e inducida de Sp_ADAMTS-5-GST descongela en 20 ml de tampón de lisis (PBS, ADNasa 10 µg/ml, Lisozima 20 µg/ml). Los precipitados resuspendidos se incubaron durante 45 minutos a 4 °C con balanceo. Después de la incubación la bacteria sometida a lisis se sometió a sonicación en hielo 3 veces (15 segundos cada una). Después de 10 minutos de centrifugación a 6.000 rpm a 4 °C se recogió el sobrenadante, se filtró con filtro de 0,2 micras y se procesó por purificación. La columna GST Trap (GE) se conectó con el purificador AKTA (GE) y se lavó con 5 CV de agua a 5 ml/min de flujo. La columna se lavó con 5 CV de PBS a 5 ml/min de flujo. A continuación, se conectó la columna a una bomba peristáltica y se cargó a 1 ml/min de flujo con sobrenadante filtrado. Después del lavado con 5 CV de PBS a 5 ml/ml de flujo la columna se reconectó al purificador AKTA y se lavó de nuevo con 2 CV de PBS a 5 ml/min de flujo. La proteína se eluyó en tampón de elución al 100 % (PBS, Glutaciona 10 mM). Las fracciones del pico se recogieron en tubos Eppendorf de 2 ml. El conjunto de 3 fracciones centrales principales diluidas en PBS se concentraron usando Amicon Ultra 15 según las especificaciones del fabricante. La proteína concentrada se cuantificó con Protein 80 BioAnalyser (Aligent). Las alícuotas se

almacenaron a -80 °C.

Expresión y repliegamiento de anti-Sp_ADAMTS-5 scFvs en el citoplasma de *E. coli*

Los fragmentos anti-Sp_ADAMTS-5 scFv (SEQ ID 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 135, 136, 137) se subclonaron en sitios de restricción *NcoI/NotI* del vector de expresión bacteriano pEMT-13. BL21DE3 de *E. coli* que alberga el plásmido de expresión se cultivó en 500 ml de medio 2YT/Kan hasta la fase semi-exponencial (OD600 = 0,75) y a continuación se indujo con IPTG (1,5 mM) durante 5-6 h adicionales a 37 °C con agitación (180 rpm). Las células se recogieron a 6.000 rpm (Beckman) y los precipitados se usaron para la preparación de cuerpos de inclusión (CI). Se optimizó un método de expresión a gran escala como cuerpos de inclusión de *E. coli*, usando repliegamiento *in vitro* (Patil y col., 2008. *J. Biotechnol.* 134:218-221. Epub 2008 Jan 2018); (Umetsu y col., 2003. *J. Biol Chem.* 278:8.979-8.987. Epub 2003 Jan 8977). El precipitado se resuspendió a 5 ml/g-1 con tampón IBR (Tris/HCl 50 mM, EDTA 0,5 mM, 20 µg/ml de lisozima, 10 µg/ml de ADNasa a pH 8) y se puso sobre una placa de agitación durante a 1 h a temperatura ambiente. La muestra se sometió a sonicación durante 45 seg sobre hielo durante tres pulsos, seguido de 1 min de incubación sobre hielo. A continuación, el lisado se centrifugó durante 10 min a 4 °C a 6.000 rpm. El precipitado se resuspendió en 20 ml de tampón de lavado 1 (Tris 10 mM pH 8, EDTA 1 mM, Triton X-100 al 1 %), se agitó en vórtex y, a continuación, los cuerpos de inclusión se sedimentaron por centrifugación a 10.000 rpm durante 10 min a 4 °C. El precipitado se lavó con 20 ml de tampón de lavado 2 (Tris 10 mM pH 8, EDTA 1 mM, NaCl 1 M), se agitó en vórtex y, a continuación, se centrifugó a 10.000 rpm durante 10 min a 4 °C. Finalmente, el precipitado se lavó con 20 ml de tampón de lavado 3 (Tris 10 mM pH 8, EDTA 1 mM), se agitó en vórtex y se centrifugó a 10.000 rpm durante 10 min a 4 °C. La preparación de CI se sometió a solubilización a 5 ml/g-1 con tampón de solubilización (Tris/HCl 100 mM; guanidina HCl 6 M; EDTA 1 mM; DTT 100 mM a pH 8). Las proteínas solubilizadas se incubaron durante 2 h a temperatura ambiente bajo vigorosa agitación. Después de bajar el pH de la solución de proteína a pH 4 con HCl 1 M, el material insoluble se separó por centrifugación a 10.000 rpm durante 10 min. Para separar el DTT del soluto se realizó una diálisis triple frente a tampón IBD (guanidina HCl 6M a pH 4). Las proteínas solubilizadas y cuantificadas se diluyeron 35 mg/l, tan rápido como fue posible, en tampón REF frío (Tris/HCl 100 mM; arginina 0,5 mM; 375 µM de 1-glutathiona oxidizada; EDTA 5 mM a pH 8,5). La solución de proteína se dispensó cada 50 minutos con una pipeta directamente in el tampón REF mientras se agitaba en vórtex. Después de 16 h de la última adición la muestra primero se concentró y el guanidinio restante se separó por diálisis en tampón IEXA (según pl de scFv y así el protocolo de intercambio iónico posteriormente empleado). Los scFvs repliegados se purificaron por una cromatografía de intercambio iónico se almacenaron alicuotadas a -80 °C.

ELISA de especificidad: Anti_Sp_ADAMTS-5 scFvs frente a Sp_ADAMTS-5-GST

Se recubrió Inmunoplaaca Nuc Maxi-Sorp con 100 µl de Sp_ADAMTS-5-GST y GST a 10 µg/ml en tampón de recubrimiento (Na₂CO₃ 100 mM pH 9,6). La placa se incubó durante la noche a 4 °C. Al día siguiente, los antígenos no unidos se descartaron y la placa se lavó 3x con PBS. La unión no específica se bloqueó añadiendo 200 µl de MPBS al 3 % (leche libre de grasa al 3 % en PBS). La placa se incubó durante 1 h a temperatura ambiente. La placa se lavó 3xTPBS (Tween20 al 0,1 % en PBS) y 3xPBS. 100 µl de la dilución serial de anti-Sp_ADAMTS-5 scFv (0,5-50 µg/ml) en MPBS al 3 % se añadió a pocillos apropiados. A continuación, la placa se incubó durante 2 h a temperatura ambiente. Después del lavado con 3xTPBS y 3xPBS, 100 µl de anticuerpo anti-V5 (Invitrogen) diluido 1:5.000 en MPBS al 3 % se añadió a cada pocillo. La placa se incubó durante 1 h y 30 min a temperatura ambiente. Después del lavado con 3xTPBS y 3xPBS 100 µl de anti-HRP de ratón (DAKO) diluido 1:2.000 en MPBS al 3 % se añadió a cada pocillo. La placa se incubó durante 1 h a temperatura ambiente. Después del lavado con 3xTPBS y 3xPBS se añadió 80 µl de TMB (Sigma). La placa se incubó en cámara oscura hasta que las muestras alcanzaron la señal deseada. 80 µl de solución de parada (H₂SO₄ 500 mM) se añadió a cada pocillo antes de la lectura. Los datos se recogen midiendo la DO(450 nm) por el Detector de Luminiscencia LD 400 (Beckman Coulter).

ELISA tipo sandwich: mAb Anti- Sp_ADAMTS-5 frente a Sp_ADAMTS-5-GST

Se recubrió una inmunoplaaca Nuc Maxi-Sorp con dilución serial de 100 µl de anti-Sp_ADAMTS-5 inmunoglobulina en tampón de recubrimiento (Na₂CO₃ 100 mM pH 9,6). La placa se incubó durante la noche a 4 °C. Al día siguiente, los anticuerpos no unidos se descartaron y la placa se lavó tres veces con PBS. La unión no específica se bloqueó añadiendo 200 µl de MPBS al 3 % (leche libre de grasa al 3 % en PBS). La placa se incubó durante 1 h a temperatura ambiente. La placa se lavó 3xTPBS (Tween 20 al 0,1 % en PBS) y 3xPBS. 100 µl de Sp_ADAMTS-5-GST y GST (30 µg/ml) en MPBS al 3 % se añadió a pocillos apropiados. A continuación, la placa se incubó durante 2 h a temperatura ambiente. Después del lavado con 3xTPBS y 3xPBS, se añadió 100 µl de anticuerpo anti-GST (Sigma) diluido 1:1.000 en MPBS al 3 % a cada pocillo. La placa se incubó durante 1 h y 30 min a temperatura ambiente. Después del lavado con 3xTPBS y 3xPBS 100 µl de anti-HRP de conejo (DAKO) diluido 1:2.000 en MPBS al 3 % se añadió a cada pocillo. La placa se incubó durante 1 h a temperatura ambiente. Después del lavado con 3xTPBS y 3xPBS se añadió 80 µl de TMB (Sigma Aldrich). La placa se incubó en cámara oscura hasta que las muestras alcanzaran la señal deseada. 80 µl de solución de parada (H₂SO₄ 500 mM) se añadió a cada pocillo antes de la lectura. Los datos se recogen midiendo DO(450 nm) por el Detector de Luminiscencia LD 400 (Beckman Coulter).

Evaluación de afinidad de anti-Sp_ADAMTS-5 scFv y/o mAb y constantes cinéticas mediante las mediciones de la Resonancia de Plasmón de Superficie

- 5 Cinéticas de unión de Sp_ADAMTS-5-GST unido a anticuerpo anti-Sp_ADAMTS-5 (scFv o IgG) inmovilizado por acoplamiento de amina en una matriz de carboximetil dextrano de un chip CM5. Se usaron los procedimientos de inmovilización estándar (Schuck, 1997. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 26:541-566). 20-50 µg/ml de scFv o IgG se disolvieron en tampón de acetato (tampón de preconcentración adecuado al menos 2 unidades de pH por debajo de la PI de la inmunoglobulina para conseguir una carga neta positiva). El nivel de inmovilización de 5.000 RU para la inmunoglobulina y 1.000 RU para scFV se fijó para conseguir inmovilización del ligando a baja densidad. Se usó la condición de regeneración leve del chip (tiempo de contacto de 30 segundos a glicina 10 mM pH 2).
- 10 Sp_ADAMTS-5-GST se diluyó en tampón de corrida PBS+Tween 20 al 0,005% en 5 dilución serial (comenzando en el rango micromolar y dilución 1:2) y se aplicó a un caudal de 30 µl/min. La etapa de condición de muestra se fijó inicialmente con tiempo de contacto de 60 segundos y tiempo de disociación de 400 segundos. En base a los sensogramas resultantes, en la etapa cinética/afinidad, se ajustaron las concentraciones de analito, el tiempo de contacto, el tiempo de disociación y la solución de regeneración.
- 15 Los datos se analizaron por el programa informático de Bioevaluación: la calidad de la fijación de datos se puede comprobar mediante el valor de χ^2 y el valor de U.

Clonación y expresión de las formas de longitud completa de ADAMTS-4 y ADAMTS-5 3xFLAG

- 20 El ADNc que codifica las secuencias de ADAMTS-5 (SEQ ID NO: 133) humana y ADAMTS-4 (SEQ ID NO: 134) humana se amplificaron para introducir sitio de restricción para *Kpn I* (terminales 5') y para *Xho I* (terminales 3') y para separar la región codificadora para péptido. Después de la digestión con *KpnI* y *XhoI*, los insertos se subclonaron en el vector pSecTag2A (Invitrogen).

- 25 ADAMTS-5 3xFLAG/pSecTag2A y ADAMTS-5 3xFLAG/pSecTag2A se sometieron a transfección en la línea celular FreeStyle™ 293-F. Las células se adaptaron al cultivo de suspensión en el Medio de Expresión FreeStyle™ 293. Se añadió agente anti-acumulación (Invitrogen) al medio, antes o después de la transfección. Las células se sometieron a transfección con el complejo de reactivo MAX FreeStyle™ en SFM OptiMEM™ libre de origen animal. Las células sometidas a transfección se incubaron a 37 °C, CO₂ al 8 % sobre una plataforma de agitación fijada a 75 rpm. Se añadió 100 µg/ml de heparina en el cultivo 24 horas después de la transfección. Las expresiones de ADAMTS-5 3XFLAG y ADAMTS-4 3XFLAG alcanzaron una actividad de proteína significativa 48-72 horas después de la transfección. Después de 2-3 días, los sobrenadantes se recolectaron y se almacenaron a -80 °C hasta purificación.

- 30 **Purificación de proteína ADAMTS-4/ ADAMTS-5 3XFLAG de longitud completa**

- 35 300 ml de sobrenadantes de ADAMTS-5 3XFLAG/ ADAMTS-4 3XFLAG se cargaron en 1 ml de Gel de Afinidad anti-FLAG M2 (Sigma-Aldrich). Las muestras se aplicaron a un caudal de 1 ml/min con presión de 0,5 MPa y las columnas se lavaron con 10 volúmenes de Tris-HCl 50 mM (pH 7,4), CaCl₂ 10 mM, ZnCl 10 µM; Brij-35 al 0,02 % que contenía NaCl 1M para separar la heparina unida a la enzima. La elución de las proteínas de fusión FLAG se consiguió mediante la competición con 200 µg/ml del péptido 3XFLAG (Sigma-Aldrich) en tampón de reacción de agreganasa (Tris-HCl 50 mM (pH 7,4), NaCl 150 mM, CaCl₂ 10 Mm, ZnCl 10 µM; Brij-35 al 0,02 %). Un caudal de 1 ml/min se mantuvo a través del procedimiento de purificación y se recogieron fracciones de 1,0 ml. Las fracciones que contenían las proteínas eluidas se pusieron juntas y se concentraron 5x usando un concentrador Vivaspin (Sartorius) (30 kD de corte).

- 40 **Análisis por transferencia tipo Western de proteínas purificadas ADAMTS-4/ADAMTS-5 3XFLAG**

- 45 Muestras de ADAMTS-5 3XFLAG y ADAMTS-5 3XFLAG purificadas, se resuspendieron en tampón de muestra (Invitrogen), se calentaron durante 10 min y se cargaron en un sistema de electroforesis en gel de poliacrilamida con SDS al 10 % (Invitrogen, NuPage System) y, a continuación, se sometió a transferencia tipo Western. Las proteínas separadas se sometieron a transfección a membrana de PVDF (GE Healthcare). Las membranas se bloquearon 30' con Solución de Bloqueo de Inicio (Pierce) y se incubaron 1 h con anticuerpo monoclonal primario anti-3XFLAG (Sigma) 1:1.000 a temperatura ambiente. Después de la incubación a temperatura ambiente (1 h) con anticuerpo secundario acoplado a peroxidasa anti ratón (AbCam), se diluyeron 1:10.000, las bandas de proteína se detectaron usando Super Signal Dura West (Pierce). Se adquirieron imágenes con una cámara CCD usando un Sistema de Imagen Las3000 (Fujii) (véase la figura 2 para la transferencia tipo Western de ADAMTS-5).

- 50 **Análisis de la actividad enzimática**

- 55 Se ensayó la actividad enzimática en las enzimas de longitud completa purificadas ADAMTS-4 3XFLAG y ADAMTS-5 3XFLAG mediante un ensayo enzimático. Se usó agregano purificado de cartilago nasal bovino atrapado en poliacrilamida (Nagase y Woessner, 1980. *Anal Biochem.* 107:385-392) como sustrato para determinar la actividad degradadora de agregano.
- Muestras de partículas de agregano/poliacrilamida (5,0±0,2 mg de peso seco) se colocaron en tubos de 1,5 ml con

400 µl de TNC (Tris-HCl 0,1 M, NaCl 0,1 M, CaCl₂ 10 mM, CHAPS al 0,1 %, pH 7,5) y 100 µl de preparaciones de ADAMTS-4 recombinante (p68, FL) y ADAMTS-5 (p75, FL), expresadas en células FreeStyle-293 sometidas a transfección de manera transitoria y se incubaron a 37 °C durante 6 a 24 h. Las reacciones se pararon con 500 µl de solución de parada (Tris 50 mM, acetato de sodio 200 mM, EDTA 100 mM; pH = 6,8) y las partículas se separaron de la fase líquida por centrifugación (10.000 rpm, 4 min, 4 °C). La cantidad de los glicosaminoglicanos (GAGs) sulfatados en el sobrenadante se determinó por un ensayo colorimétrico (azul de dimetil metileno 1,9, DMB). La curva estándar (Sulfato de Condroitina extraído de tráquea bovina) y las muestras se diluyeron en PBS-BSA al 1%. Después de una reacción de 5-20 min, las muestras se leyeron a 590 nm. La concentración de GAGs de cada muestra se calculó a partir de mediciones de absorbancia (blanco sustraído) y se compararon con la curva estándar de referencia.

Explante y cultivo de cartílago

Se obtuvieron discos de cartílago nasal bovino del septo nasal bovino de hembra de ocho meses. En resumen, se obtuvieron perforaciones de cartílago de 2 mm de diámetro del cartílago nasal. Las perforaciones primero se lavaron tres veces con tampón PBS-AASS (1xPBS, 100 U/ml de penicilina G, 100 µg/ml de estreptomicina y 2,5 µg/ml de amfotericina B). Las perforaciones se incubaron posteriormente a 37 °C en una atmósfera de CO₂ al 5%, en pocillos de microplaca que contenían DMEM al 10 %, 100 U/ml de penicilina G, 100 µg/ml de estreptomicina y 2,5 µg/ml de amfotericina B (medios DMEM-AASS). Después de tres horas las muestras se lavaron con tampón PBS-AASS y se incubaron con medios DMEM-AASS. 48 h después de la preparación de las células de cartílago, las muestras se trataron con 5 ng/ml de IL-1 α más concentración diferente de inhibidor (es decir, CRB0017_IgG4 y TIMP-3) y se incubaron en DMEM, 0,1 % BSA + AASS durante 48 h. Después de los tratamientos se recogieron los sobrenadantes y pequeñas piezas de cartílago y se usaron para el análisis de GAG (la medición de la liberación de GAG es la cuantificación de glicosaminoglicanos-GAGs en forma de fragmentos de agregado liberados del cartílago en cultivo). Las perforaciones de cartílago se incubaron primero con 500 µg/ml de papaína a 65 °C durante 2 h para la medición del porcentaje de GAG total restante en el tejido. La determinación de los glicosaminoglicanos (GAGs) sulfatados se hace por un ensayo colorimétrico con azul de dimetilmetileno 1,9 (DMB). Curva estándar (Sulfato de Condroitina extraído de tráquea bovina), las muestras de medio y las muestras de cartílago digeridas se diluyeron en PBS-BSA al 1%. Después de 5-20 min de reacción se leyeron las muestras a 590 nm.

Inmunoprecipitación de proteínas de longitud completa ADAMTS-5 y ADAMTS-4 3XFLAG

La inmunoprecipitación se realizó usando el kit de Inmunoprecipitación de Proteína G (Sigma).

Para reducir el ruido de fondo causado por la adsorción no específica de proteínas celulares irrelevantes a la Proteína G Agarosa, se realizó una etapa de aclarado previo. 50 µl de la suspensión de Proteína G Agarosa se añadió a la muestra (proteínas purificadas ADAMTS-5 o ADAMTS-4) en un tubo de microcentrifuga y se incubaron durante 2 horas a 4 °C con balanceo. Los granulados se precipitaron por centrifugación a 12.000 g durante 30 segundos en una microcentrifuga y el sobrenadante recogido (muestra preaclarada) se transfirió a un tubo fresco. Esta muestra se usó para inmunoprecipitación. Se añadió a la muestra el anti-Sp_ADAMTS-5 y se ajustó el volumen a 600 µl en tampón IP. Esta muestra se añadió a una columna de centrifugación tapada y se incubó durante la noche a 4 °C. Al día siguiente, 50 µl de granulados de Proteína G Agarosa lavados se añadieron a la columna. Después de 2 h de incubación con balanceo a 4 °C la punta de la columna de centrifugación se rompió y la columna se colocó dentro de un tubo Eppendorf de 2 ml. El tubo se centrifugó a 12.000xg durante 30 segundos a 4 °C. Los granulados en la columna de centrifugación se resuspendieron en 700 µl de tampón 1xIP y la columna se centrifugó a 12.000xg durante 30 segundos a 4 °C. La etapa de lavado se repitió 3 veces. El último lavado se realizó con tampón 0,1xIP. Los granulados se resuspendieron con 50 µl de 1x tampón de Muestra de Laemmli caliente. Después de 10 minutos de incubación a 95 °C, se eluyeron las proteínas por centrifugación a 13.000xg durante 1 minuto. La muestra se cargó en gel SDS-PAGE para el análisis por transferencia tipo Western.

45 Evaluación del efecto de mAbs anti-ADAMTS-5 en el modelo de ratón STR/ort de osteoartritis

Se reclutaron ratones machos STR/ort (Mason y col., 2001. *Osteoarthritis Cartilage*. 9:85-91) de 5 meses de edad (n = 20-22), se distribuyeron al azar para el tratamiento en cada jaula, con 4 animales por jaula, se pesaron y se trataron intraarticularmente en cada rodilla con o bien 1,2 µg de anti-ADAMTS-5 IgG4, 12 µg de anti-ADAMTS-5 IgG4, o vehiculizante. Después de 6 semanas se repitió la administración intraarticular de anti-ADAMTS-5 IgG4 con las mismas dosis. Después de 3 meses del reclutamiento los animales se sacrificaron por dislocación cervical y se explantaron limbos traseros y se fijaron en formalina durante la noche. Los limbos traseros se incrustaron en parafina, se produjeron secciones de 5 micras de grosor y se tiñeron con azul de toluidina y se puntuó de una manera ciega de acuerdo con tanto el procedimiento de Mankin (Mankin y col., 1971. *J. Bone Joint Surg Am*. 53:523-537) y el OARSI (Pritzker y col., 2006. *Osteoarthritis Cartilage* 14:13-29). Este método produce una puntuación de OA con un intervalo de 0-24 basado en el grado más avanzado (6) y la fase de más extensión (4). El análisis estadístico se realizó con el ensayo de t de Student comparando vehiculizante con basal, y con ANOVA seguida por los ensayos de Dunn o Dunnett que comparan todos los grupos de tratamiento con el vehiculizante.

Resultados**Selección de anticuerpos anti-dominio espaciador específicos usando la tecnología SPLINT**

5 Para seleccionar el anti-dominio espaciador específico de ADAMTS-5 por la tecnología SPLINT, el dominio espaciador de ADAMTS-5 (aa 732 a aa 874 de SEQ ID NO. 2) se clonó con el 3' de LexA (LexA-Sp ADAMTS-5: SEQ ID NO: 93) y se usó para retar una genoteca SPLINT de ratón (mSPLINT) y dos SPLINT humanas diferentes (huSPLINT_09 y huSPLINT_10) (Visintin y col, 2004. *J. Immunol Methods*. 290:135-153). A partir del procedimiento de selección se obtuvieron un total de 325 colonias capaces de crecer en ausencia de histidina y que mostraron activación de β -Galactosidasa. Los plásmidos scFv-VP16 se aislaron y se ordenaron por sus patrones y secuencias de restricción. La especificidad de scFvs con diferentes huellas de ADN se volvieron a analizar usando cepas de levadura que expresan LexA-Sp_ADAMTS-5 y LexA-lamina, como antígeno no relevante. Así se identificaron 11 anti-dominio espaciador scFvs. El análisis de las secuencias de nucleótidos de la región V del anti-espaciador scFv seleccionado reveló que eran derivados de los genes de la región V de la línea germinal (Tabla IV) con muy pocas mutaciones somáticas (datos no mostrados).

Tabla IV: Análisis de las secuencias de nucleótidos de la región V del anti-Espaciador scFv seleccionado

| CLON | CRB | SEQ. ID | identificación | | identificación | |
|------|---------|---------|-----------------------|--------------------------|----------------------|--|
| | | | Gen VH/gen J y alelo | | Gen VL/gen J y alelo | |
| M6 | CRB0017 | 3;4 | Musmus IGHV1-7*01 F; | Musmus IGKV2-112*01 F; | Musmus IGKJ2*01 F | |
| 7A | CRB0018 | 5;6 | Musmus IGHV4-1*02 F; | Musmus IGKV3-10*01 F; | Musmus IGKJ5*01 F | |
| 14 | CRB0019 | 7;8 | Musmus IGHV14-3*02 F; | Musmus IGKV6-23*01 F; | Musmus IGKJ2*01 F | |
| 7A | CRB0091 | 9;10 | Homsap IGHV4-34*01 F; | Homsap IGKV1-17*01 F; | Homsap IGKJ2*01 F | |
| C21 | CRB0092 | 11;12 | Homsap IGHV3-13*01 F; | Homsap IGLV1-40*02 F; | Homsap IGLJ7*01 F | |
| 47A | CRB0093 | 13;14 | Homsap IGHV3-72*01 F; | Homsap IGKV1-39*01 F; | Homsap IGKJ2*01 F | |
| 48B | CRB0094 | 15;16 | Homsap IGHV4-34*01 F; | Homsap IGLV2-14*01 F; | Homsap IGLJ3*02 F | |
| 15A | CRB0102 | 17;18 | Homsap IGHV1-24*01 F; | Homsap IGKV5-2*01 F; | Homsap IGKJ4*01 F | |
| S39 | CRB0122 | 19;20 | Homsap IGHV3-23*01 F; | Homsap IGLV9-49*01 F; | Homsap IGLJ1*01 F | |
| S50 | CRB0123 | 21;22 | Homsap IGHV3-30*03 F; | Homsap IGKV1D-17*02 [F]; | Homsap IGKJ1*01 F | |
| S53a | CRB0124 | 23;24 | Homsap IGHV1-24*01 F; | Homsap IGLV3-1*01 F; | Homsap IGLJ2*01 F | |

15 Las secuencias de aminoácidos de las regiones V de anti-Sp_ADAMTS-5 scFvs aislados están en el grupo de secuencias que consisten en SEQ ID NO: 3 y 4; 5 y 6; 7 y 8; 9 y 10; 11 y 12; 13 y 14; 15 y 16; 17 y 18; 19 y 20; 21 y 22; 23 y 24.

Expresión y plegamiento de anti-Espaciador scFv en el citoplasma de *E. coli*

20 Para identificar el anti-espaciador potencial en ligantes *in vivo*, se clonaron los ADNcs que expresan anti-Sp_ADAMTS-5 scFv en el vector de expresión pET41B de *E. coli*. Las proteínas se expresaron bien en el citoplasma y mayoritariamente se retuvieron en los cuerpos de inclusión (CI). Los fragmentos scFv se pueden plegar por diálisis después de la solubilización de CI (Umetsu y col., 2003. *J. Biol Chem*. 278:8.979-8.987. Epub 2003 Jan 8977). Los autores realizaron la técnica de plegamiento mediante dilución (Patil y col., 2008. *J. Biotechnol*. 134:218-221. Epub 2008 Jan 2018). La condición de plegamiento de scFv se optimizó para cada muestra. El scFv

25

replegado se cuantificó posteriormente por Bionalyzer 2100 (Agilent) y se ensayó por ELISA y análisis Biacore.

Especificidad de unión de anti-ADAMTS-5 a ADAMTS-5 humano

5 Para entender la especificidad del panel de anti-Sp_ADAMTS-5scFvs aislados de las genotecas SPLINT, se demostró la inmunoreactividad para Espaciador-GST (SEQ ID NO: 94) y ADAMTS-5 FL de estos anticuerpos. Todos los anti-espaciador scFvs eran reactivos con la proteína de fusión GST de la forma truncada de ADAMTS-5 en ensayo ELISA. Sin embargo, los scFvs de CRB0017, CRB0018 y CRB0093 eran ligeramente específicos y solamente se observó unión débil a proteína GST usada como control negativo (Figura 3).

10 La inmunoglobulina CRB001_IgG4 quimérica reformateada manifiesta el mismo patrón de inmunoreactividad en el ensayo ELISA de una manera dependiente de la dosis (Fig. 4). Se obtuvieron resultados similares con los anticuerpos monoclonales CRB0102 y CRB0123 (datos no mostrados). Además, el anti-Sp_ADAMTS-5 CRB0017_IgG4 quimérico (que comprende regiones variables de ratón) era capaz de inmunoprecipitar el recombinante de la proteína ADAMTS-5 FL, así como ADAMTS-4 FL humana recombinante (Fig. 6 y 7). Además, los autores llevaron a cabo análisis de resonancia de plasmón de superficie (SPR) para determinar las cinéticas de unión de CRB0017_IgG4. El anticuerpo monoclonal quimérico (mAb) o bien se inmovilizó sobre un chip CM5
15 seguido de inyecciones a diversas concentraciones de Sp_ADAMTS-5-GST o se usó como ligando en combinación con Sp_ADAMTS-5-GST-chip sensor inmovilizado. Usando un modelo de unión bivalente, los autores determinaron las constantes de unión del estado continuo (KD_2). Cuando se usó como ligante, los autores midieron una fuerza de unión por SPR alrededor de 7 nM subnanomolar de KD_2 (datos no mostrados). CRB0017_IgG4 manifestó también una fuerte afinidad (KD_1 de aproximadamente 2 nM) cuando se inmovilizó sobre el chip sensor (Fig. 5) que correlaciona mejor con los valores de unión determinados por ELISA específica a antígeno (Figura 4).

Medición de la actividad neutralizante de anti-ADAMTS-5

25 Los autores también evaluaron la inhibición de la degradación de agregano inducida por IL-1 α en el tejido de cartílago bovino. 48 h después de los tratamientos, se midió la proporción de GAG total restante en el tejido. Este análisis reveló que CRB0017_IgG4 inhibía la liberación de GAG (inhibición al 50 %) del tejido a concentración 20 nM (Fig. 8). En este experimento, el anticuerpo control (nhlgG4) no era capaz de interferir con la enzima a la misma concentración. Además, el TIMP-3 inhibidor natural no mostró marcadamente inhibición de la conversión mediada por IL-1 α y el proceso de liberación cuando se ensayó a la concentración de 20 nM (datos no mostrados). El compuesto químico Cpd23, un inhibidor basado en hidroxamato de 3,3-dimetil-5-hidroxipiperidino de agreganasa y MMP-13 (usado a la concentración de 1 μ M, Noe y col., 2005. *Bioorg Med Chem Lett.* 15:2.808-2.811), se usó como control positivo, porque manifiesta un mejor efecto inhibidor respecto al inhibidor natural TIMP-3 en este ensayo.

Evaluación del efecto de CRB0016_IgG4 en el modelo de ratón STR/ort de osteoartritis

Se administró la proteína CRB0016_IgG4 de unión a HelixB-ADAMTS-5 intraarticularmente en ambas rodillas de cada animal, una vez al inicio del experimento y de nuevo después de 6 semanas, a dosis de 1,2 y 12 μ g/rodilla.

35 Después de tres meses, los autores observaron que las rodillas de los animales tratados con vehiculizante manifestaban OA grave con fisura y erosión del cartílago articular al hueso subcondral, con metaplasias condro-óseas prominentes y con frecuencia inflamación y pannus. No se asociaron cambios significativos en ninguno de los parámetros examinados con la administración de CRB0016_IgG4 a ninguna dosis.

40 El procedimiento de puntuación ciega de las muestras histológicas no mostró efecto del compuesto en la reducción del daño de cartílago. Tomándolos en conjunto, estos datos muestran que la administración intraarticular de rodilla de la proteína CRB0016_IgG4 de unión a HelixB-ADAMTS-5 dos veces en tres meses no pudo reducir la gravedad de la patología osteoartítica en los ratones STR/ort.

Evaluación del efecto de CRB0017_IgG4 en el modelo de ratón STR/ort de osteoartritis

45 Se administró CRB0017_IgG4 intraarticularmente en ambas rodillas de cada animal, una vez al inicio del experimento y de nuevo después de 6 semanas, a dosis de 1,2 y 12 μ g/rodilla. Después de tres meses, los autores observaron que las rodillas de los animales tratados con vehiculizante manifestaban OA grave con fisura y erosión del cartílago articular al hueso subcondral, con metaplasias condro-óseas prominentes y con frecuencia inflamación y pannus. La puntuación de Mankin de OA disminuyó significativamente en el grupo de 12 μ g de CRB0017_IgG4 en comparación con vehiculizante. El grado de OA por fase toma en cuenta no solamente la profundidad del daño (grado), sino también su extensión sobre la superficie articular (fase). El grado por fase de OA era significativamente inferior en el grupo de 12 μ g de CRB0017_IgG4 en comparación con el vehiculizante. La administración de 1,2 μ g de CRB0017_IgG4 estaba asociada con una tendencia a disminuir con ambos métodos de puntuación. En conclusión, los autores observaron que CRB0017_IgG4 puede modificar el curso de OA en la cepa de ratón STR/ort, retrasando la rotura de cartílago cuando se valora histológicamente. El procedimiento de la puntuación ciega de las muestras histológicas claramente mostró un efecto dependiente de dosis del compuesto en la disminución del daño de cartílago.

55 Tomándolos en conjunto, estos datos muestran que la administración intraarticular en rodilla de CRB0017_IgG4 dos

veces en tres meses redujo la gravedad de la patología osteoartrítica en los ratones STR/ort.

Algunas enzimas proteolíticas, además de sus dominios catalíticos, también tienen dominios auxiliares no catalíticos que son moduladores importantes de la interacción entre la enzima y el sustrato o inhibidores.

5 Miembros de la familia ADAMTS de enzimas degradan proteoglicanos y de ese modo tienen el potencial para alterar la arquitectura del tejido y regular la función celular.

En particular, ADAMTS-4 y ADAMTS-5 pueden escindir el agregano en diversos sitios, liberando las regiones que portan condroitina y queratán sulfato de la molécula del tejido. Esto se demostró que era una etapa temprana y crucial en el desarrollo de la osteoartritis.

10 Estas enzimas también pueden ser proteolizadas a isoformas más pequeñas, las cuales han alterado la actividad proteolítica.

Desafortunadamente, no se conoce la arquitectura del dominio 3D de las agreganasas de longitud completa, porque es muy difícil obtener las estructuras por rayos X de estas enzimas, debido a la complejidad de producir y purificar estas proteínas.

15 Hasta la fecha, solamente los dominios catalíticos y de desintegrina de ADAMTS1, ADAMTS-4 y ADAMTS-5 están disponibles y así es imposible extrapolar las disposiciones y la orientación de estos dominios respecto al dominio catalítico. Las estructuras de cristal de los dominios catalíticos y de desintegrina de ADAMTS-4 y ADAMTS-5 determinados por Mosyak (Mosyak y col., 2008. *Protein Sci.* 17:16-21) indicaron que las enzimas manifiestan una forma "abierta" cuando se unen al inhibidor y una forma "cerrada" cuando es autoinhiben y no unión. En base a esto, el autor propuso que esa agreganasa madura existe como una mezcla de dos isómeros, que pueden coexistir en equilibrio. En este "ensamblaje" solamente una de estas formas es proteolíticamente activa. Además, se demostró que tanto la forma de longitud completa de ADAMTS-5 como de ADAMTS-4 son altamente activas frente a su sustrato natural, agregano, y la delección de los dominios no catalíticos C terminales de las enzimas reducen mucho su actividad (Kashiwagi y col., 2004. *J. Biol Chem.* 279:10.109-10.119); (Gendron y col., 2007. *J. Biol Chem.* 282:18.294-18.306); (Fushimi y col., 2008. *J. Biol Chem.* 283:6.706-6.716). Esto sugiere que los dominios por sí mismos o en el modo de unión a proteína pueden perturbar el equilibrio a la forma más abierta.

25 La invención proporciona la evidencia de que un anticuerpo dirigido a un dominio no catalítico auxiliar, tal como el dominio espaciador de ADAMTS-5, podría fuertemente inhibir la actividad enzimática de esta proteína. Los resultados obtenidos con el anti-dominio espaciador CRB0017_IgG4 instruyen el concepto de que la inhibición de la agreganasa2 dentro del dominio espaciador es más competente que la inhibición de la enzima dentro del dominio catalítico. Particularmente, se ha mostrado que, mientras CRB0017_IgG4 es capaz de inhibir fuertemente *in vitro* e *in vivo* el efecto proteolítico de ADAMTS-5, un anticuerpo anti-catalítico, tal como CRB0016_IgG4, no es capaz de producir un efecto similar.

30 Los resultados destacados obtenidos con el anticuerpo CRB0017_IgG4 no son por casualidad sino debido al bloqueo del dominio espaciador de ADAMTS-5. Al unirse al sitio activo de ADAMTS-5, los anticuerpos de la invención provocan que la enzima asuma una forma "cerrada" para así inhibir la enzima directamente o favorecer la interacción de la enzima con su inhibidor natural TIMP-3, como la hipótesis de Troeberg (Troeberg y col., 2009. *Matrix Biol.* 28:463-469).

35

Listado de secuencias

<110> Rottapharm Biotech S.r.l.
 VISINTIN, Michela
 5 CASELLI, Gianfranco
 CHIUSAROLI, Riccardo
 ROVATI, Lucio Claudio

<120> Anticuerpo anti-ADAMTS-5, derivados y usos del mismo
 10 <130> BE 115522

<160> 216

15 <170> PatentIn version 3.5

<210> 1
 <211> 837
 <212> PRT
 20 <213> Homo sapiens

<400> 1

Met Ser Gln Thr Gly Ser His Pro Gly Arg Gly Leu Ala Gly Arg Trp
 1 5 10 15

Leu Trp Gly Ala Gln Pro Cys Leu Leu Leu Pro Ile Val Pro Leu Ser
 20 25 30

Trp Leu Val Trp Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ser Leu Leu Pro Ser
 35 40 45

Ala Arg Leu Ala Ser Pro Leu Pro Arg Glu Glu Glu Ile Val Phe Pro
 50 55 60

Glu Lys Leu Asn Gly Ser Val Leu Pro Gly Ser Gly Ala Pro Ala Arg
 65 70 75 80

Leu Leu Cys Arg Leu Gln Ala Phe Gly Glu Thr Leu Leu Leu Glu Leu
 85 90 95

Glu Gln Asp Ser Gly Val Gln Val Glu Gly Leu Thr Val Gln Tyr Leu
 100 105 110

Gly Gln Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ala Glu Pro Gly Thr Tyr Leu
 115 120 125

Thr Gly Thr Ile Asn Gly Asp Pro Glu Ser Val Ala Ser Leu His Trp
 130 135 140

Asp Gly Gly Ala Leu Leu Gly Val Leu Gln Tyr Arg Gly Ala Glu Leu
 145 150 155 160

His Leu Gln Pro Leu Glu Gly Gly Thr Pro Asn Ser Ala Gly Gly Pro
 165 170 175

25

ES 2 588 484 T3

Gly Ala His Ile Leu Arg Arg Lys Ser Pro Ala Ser Gly Gln Gly Pro
 180 185 190

Met Cys Asn Val Lys Ala Pro Leu Gly Ser Pro Ser Pro Arg Pro Arg
 195 200 205

Arg Ala Lys Arg Phe Ala Ser Leu Ser Arg Phe Val Glu Thr Leu Val
 210 215 220

Val Ala Asp Asp Lys Met Ala Ala Phe His Gly Ala Gly Leu Lys Arg
 225 230 235 240

Tyr Leu Leu Thr Val Met Ala Ala Ala Ala Lys Ala Phe Lys His Pro
 245 250 255

Ser Ile Arg Asn Pro Val Ser Leu Val Val Thr Arg Leu Val Ile Leu
 260 265 270

Gly Ser Gly Glu Glu Gly Pro Gln Val Gly Pro Ser Ala Ala Gln Thr
 275 280 285

Leu Arg Ser Phe Cys Ala Trp Gln Arg Gly Leu Asn Thr Pro Glu Asp
 290 295 300

Ser Asp Pro Asp His Phe Asp Thr Ala Ile Leu Phe Thr Arg Gln Asp
 305 310 315 320

Leu Cys Gly Val Ser Thr Cys Asp Thr Leu Gly Met Ala Asp Val Gly
 325 330 335

Thr Val Cys Asp Pro Ala Arg Ser Cys Ala Ile Val Glu Asp Asp Gly
 340 345 350

Leu Gln Ser Ala Phe Thr Ala Ala His Glu Leu Gly His Val Phe Asn
 355 360 365

Met Leu His Asp Asn Ser Lys Pro Cys Ile Ser Leu Asn Gly Pro Leu
 370 375 380

Ser Thr Ser Arg His Val Met Ala Pro Val Met Ala His Val Asp Pro
 385 390 395 400

Glu Glu Pro Trp Ser Pro Cys Ser Ala Arg Phe Ile Thr Asp Phe Leu
 405 410 415

Asp Asn Gly Tyr Gly His Cys Leu Leu Asp Lys Pro Glu Ala Pro Leu
 420 425 430

ES 2 588 484 T3

His Leu Pro Val Thr Phe Pro Gly Lys Asp Tyr Asp Ala Asp Arg Gln
 435 440 445

Cys Gln Leu Thr Phe Gly Pro Asp Ser Arg His Cys Pro Gln Leu Pro
 450 455 460

Pro Pro Cys Ala Ala Leu Trp Cys Ser Gly His Leu Asn Gly His Ala
 465 470 475 480

Met Cys Gln Thr Lys His Ser Pro Trp Ala Asp Gly Thr Pro Cys Gly
 485 490 495

Pro Ala Gln Ala Cys Met Gly Gly Arg Cys Leu His Met Asp Gln Leu
 500 505 510

Gln Asp Phe Asn Ile Pro Gln Ala Gly Gly Trp Gly Pro Trp Gly Pro
 515 520 525

Trp Gly Asp Cys Ser Arg Thr Cys Gly Gly Gly Val Gln Phe Ser Ser
 530 535 540

Arg Asp Cys Thr Arg Pro Val Pro Arg Asn Gly Gly Lys Tyr Cys Glu
 545 550 555 560

Gly Arg Arg Thr Arg Phe Arg Ser Cys Asn Thr Glu Asp Cys Pro Thr
 565 570 575

Gly Ser Ala Leu Thr Phe Arg Glu Glu Gln Cys Ala Ala Tyr Asn His
 580 585 590

Arg Thr Asp Leu Phe Lys Ser Phe Pro Gly Pro Met Asp Trp Val Pro
 595 600 605

Arg Tyr Thr Gly Val Ala Pro Gln Asp Gln Cys Lys Leu Thr Cys Gln
 610 615 620

Ala Gln Ala Leu Gly Tyr Tyr Tyr Val Leu Glu Pro Arg Val Val Asp
 625 630 635 640

Gly Thr Pro Cys Ser Pro Asp Ser Ser Ser Val Cys Val Gln Gly Arg
 645 650 655

Cys Ile His Ala Gly Cys Asp Arg Ile Ile Gly Ser Lys Lys Lys Phe
 660 665 670

Asp Lys Cys Met Val Cys Gly Gly Asp Gly Ser Gly Cys Ser Lys Gln
 675 680 685

ES 2 588 484 T3

Ser Gly Ser Phe Arg Lys Phe Arg Tyr Gly Tyr Asn Asn Val Val Thr
690 695 700

Ile Pro Ala Gly Ala Thr His Ile Leu Val Arg Gln Gln Gly Asn Pro
705 710 715 720

Gly His Arg Ser Ile Tyr Leu Ala Leu Lys Leu Pro Asp Gly Ser Tyr
725 730 735

Ala Leu Asn Gly Glu Tyr Thr Leu Met Pro Ser Pro Thr Asp Val Val
740 745 750

Leu Pro Gly Ala Val Ser Leu Arg Tyr Ser Gly Ala Thr Ala Ala Ser
755 760 765

Glu Thr Leu Ser Gly His Gly Pro Leu Ala Gln Pro Leu Thr Leu Gln
770 775 780

Val Leu Val Ala Gly Asn Pro Gln Asp Thr Arg Leu Arg Tyr Ser Phe
785 790 795 800

Phe Val Pro Arg Pro Thr Pro Ser Thr Pro Arg Pro Thr Pro Gln Asp
805 810 815

Trp Leu His Arg Arg Ala Gln Ile Leu Glu Ile Leu Arg Arg Arg Pro
820 825 830

Trp Ala Gly Arg Lys
835

<210> 2

<211> 930

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Leu Leu Gly Trp Ala Ser Leu Leu Leu Cys Ala Phe Arg Leu Pro
1 5 10 15

Leu Ala Ala Val Gly Pro Ala Ala Thr Pro Ala Gln Asp Lys Ala Gly
20 25 30

Gln Pro Pro Thr Ala Ala Ala Ala Ala Gln Pro Arg Arg Arg Gln Gly
35 40 45

Glu Glu Val Gln Glu Arg Ala Glu Pro Pro Gly His Pro His Pro Leu
50 55 60

Ala Gln Arg Arg Arg Ser Lys Gly Leu Val Gln Asn Ile Asp Gln Leu
65 70 75 80

10

ES 2 588 484 T3

Tyr Ser Gly Gly Gly Lys Val Gly Tyr Leu Val Tyr Ala Gly Gly Arg
 85 90 95
 Arg Phe Leu Leu Asp Leu Glu Arg Asp Gly Ser Val Gly Ile Ala Gly
 100 105 110
 Phe Val Pro Ala Gly Gly Gly Thr Ser Ala Pro Trp Arg His Arg Ser
 115 120 125
 His Cys Phe Tyr Arg Gly Thr Val Asp Gly Ser Pro Arg Ser Leu Ala
 130 135 140
 Val Phe Asp Leu Cys Gly Gly Leu Asp Gly Phe Phe Ala Val Lys His
 145 150 155 160
 Ala Arg Tyr Thr Leu Lys Pro Leu Leu Arg Gly Pro Trp Ala Glu Glu
 165 170 175
 Glu Lys Gly Arg Val Tyr Gly Asp Gly Ser Ala Arg Ile Leu His Val
 180 185 190
 Tyr Thr Arg Glu Gly Phe Ser Phe Glu Ala Leu Pro Pro Arg Ala Ser
 195 200 205
 Cys Glu Thr Pro Ala Ser Thr Pro Glu Ala His Glu His Ala Pro Ala
 210 215 220
 His Ser Asn Pro Ser Gly Arg Ala Ala Leu Ala Ser Gln Leu Leu Asp
 225 230 235 240
 Gln Ser Ala Leu Ser Pro Ala Gly Gly Ser Gly Pro Gln Thr Trp Trp
 245 250 255
 Arg Arg Arg Arg Arg Ser Ile Ser Arg Ala Arg Gln Val Glu Leu Leu
 260 265 270
 Leu Val Ala Asp Ala Ser Met Ala Arg Leu Tyr Gly Arg Gly Leu Gln
 275 280 285
 His Tyr Leu Leu Thr Leu Ala Ser Ile Ala Asn Arg Leu Tyr Ser His
 290 295 300
 Ala Ser Ile Glu Asn His Ile Arg Leu Ala Val Val Lys Val Val Val
 305 310 315 320
 Leu Gly Asp Lys Asp Lys Ser Leu Glu Val Ser Lys Asn Ala Ala Thr
 325 330 335

ES 2 588 484 T3

Thr Leu Lys Asn Phe Cys Lys Trp Gln His Gln His Asn Gln Leu Gly
 340 345 350

Asp Asp His Glu Glu His Tyr Asp Ala Ala Ile Leu Phe Thr Arg Glu
 355 360 365

Asp Leu Cys Gly His His Ser Cys Asp Thr Leu Gly Met Ala Asp Val
 370 375 380

Gly Thr Ile Cys Ser Pro Glu Arg Ser Cys Ala Val Ile Glu Asp Asp
 385 390 395 400

Gly Leu His Ala Ala Phe Thr Val Ala His Glu Ile Gly His Leu Leu
 405 410 415

Gly Leu Ser His Asp Asp Ser Lys Phe Cys Glu Glu Thr Phe Gly Ser
 420 425 430

Thr Glu Asp Lys Arg Leu Met Ser Ser Ile Leu Thr Ser Ile Asp Ala
 435 440 445

Ser Lys Pro Trp Ser Lys Cys Thr Ser Ala Thr Ile Thr Glu Phe Leu
 450 455 460

Asp Asp Gly His Gly Asn Cys Leu Leu Asp Leu Pro Arg Lys Gln Ile
 465 470 475 480

Leu Gly Pro Glu Glu Leu Pro Gly Gln Thr Tyr Asp Ala Thr Gln Gln
 485 490 495

Cys Asn Leu Thr Phe Gly Pro Glu Tyr Ser Val Cys Pro Gly Met Asp
 500 505 510

Val Cys Ala Arg Leu Trp Cys Ala Val Val Arg Gln Gly Gln Met Val
 515 520 525

Cys Leu Thr Lys Lys Leu Pro Ala Val Glu Gly Thr Pro Cys Gly Lys
 530 535 540

Gly Arg Ile Cys Leu Gln Gly Lys Cys Val Asp Lys Thr Lys Lys Lys
 545 550 555 560

Tyr Tyr Ser Thr Ser Ser His Gly Asn Trp Gly Ser Trp Gly Ser Trp
 565 570 575

Gly Gln Cys Ser Arg Ser Cys Gly Gly Gly Val Gln Phe Ala Tyr Arg
 580 585 590

ES 2 588 484 T3

His Cys Asn Asn Pro Ala Pro Arg Asn Asn Gly Arg Tyr Cys Thr Gly
 595 600 605
 Lys Arg Ala Ile Tyr Arg Ser Cys Ser Leu Met Pro Cys Pro Pro Asn
 610 615 620
 Gly Lys Ser Phe Arg His Glu Gln Cys Glu Ala Lys Asn Gly Tyr Gln
 625 630 635 640
 Ser Asp Ala Lys Gly Val Lys Thr Phe Val Glu Trp Val Pro Lys Tyr
 645 650 655
 Ala Gly Val Leu Pro Ala Asp Val Cys Lys Leu Thr Cys Arg Ala Lys
 660 665 670
 Gly Thr Gly Tyr Tyr Val Val Phe Ser Pro Lys Val Thr Asp Gly Thr
 675 680 685
 Glu Cys Arg Leu Tyr Ser Asn Ser Val Cys Val Arg Gly Lys Cys Val
 690 695 700
 Arg Thr Gly Cys Asp Gly Ile Ile Gly Ser Lys Leu Gln Tyr Asp Lys
 705 710 715 720
 Cys Gly Val Cys Gly Gly Asp Asn Ser Ser Cys Thr Lys Ile Val Gly
 725 730 735
 Thr Phe Asn Lys Lys Ser Lys Gly Tyr Thr Asp Val Val Arg Ile Pro
 740 745 750
 Glu Gly Ala Thr His Ile Lys Val Arg Gln Phe Lys Ala Lys Asp Gln
 755 760 765
 Thr Arg Phe Thr Ala Tyr Leu Ala Leu Lys Lys Lys Asn Gly Glu Tyr
 770 775 780
 Leu Ile Asn Gly Lys Tyr Met Ile Ser Thr Ser Glu Thr Ile Ile Asp
 785 790 795 800
 Ile Asn Gly Thr Val Met Asn Tyr Ser Gly Trp Ser His Arg Asp Asp
 805 810 815
 Phe Leu His Gly Met Gly Tyr Ser Ala Thr Lys Glu Ile Leu Ile Val
 820 825 830
 Gln Ile Leu Ala Thr Asp Pro Thr Lys Pro Leu Asp Val Arg Tyr Ser
 835 840 845
 Phe Phe Val Pro Lys Lys Ser Thr Pro Lys Val Asn Ser Val Thr Ser

ES 2 588 484 T3

850

855

860

His Gly Ser Asn Lys Val Gly Ser His Thr Ser Gln Pro Gln Trp Val
865 870 875 880

Thr Gly Pro Trp Leu Ala Cys Ser Arg Thr Cys Asp Thr Gly Trp His
885 890 895

Thr Arg Thr Val Gln Cys Gln Asp Gly Asn Arg Lys Leu Ala Lys Gly
900 905 910

Cys Pro Leu Ser Gln Arg Pro Ser Ala Phe Lys Gln Cys Leu Leu Lys
915 920 925

Lys Cys
930

<210> 3

<211> 112

<212> PRT

<213> Mus musculus

5

<400> 3

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

Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys
20 25 30

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

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

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

Ser Arg Val Lys Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu
85 90 95

Val Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

10

<210> 4

<211> 117

<212> PRT

<213> Mus musculus

15

<400> 4

ES 2 588 484 T3

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

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Gly Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Asp Leu Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 5
<211> 110
<212> PRT
<213> Mus musculus

5

<400> 5

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

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

Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Pro Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

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

Pro Val Glu Ala Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn
85 90 95

Glu Glu Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

10

<210> 6
<211> 117
<212> PRT
<213> Mus musculus

15

<400> 6

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Thr Thr Ser Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Asp Lys Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Arg Ser Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr Ser
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

5 <210> 7
<211> 107
<212> PRT
<213> Mus musculus

10 <400> 7

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Glu Gly
1 5 10 15

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

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

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

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Ile Cys Gln Gln Tyr Cys Ser His Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

15 <210> 8
<211> 116
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 8

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

5

<210> 9
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 9

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

15

<210> 10
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

ES 2 588 484 T3

<400> 10

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

5

<210> 11
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 11

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

15

<210> 12
 <211> 130
 <212> PRT

ES 2 588 484 T3

<213> Homo sapiens

<400> 12

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Arg Phe Ser Ser His
20 25 30

Asp Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Arg Ile Gly Thr Val Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

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

Gln Met Asn Ser Leu Gly Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Gly Thr Arg Tyr Cys Ser Arg Thr Ser Cys His Ser Gly Tyr
100 105 110

5 Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
115 120 125

Ser Ser
130

10 <210> 13
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

15 <400> 13

ES 2 588 484 T3

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

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

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

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

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

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

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

<210> 14
<211> 121
5 <212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 14

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp His
20 25 30

Tyr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

10 Gly Arg Ile Arg Asn Lys Ala Asn Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Thr Ser Leu Lys Thr Asp Asp Thr Ala Leu Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Gly Ala Ser Asp Ala Phe Gly Leu Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

15 <210> 15
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20 <400> 15

ES 2 588 484 T3

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

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Ser Thr Leu Glu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 16
<211> 129
5 <212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 16

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Thr Ile Trp Ser Thr Arg His Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Tyr Ser
100 105 110

Ser Asn Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser
15 <210> 17
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 17

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

5

<210> 18
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 18

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

15

<210> 19
 <211> 116
 <212> PRT

ES 2 588 484 T3

<213> Homo sapiens

<400> 19

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

Ser Val Thr Leu Thr Cys Thr Leu Ser Ser Gly Tyr Ser Asn Tyr Lys
20 25 30

Val Asp Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys Gly Pro Arg Phe Val Met
35 40 45

Arg Val Gly Thr Gly Gly Thr Val Gly Ser Lys Gly Asp Gly Ile Pro
50 55 60

5 Asp Arg Phe Ser Val Leu Gly Ser Gly Leu Asn Arg Tyr Leu Ile Ile
65 70 75 80

Lys Asn Ile Gln Glu Glu Asp Glu Thr Asp Tyr His Cys Gly Ala Asp
85 90 95

His Gly Ser Gly Ser Asn Phe Val Tyr Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys
100 105 110

Val Thr Val Leu
115

<210> 20

10 <211> 121

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

15

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Arg Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Arg Asp Leu Leu His Lys Asp Gly Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 21
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 21

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

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

10

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

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

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

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

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

<210> 22
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15

<400> 22

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
 20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Thr Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Thr Ile Ser Phe Asp Gly Thr Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Glu Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Asp Trp Ser Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

20

ES 2 588 484 T3

<210> 23
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 23

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

10

<210> 24
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15

<400> 24

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

20

<210> 25
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

5

<400> 25

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

Glu Arg Val Thr Met Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Leu Trp
 35 40 45

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu
 65 70 75 80

Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Arg Gln Tyr His Ser Tyr Pro
 85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

10

<210> 26
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

15

<400> 26

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

Ser Val Glu Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Asp Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Ser Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Thr Thr Val Glu Lys Leu Tyr Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser
 115

20

<210> 27
 <211> 16
 <212> PRT
 5 <213> Mus musculus

 <400> 27

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr
1 5 10 15
 10
 <210> 28
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 15
 <400> 28

Leu Met Ser Thr Arg Ala Ser
1 5
 20
 <210> 29
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 25
 <400> 29

Gln Gln Leu Val Glu Tyr Pro Tyr Thr
1 5
 30
 <210> 30
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 35
 <400> 30

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr Gly Asn Ser Phe Met His
1 5 10 15
 40
 <210> 31
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 45
 <400> 31

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5
 50
 <210> 32
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 55
 <400> 32

Gln Gln Asn Asn Glu Glu Leu Thr
1 5
 60
 <210> 33
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 33

Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Ala
1 5 10

5 <210> 34
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

10 <400> 34

Trp Ala Ser Thr Arg His Thr
1 5

15 <210> 35
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 35

Gln Gln Tyr Cys Ser His Pro Tyr Thr
1 5

20 <210> 36
 <211> 11
 <212> PRT
 25 <213> Homo sapiens

<400> 36

Arg Ala Ser Gln Ala Ile Gly Asn Asp Leu Ala
1 5 10

30 <210> 37
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

35 <400> 37

Gly Ala Ser Thr Leu Ser Ser
1 5

40 <210> 38
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

45 <400> 38

Gln Gln Tyr Asn Asn Phe Pro Tyr Thr
1 5

50 <210> 39
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 39

55 **Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His**
1 5 10

60 <210> 40
 <211> 7
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

Gly Asn Asp Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 41

<211> 12

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 41

Gln Ser Tyr Asp Asn Ser Leu Ser Gly Tyr Ala Val
1 5 10

15

<210> 42

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20

<400> 42

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

25

<210> 43

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

30

<400> 43

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

35

<210> 44

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

40

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 45

<211> 14

45

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 45

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
1 5 10

50

<210> 46

<211> 7

<212> PRT

55

<213> Homo sapiens

<400> 46

Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser
1 5

60

<210> 47
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 47

Ser Ser Tyr Thr Arg Arg Ser Thr Leu Glu
1 5 10
 10
 <210> 48
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15
 <400> 48

Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asp Asp Met Asn
1 5 10
 20
 <210> 49
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25
 <400> 49

Glu Ala Thr Thr Leu Val Pro
1 5
 30
 <210> 50
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35
 <400> 50

Pro Gln Gln Asp Asn Val Pro Leu Thr
1 5
 40
 <210> 51
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45
 <400> 51

Thr Leu Ser Ser Gly Tyr Ser Asn Tyr Lys Val Asp
1 5 10
 50
 <210> 52
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 55
 <400> 52

Val Gly Thr Gly Gly Thr Val Gly Ser Lys Gly Asp
1 5 10
 60
 <210> 53
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 60
 <400> 53

Gly Ala Asp His Gly Ser Gly Ser Asn Phe Val Tyr Val
1 5 10
 5 <210> 54
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 54

Arg Pro Ser Gln Gly Ile Gly Lys Tyr Ser Ala
1 5 10
 10 <210> 55
 <211> 7
 <212> PRT
 15 <213> Homo sapiens
 <400> 55

Leu Ala Ser Thr Leu Gln Ser
1 5
 20 <210> 56
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25 <400> 56

Leu Gln Arg Asn Thr Tyr Pro Trp Thr
1 5
 30 <210> 57
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35 <400> 57

Ser Gly Asp Lys Leu Glu Asp Lys Tyr Ala Cys
1 5 10
 40 <210> 58
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 58

His Asp Tyr Lys Arg Pro Ser
1 5
 45 <210> 59
 <211> 11
 50 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 59

Gln Val Trp Asp Ser Gly Ser Asp Asp Gln Val
1 5 10
 55 <210> 60
 <211> 5
 <212> PRT
 60 <213> Mus musculus

<400> 60

Ser Tyr Trp Met His
1 5

5 <210> 61
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

10 <400> 61

Tyr Ile Asn Pro Ser Thr Gly Tyr Thr Glu Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asp

15 <210> 62
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

20 <400> 62

Gly Gly Tyr Asp Asp Leu Gly Tyr
1 5

25 <210> 63
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

30 <400> 63

Arg Tyr Trp Met Ser
1 5

35 <210> 64
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 64

Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu Lys
1 5 10 15

40 **Asp**

<210> 65
 <211> 8
 <212> PRT

45 <213> Mus musculus

<400> 65

Arg Ser Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
1 5

50 <210> 66
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

55

<400> 66

Asp Thr Tyr Met His
1 5

5 <210> 67
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

10 <400> 67

Arg Ile Asp Pro Ala His Gly Arg Thr Lys Tyr Asp Pro Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

15 <210> 68
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

20 <400> 68

Tyr Ser Tyr Ala Ile Asp Tyr
1 5

25 <210> 69
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 69

30 **Gly Asn Phe Trp Ser**
1 5

<210> 70
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 70

40 **Glu Val Asn His Arg Gly Ser Ala Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser**
1 5 10 15

<210> 71
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

45 <400> 71

Lys Leu Pro Arg Arg Arg Ala Glu Asp Arg Pro Ser Ser Leu Arg Pro
1 5 10 15

50 **Phe Asp Tyr**

<210> 72
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 72

Ser His Asp Met His
1 5
 5 <210> 73
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 73

Arg Ile Gly Thr Val Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15
 10 <210> 74
 <211> 22
 <212> PRT
 15 <213> Homo sapiens
 <400> 74

Asp Gly Thr Arg Tyr Cys Ser Arg Thr Ser Cys His Ser Gly Tyr Tyr
1 5 10 15

Tyr Tyr Gly Met Asp Val
20
 20 <210> 75
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25 <400> 75

Asp His Tyr Met Asp
1 5
 30 <210> 76
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35 <400> 76

Arg Ile Arg Asn Lys Ala Asn Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly
 40 <210> 77
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 77

Asp Leu Gly Ala Ser Asp Ala Phe Gly Leu
1 5 10
 45 <210> 78
 <211> 5
 50 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 78

Gly Tyr Tyr Trp Ser
1 5
 <210> 79
 <211> 16
 5 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 79

Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 10 **1 5 10 15**
 <210> 80
 <211> 21
 <212> PRT
 15 <213> Homo sapiens
 <400> 80

Thr Ile Trp Ser Thr Arg His Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Tyr Ser Ser
1 5 10 15

Asn Trp Phe Asp Pro
20 20
 20 <210> 81
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25 <400> 81

Glu Tyr Pro Ile His
1 5
 30 <210> 82
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35 <400> 82

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

Gly
 40 <210> 83
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 83
 45
Gly Pro Gly Tyr Gly Ala Leu Val Thr Ser Phe Thr Ser
1 5 10
 <210> 84
 <211> 5
 50 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 84

Ser Tyr Ala Met Thr
1 5

5 <210> 85
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 85

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

10 **Gly**
 <210> 86
 <211> 12
 <212> PRT
 15 <213> Homo sapiens
 <400> 86

Asp Arg Asp Leu Leu His Lys Asp Gly Phe Asp Ile
1 5 10

20 <210> 87
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25 <400> 87

Gly Tyr Gly Met Asn
1 5

30 <210> 88
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35 <400> 88

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

Gly

40 <210> 89
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 89

Asp Trp Ser Tyr Ala Met Asp Val
1 5

45 <210> 90
 <211> 5
 50 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 90

Glu Tyr Pro Ile His
1 5

5 <210> 91
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 91

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

10 **Gly**

15 <210> 92
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 92

20 **Gly Pro Gly Tyr Gly Ala Leu Val Thr Ser Phe Thr Ser**
1 5 10

25 <210> 93
<211> 352
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> secuencia sintética

30 <400> 93

ES 2 588 484 T3

Met Lys Ala Leu Thr Ala Arg Gln Gln Glu Val Phe Asp Leu Ile Arg
 1 5 10 15

Asp His Ile Ser Gln Thr Gly Met Pro Pro Thr Arg Ala Glu Ile Ala
 20 25 30

Gln Arg Leu Gly Phe Arg Ser Pro Asn Ala Ala Glu Glu His Leu Lys
 35 40 45

Ala Leu Ala Arg Lys Gly Val Ile Glu Ile Val Ser Gly Ala Ser Arg
 50 55 60

Gly Ile Arg Leu Leu Gln Glu Glu Glu Glu Gly Leu Pro Leu Val Gly
 65 70 75 80

Arg Val Ala Ala Gly Glu Pro Leu Leu Ala Gln Gln His Ile Glu Gly
 85 90 95

His Tyr Gln Val Asp Pro Ser Leu Phe Lys Pro Asn Ala Asp Phe Leu
 100 105 110

Leu Arg Val Ser Gly Met Ser Met Lys Asp Ile Gly Ile Met Asp Gly
 115 120 125

Asp Leu Leu Ala Val His Lys Thr Gln Asp Val Arg Asn Gly Gln Val
 130 135 140

Val Val Ala Arg Ile Asp Asp Glu Val Thr Val Lys Arg Leu Lys Lys
 145 150 155 160

Gln Gly Asn Lys Val Glu Leu Leu Pro Glu Asn Ser Glu Phe Lys Pro
 165 170 175

Ile Val Val Asp Leu Arg Gln Gln Ser Phe Thr Ile Glu Gly Leu Ala
 180 185 190

Val Gly Val Ile Arg Asn Gly Asp Trp Leu Glu Phe Thr Lys Ile Val
 195 200 205

ES 2 588 484 T3

Gly Thr Phe Asn Lys Lys Ser Lys Gly Tyr Thr Asp Val Val Arg Ile
210 215 220

Pro Glu Gly Ala Thr His Ile Lys Val Arg Gln Phe Lys Ala Lys Asp
225 230 235 240

Gln Thr Arg Phe Thr Ala Tyr Leu Ala Leu Lys Lys Lys Asn Gly Glu
245 250 255

Tyr Leu Ile Asn Gly Lys Tyr Met Ile Ser Thr Ser Glu Thr Ile Ile
260 265 270

Asp Ile Asn Gly Thr Val Met Asn Tyr Ser Gly Trp Ser His Arg Asp
275 280 285

Asp Phe Leu His Gly Met Gly Tyr Ser Ala Thr Lys Glu Ile Leu Ile
290 295 300

Val Gln Ile Leu Ala Thr Asp Pro Thr Lys Pro Leu Asp Val Arg Tyr
305 310 315 320

Ser Phe Phe Val Pro Lys Lys Ser Thr Pro Lys Val Asn Ser Val Thr
325 330 335

Ser His Gly Ser Asn Lys Val Gly Ser His Thr Lys Ile Tyr Ala Ile
340 345 350

<210> 94

<211> 424

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> secuencia sintética

10

<400> 94

Met Ser Pro Ile Leu Gly Tyr Trp Lys Ile Lys Gly Leu Val Gln Pro
1 5 10 15

Thr Arg Leu Leu Leu Glu Tyr Leu Glu Glu Lys Tyr Glu Glu His Leu
20 25 30

Tyr Glu Arg Asp Glu Gly Asp Lys Trp Arg Asn Lys Lys Phe Glu Leu
35 40 45

Gly Leu Glu Phe Pro Asn Leu Pro Tyr Tyr Ile Asp Gly Asp Val Lys
50 55 60

Leu Thr Gln Ser Met Ala Ile Ile Arg Tyr Ile Ala Asp Lys His Asn
65 70 75 80

ES 2 588 484 T3

Met Leu Gly Gly Cys Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ile Ser Met Leu Glu
85 90 95

Gly Ala Val Leu Asp Ile Arg Tyr Gly Val Ser Arg Ile Ala Tyr Ser
100 105 110

Lys Asp Phe Glu Thr Leu Lys Val Asp Phe Leu Ser Lys Leu Pro Glu
115 120 125

Met Leu Lys Met Phe Glu Asp Arg Leu Cys His Lys Thr Tyr Leu Asn
130 135 140

Gly Asp His Val Thr His Pro Asp Phe Met Leu Tyr Asp Ala Leu Asp
145 150 155 160

Val Val Leu Tyr Met Asp Pro Met Cys Leu Asp Ala Phe Pro Lys Leu
165 170 175

Val Cys Phe Lys Lys Arg Ile Glu Ala Ile Pro Gln Ile Asp Lys Tyr
180 185 190

Leu Lys Ser Ser Lys Tyr Ile Ala Trp Pro Leu Gln Gly Trp Gln Ala
195 200 205

Thr Phe Gly Gly Gly Asp His Pro Pro Lys Ser Asp Gly Ser Thr Ser
210 215 220

Gly Ser Gly His His His His His His Ser Ala Gly Leu Val Pro Arg
225 230 235 240

Gly Ser Thr Ala Ile Gly Met Lys Glu Thr Ala Ala Ala Lys Phe Glu
245 250 255

Arg Gln His Met Asp Ser Pro Asp Leu Gly Thr Gly Gly Gly Ser Gly
260 265 270

Asp Asp Asp Asp Lys Ser Pro Met Val Thr Lys Ile Val Gly Thr Phe
275 280 285

Asn Lys Lys Ser Lys Gly Tyr Thr Asp Val Val Arg Ile Pro Glu Gly
290 295 300

Ala Thr His Ile Lys Val Arg Gln Phe Lys Ala Lys Asp Gln Thr Arg
305 310 315 320

Phe Thr Ala Tyr Leu Ala Leu Lys Lys Lys Asn Gly Glu Tyr Leu Ile
325 330 335

ES 2 588 484 T3

Asn Gly Lys Tyr Met Ile Ser Thr Ser Glu Thr Ile Ile Asp Ile Asn
 340 345 350

Gly Thr Val Met Asn Tyr Ser Gly Trp Ser His Arg Asp Asp Phe Leu
 355 360 365

His Gly Met Gly Tyr Ser Ala Thr Lys Glu Ile Leu Ile Val Gln Ile
 370 375 380

Leu Ala Thr Asp Pro Thr Lys Pro Leu Asp Val Arg Tyr Ser Phe Phe
 385 390 395 400

Val Pro Lys Lys Ser Thr Pro Lys Val Asn Ser Val Thr Ser His Gly
 405 410 415

Ser Asn Lys Val Gly Ser His Thr
 420

<210> 95
 <211> 708
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 95

atggaatggt ccggcgtggt catgttctctg ctgtccgtga ccgctggcgt gcactccgac 60
 atcgtgctga ccagtcgcc cgccatcatg tctgcctccc tgggcgagcg cgtgacaatg 120
 acctgcaccg cctcctccag cgtgtcctcc tctacctgc actggtatca gcagaagccc 180
 ggctccagcc ccaagctgtg gatctactcc acctccaacc tggcctccgg cgtgcccgcc 240
 agattctctg gctccggctc cggcacctcc tactccctga ccatctccag catggaagcc 300
 gaggacgcc ccacctacta ctgtcggcag taccactcct acccctggac cttcggcgga 360
 ggcaccaagc tggaaatcaa gcggaccgtg gccgctccct ccgtgttcat cttcccaccc 420
 tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc agcgtcgtgt gcctgctgaa caacttctac 480
 ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg caactcccag 540
 gaatccgtca ccgagcagga ctccaaggac agcacctaca gcctgagttc caccctgacc 600
 ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgac ccaccagggc 660
 10 ctgtccagcc ccgtgaccaa gtccttcaac cggggcgagt gctgataa 708

<210> 96
 <211> 1398
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

15

<400> 96

atggaatggt ccggcgtggt catgttctctg ctgtccgtga ccgctggcgt gcactcccag 60
 gtgcagctgc agcagtcagg ccctgagctg gtcaagcctg gcgcctccgt ggaatgtcc 120

20

ES 2 588 484 T3

tgcaaggcct ccggctacac cttcaccagc tacgtgatgc actgggtcaa gcagaagccc 180
 ggccaggacc tggaatggat cggctacatc aaccctact ccgacggcac caagtacaac 240
 gagaagtcca agggcaagge caccctgacc tccgacaagt cctcctccac cgcctacatg 300
 gaactgtcct ccctgaccag cgaggactcc gccgtgtact actgcgccac caccgtggaa 360
 aagctgtact ccgactactg gggccaggge accacactga ccgtgtcctc tgcctccacc 420
 aagggccctt ccgtgttccc tctggcccct tgctcccggc ccacctctga gtctaccgcc 480
 gctctgggct gcttgggtgaa agactacttc ccgagcccg tgaccgtgtc ctggaactcc 540
 ggcgtctctga cctccggcgt gcacaccttc cctgccgtgc tgcagtccag cggcctgtac 600
 tccctgtcct ccgtgggtgac cgtgccttcc tccagcctgg gcaccaagac ctacacctgt 660
 aacgtggacc acaagccctc caacaccaag gtggacaagc ggggtggaatc taagtacggc 720
 ccaccctgcc ccccctgccc tgctcctgag tttctgggcg gaccctccgt gttcctgttc 780
 cccccaagc ccaaggatac cctgatgatc tcccggacc cccaagtgac ctgcgtgggtg 840
 gtggacgtgt cccaggaaga tcccagggtc cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa 900
 gtgcacaacg ccaagaccaa gccagagag gaacagttca actccaccta ccgggtgggtg 960
 tctgtctgta cagtgtctga tcaggactgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaaagtc 1020
 tccaacaagg gactgccttc cagcatcgaa aagaccatct ccaaggccaa gggccagccc 1080
 cgcgagcctc aggtgtacac cctgccacct agccaggaag agatgaccaa gaaccaggtg 1140
 tccctgacct gtctgggtgaa aggttcttac ccctccgaca tcgccgtgga atgggagtct 1200
 aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc acaccctctg tgctggactc cgacggctcc 1260
 ttcttctgt actctcggct gacagtggac aagteccggc ggcaggaagg caactcttc 1320
 tctgtctccg tgatgcacga ggcctgcac aaccactaca cccagaagtc cctgtcctg 1380
 agcctgggca agtgataa 1398

<210> 97

<211> 720

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 97

atggaatggt ccggcgtggt catgttctctg ctgtccgtga ccgctggcgt gcaactccgac 60
 atcgtgatca cccaggacga gctgtccaac cccgtgacct ccggcagatc cgtgtccatc 120
 tcctgccggc cctccaagtc cctgtgttac aaggacggca agacctacct gtactggttc 180
 ctgcagcggc ctggccagtc ccccagctg cccatctacc tgatgtccac ccgggcccagc 240
 ggcgtgtccg acagattctc cggctccggc agcggcaccg actttaccct ggaaatctcc 300
 agagtgaagg ccgaggacgt gggcgtgtac tactgccagc agctgggtgga ataccctac 360
 acctcggcgg gaggcaccaa gctggaaatc aagcggaccg tgcccgctcc ctccgtgttc 420

10

ES 2 588 484 T3

atcttccac cctccgacga gcagctgaag tccggcaccg cctccgtcgt gtgctgctg 480
 aacaacttct acccccgcga ggccaaggtg cagtggaaag tggacaacgc cctgcagtcc 540
 ggcaactccc aggaatccgt caccgagcag gactccaagg acagcaccta ctccctgtcc 600
 tccaccctga ccctgtccaa ggccgactac gagaagcaca aggtgtacgc ctgcgaagtg 660
 acccaccagg gcctgtccag ccctgtgacc aagtccctca accggggcga gtgctgataa 720

<210> 98
 <211> 1393
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 98

atggaatggt ccggcgtggt catgttctctg ctgtccgtga ccgctggcgt gcactcccag 60
 gtgcagctgc agcagctctgg cggcagctg gctaagcctg gcgcctccgt gaagatgtcc 120
 tgcaaggcct ccggctacac cttcaccagc tactggatgc actgggtcaa gcagcggcct 180
 ggccagggcc tggaaatggat cggctacatc aaccctcca ccggctatac cgagtacaac 240
 cagaagtcca aggacaagge caccctgacc gccgacaagt cctcctccac cgcctacatg 300
 cagctgggct ccctgacctc cgaggactcc gccgtgtact actgcgccag agggggctac 360
 gacgacctgg gatactgggg ccagggcacc acactgaccg tgtcctctgc ctccaccaag 420
 ggcccttccg tgttccctct ggccccttgc tccgggtcca cctctgagtc taccgccgct 480
 ctgggctgcc tggtgaaaga ctacttccc gagcccgtga ccgtgtcctg gaactccggc 540
 gctctgacct ccggcgtgca caccttccct gccgtgctgc agtccagcgg cctgtactcc 600
 ctgtcctccg tggtgacctg gccttccctc agcctgggca ccaagacctc cacctgtaac 660
 gtggaccaca agccctccaa caccaaggtg gacaagcggg tggaaatctaa gtacggccca 720
 ccctgcccc cctgcacctc tcctgagttt ctggggcggc cctccgtgtt cctgttcccc 780
 ccaaagccca aggataccct gatgatctcc cggaccctcg aagtgacctg cgtggtggtg 840
 gacgtgtccc aggaagatcc cgaggctccag ttcaattggt acgtggacgg cgtggaagtg 900
 cacaacgccca agaccaagcc cagagaggaa cagttcaact ccacctaccg ggtggtgtct 960
 gtgctgacag tgtgtcatca ggactggctg aacggcaaaag agtacaagtg caaagtctcc 1020
 aacaagggac tgccctccag catcgaaaag accatctcca aggccaaagg ccagccccgc 1080
 gagcctcagg tgtacacctc gccacctagc caggaagaga tgaccaagaa ccaggtgtcc 1140
 ctgacctgtc tggtgaaagg cttctacccc tccgacatcg ccgtggaatg ggagtctaac 1200
 ggccagcccc agaacaacta caagaccaca ccccctgtgc tggactccga cggctccttc 1260
 ttctgtact ctccgctgac agtggacaag tcccgggtggc aggaaggcaa cgtcttctcc 1320
 tgctccgtga tgcacgagge cctgcacaac cactacacc cagaagtccct gtccctgagc 1380
 ctgggcaagt gat 1393

10

<210> 99
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

15

<400> 99

ES 2 588 484 T3

gacattgtga taactcagga tgaactctcc aatcctgtca cttctggaga atcagtttcc 60
 atctcctgca ggtctagtaa gagtctccta tataaggatg ggaagacata cttgtattgg 120
 tttctgcaga gaccaggaca atctcctcag ctcccgatct atttgatgtc caccctgca 180
 tcaggagtct cagaccggtt tagtggcagt gggtcaggaa cagatttcac cctggaaatc 240
 agtagagtga aggctgagga tgtgggtgtg tattactgtc aacaacttgt agagtatccg 300
 tacacgttcg gaggggggac caagctggaa atcaaa 336
 <210> 100
 <211> 351
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 <400> 100
 caggttcagc tgcagcagtc tggggctgag ctggcaaaac ctggggcctc agtgaagatg 60
 tcctgcaagg cttctggeta cacctttact agctactgga tgactgggt aaaacagagg 120
 cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gcaactggta tactgagtac 180
 aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actgcagaca aatcctccag cacagcctac 240
 atgcaactgg gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagagggggg 300
 tatgatgatc ttggctactg gggccaaggc accactctca cagtctctc a 351
 <210> 101
 <211> 330
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 <400> 101
 gacattgtga tgacceaatc tccagcttct ttggctgtgt ctcaagggca gagggccacc 60
 atatcctgca gagccagtga aagtgtgat agttatggca atagttttat gcaactgtac 120
 cagcagaaac caggacagcc acccaaactc cccatctatc ttgcttcaa cctagaatct 180
 ggggtccctg ccaggttcag tggcagtggg tctaggacag acttcaccct caccattgat 240
 cctgtggagg ctgatgatgc tgcaacctat tactgtcagc aaaataatga ggagctcagc 300
 ttcggtgctg ggaccaagct ggagctgaaa 330
 <210> 102
 <211> 351
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 <400> 102
 gaagtgaagc ttctcgagtc tggaggtggc ctggtgcagc ctggaggatc cctgaaactc 60
 tcctgtacaa cctcaggatt cgactttagt agatactgga tgagttgggt ccggcaggct 120
 ccagggaaag ggctagaatg gattggagaa attaatccag atagcagtac gataaactat 180
 acgccatctc taaaggataa attcatcctc tccagagaca acgcaaaaa tacgctgtac 240
 ctgcaaatga gcaagtgag atctgaggac acagccctt attactgtgc aagaaggagc 300
 tactggctact tcgatgtctg gggcgcaggg aectcagtea ccgtctctc a 351

ES 2 588 484 T3

<210> 103
 <211> 321
 <212> ADN
 5 <213> Homo sapiens

 <400> 103
 gacattgtga tgacacagtc tcacaaattc atgtccacat cagaaggaga cagggtcagc 60
 atcacctgca aggccagtca ggatgtgggt actgctgtag cctggtatca acagaaacca 120
 ggccaatctc ctaaactact gatttactgg gcatccaccc ggcacactgg agtccctgat 180
 cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccattagcaa tgtgcagtct 240
 gaagacttgg cagattatat ctgtcagcaa tattgcagcc atccgtacac gttcgggtct 300
 gggaccaagc tggaaatcaa a 321
 10
 <210> 104
 <211> 348
 <212> ADN
 15 <213> Homo sapiens

 <400> 104
 caagttcagc tgcagcagtc tggggcagaa cctgtgaagc caggggcctc agtcaagttg 60
 tectgcacag cttctggctt caacattaaa gacacctata tgcactgggt gaaacagagg 120
 cctgaacagg gcctggaatg gattggaagg attgatectg cgcattggcag aactaaatat 180
 gaccgaagt tccagggcaa ggccactata acagcagaca cactctcaa cacagcctac 240
 ctgcaactca gcagcctgtc atctgaggac actgccgtct attactgtgc tttttactcc 300
 tatgctattg actactgggg tcaggaacc tcagtcaccg tctcctca 348
 20
 <210> 105
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 25 <400> 105
 gatattgtga tgactcagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcaattgcc gggcaagtca ggccattggc aatgatttag cctggtatca gcagagacca 120
 gggaaagccc ctaagcgcct gatctatggt gcatccactt tgtccagtgg ggtcccatca 180
 cgattcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gatgattttg caacttatta ctgccaacaa tataataatt tcccctacac ttttggcctg 300
 gggaccaagg tggaaatcaa a 321
 30
 <210> 106
 <211> 381
 <212> ADN
 35 <213> Homo sapiens

 <400> 106

ES 2 588 484 T3

caggtgcagc tacagcagtg gggcgcaggg ctggtgaagc cctcggagac cctgtccctc 60
 acctgcgctg tgcattggtg gtccttcagt ggtaacttct ggagctgggt ccgccaacac 120
 ccaggaagg gactggagt gatcgggaa gtcaatcatc gtggaagcgc cacctacaac 180
 ccgtcactca agagtcgagt caccatgtca gtgacacat ccaagaatca gttctccctg 240
 caattgagct ctgtgaccgc cgcggacacg gctgtctatt actgtgcgag aaagcttcca 300
 agacgacggg cggaggaccg accctcgagt ttacggcctg ttgactactg gggccagggg 360
 accctggtca ccgtctctc a 381

5 <210> 107
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 107

cagtctgtcg tgacgcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
 tcctgcactg ggagcagctc caacatcggg gcaggttatg atgtacactg gtaccagcag 120
 cttccaggaa cagccccaa actcctcatc tatggtaatg acaatcggcc ctcaggggtc 180
 cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggtc 240
 caggctgagg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acaacagcct gagtggctat 300
 10 gctgtgttcg gaggaggcac ccagctgacc gtcctc 336

15 <210> 108
 <211> 390
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 108

caggtgcagc tggtggagtc tgggggagge ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caggttctcc agccacgaca tgactgggt ccgccaagtt 120
 ccaggaaaag gtctggagt ggtctcacgt attgggactg ttggtgacac atactacgca 180
 gactccgtga agggccggtt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtttctg 240
 caaatgaaca gcctgggagc cgaggacacg gccgtgtatt actgtgcgag agatggtacc 300
 cgttattgta gtagaaccag ctgccacagc ggctactact actacggtat ggacgtctgg 360
 20 ggccaagggg ccacggtcac cgtctctca 390

20 <210> 109
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 109

ES 2 588 484 T3

| | | |
|----|--|-----|
| | gatattgtga tgacceagac tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc | 60 |
| | atcaettgcc gggcaagtca ggcattagc agctatttaa attgggatca gcagaaacca | 120 |
| | gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca | 180 |
| | aggttcagtg gcagtgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct | 240 |
| | gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccccgtagac ttttgccag | 300 |
| | gggaccaagg tggaaatcaa a | 321 |
| | <210> 110 | |
| | <211> 363 | |
| 5 | <212> ADN | |
| | <213> Homo sapiens | |
| | <400> 110 | |
| | cagggtgcagc tgggtgcagtc tgggggagge ttgggtcaagc ctggagggtc cctgagactc | 60 |
| | tcctgtgcag cctccggatt caccttcagt gaccaactaca tggactgggt ccgccaggct | 120 |
| | ccagggaagg ggctggagtg ggttggccgt attagaaca aagctaacag ttacaccaca | 180 |
| | gaatacggcg cgtctgtgaa aggagatc accatctcaa gagatgattc aaagaaaaca | 240 |
| | ctgtatctgc aaatgaccag cctgaaaacc gacgacagg ccctttatta ttgtgctaga | 300 |
| | gatctggggg cctctgatgc ttttgggtctc tggggccaag ggaccacggc caccgtctcc | 360 |
| 10 | tca | 363 |
| | <210> 111 | |
| | <211> 330 | |
| | <212> ADN | |
| 15 | <213> Homo sapiens | |
| | <400> 111 | |
| | cagtctgtct tgacgcagcc gccctccgag tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc | 60 |
| | tcctgcaactg gaaccagcag tgacgttggg ggttataact atgtctcctg gtaccaacaa | 120 |
| | caccaggca aagcccccaa actcttgatt tatgatgtca gtaatcggcc ctgaggggtt | 180 |
| | tctagtcgct tctctggctc caagtctggc aactcggcct ccctgaccat ctctgggctc | 240 |
| | caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcatata caagaaggag cactctggag | 300 |
| | ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta | 330 |
| 20 | <210> 112 | |
| | <211> 387 | |
| | <212> ADN | |
| | <213> Homo sapiens | |
| 25 | <400> 112 | |

ES 2 588 484 T3

caggtgcagc tacagcagtg gggcgcagga ctgttgaagc cttcggggac cctgtcecte 60
 acctgcgctg tctatggtgg gtccttcagt ggttactact ggagctggat ccgccagccc 120
 ccaggaagg ggctggagtg gattggggaa atcaatcata gtggaagcac caactacaac 180
 ccgtccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttctcctg 240
 aagctgagct ctgtgaccgc cgcggacacg gctgtgtatt actgtgcgag aaccatattg 300
 agcaccgcag acgatttttg gagtggttat tattcctcca actggttcga ccctggggg 360
 caggaaccc tggtcaccgt ctcctca 387

 <210> 113
 <211> 321
 5 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 113

 gaaacgacac tcacgcagtc tccagcattc atgtcggcga ctccaggaga caaatctat 60
 atctcctgca aagccagcca agacattgat gatgatatga actggtacca acagaaacca 120
 ggagaagctg ctattttcat tattcaagaa gctactactc tcgttcctgg aatcccacct 180
 cgattcagtg gcagcgggta tggaacagat tttaccctca caattaataa catggaatct 240
 gaggatgctg catattactt ctgtccacaa caagataatg tccccctcac tttcggcgga 300
 10 gggaccaagg tggatatcaa a 321

 <210> 114
 <211> 366
 <212> ADN
 15 <213> Homo sapiens

 <400> 114

 gaggtgcagc tgggtgagtc tgggtctgac gtgaagaagc cgggggcctc agtgagggtc 60
 tcctgcaaag tttccggata cagactcact gagtatcca tacactgggt tcgacaggcg 120
 ccggggaaag gacttgagta catgggagge tttgatcttg aaaatggtgt aacaaaggcc 180
 gcaccgaggt tcaggggcag attcaccatg accgaggaca catctacaga ctctgtttat 240
 atggagttga agagcctgac atctgaagac acggccgtct attattgtgt aaaggggccc 300
 ggatacggtg cgttggtgac ctcctttacc tcctggggcc tgggaaccct ggtcacctc 360
 tectca 366
 20
 <210> 115
 <211> 348
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 25 <400> 115

 cagtetgtgt tgacgcagcc gcettctgca tcagcctccc tgggagcctc ggtcacactc 60
 acctgcaccc tgagcagcgg ctacagtaat tataaagtgg actggtacca acagacacca 120

ES 2 588 484 T3

| | | |
|----|---|-----|
| | gggaagggcc cccggtttgt gatgagtg ggcactggtg ggactgtggg atccaagggg | 180 |
| | gatggcatcc ctgatcgctt ctcagtcttg ggctcaggcc tgaatcggta cctgatcatc | 240 |
| | aagaacatcc aggaagagga tgagactgac taccactgtg gggcagacca tggcagtggg | 300 |
| | agcaacttcg tgtatgtctt cggaaagtggg accaaggtca ccgtccta | 348 |
| | <210> 116 | |
| | <211> 363 | |
| 5 | <212> ADN | |
| | <213> Homo sapiens | |
| | <400> 116 | |
| | caggtgcagc tgcaggagtc ggggggaggc ttggtacggc ctggggggtc cctgagactc | 60 |
| | tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgccca tgacctgggt ccgccaggct | 120 |
| | ccaggaaggg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtgatag cacatactac | 180 |
| | gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat | 240 |
| | ctgcaaatgg acagcctgag agtcgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatcgc | 300 |
| | gatctectgc acaaagatgg ttttgatata tggggccaag ggacaatggt caccgtctct | 360 |
| 10 | tca | 363 |
| | <210> 117 | |
| | <211> 321 | |
| | <212> ADN | |
| 15 | <213> Homo sapiens | |
| | <400> 117 | |
| | gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgttgaga cagagtcacc | 60 |
| | atcacttgtc ggccgagtc ggaattggc aagtactcag cctggtatca gcagaaacca | 120 |
| | gggaaagccc ctgagctccc gatctatctt gcatccactt tgcaaagtgg ggtcccatca | 180 |
| | aggttcagcg acagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct | 240 |
| | gaagattttg caacttatta ctgtctacag cgtaatactt acccgtggac gttcggccaa | 300 |
| | gggaccaagg tggaaatcaa a | 321 |
| 20 | | |
| | <210> 118 | |
| | <211> 351 | |
| | <212> ADN | |
| | <213> Homo sapiens | |
| 25 | | |
| | <400> 118 | |
| | caggtgcagc tgcaggagtc ggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgaggtc | 60 |
| | tcctgtgcgg cctctgggtt caccttcagt ggctatggca tgaactgggt ccgccaggct | 120 |
| | ccaggcaccg ggctggagtg ggtggcaaca atatcatttg atggaactga taaatactat | 180 |
| | gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgctgagaa cacgctctat | 240 |
| | ctgcaaatga acagtctgag agccgaggac atggctgtgt attactgtgc aagagattgg | 300 |
| 30 | tcgtacgcga tggacgtctg gggccaaggg acaatggtca ccgtctcttc a | 351 |
| | <210> 119 | |
| | <211> 324 | |

ES 2 588 484 T3

<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 119

5
tcctatgtgc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc 60
acctgctctg gagataaatt ggaggataaa tacgcttgct ggtatcagca gaagccagggc 120
cagtcccctg tgctggatcat ctatcatgat tacaagcggc cctcagggat cctgagcga 180
ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc accctgacca tcagcagggg cgaagggcggg 240
gatgagggccg actattactg tcaggtgtgg gatagcggta gtgatgatca ggtcttcggc 300
ggagggacca agctgaccgt ccta 324

<210> 120
<211> 366
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 120

10
caggtgcagc tgggtgcagtc tgggtctgac gtgaagaagc cgggggcctc agtgagggtc 60
tcctgcaaag tttccggata cagactcact gagtatccca tacactgggt tcgacagggc 120
cgggggaaag gacttgagta catgggaggc tttgatcttg aaaatgggtg aacaaaggcc 180
gcaccgaggt tcaggggcag attcaccatg accgaggaca catctacaga ctctgtttat 240
atggagttga agagcctgac atctgaagac accggcctct attattgtgt aaaggggccg 300
ggatacgggtg cgttgggtgac ctcctttacc tcctggggcc tggggaccac ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 121
<211> 143
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 121

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

Val Val Arg Ile Pro Glu Gly Ala Thr His Ile Lys Val Arg Gln Phe
20 25 30

Lys Ala Lys Asp Gln Thr Arg Phe Thr Ala Tyr Leu Ala Leu Lys Lys
35 40 45

Lys Asn Gly Glu Tyr Leu Ile Asn Gly Lys Tyr Met Ile Ser Thr Ser
50 55 60

20
25

ES 2 588 484 T3

Glu Thr Ile Ile Asp Ile Asn Gly Thr Val Met Asn Tyr Ser Gly Trp
65 70 75 80

Ser His Arg Asp Asp Phe Leu His Gly Met Gly Tyr Ser Ala Thr Lys
85 90 95

Glu Ile Leu Ile Val Gln Ile Leu Ala Thr Asp Pro Thr Lys Pro Leu
100 105 110

Asp Val Arg Tyr Ser Phe Phe Val Pro Lys Lys Ser Thr Pro Lys Val
115 120 125

Asn Ser Val Thr Ser His Gly Ser Asn Lys Val Gly Ser His Thr
130 135 140

<210> 122
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 122

Asn Ala Ala Thr Thr Leu Lys Asn Phe Cys Lys Trp Gln His Gln His
1 5 10 15

Asn

<210> 123
<211> 429
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 123

acaaagattg ttggaacctt taataagaaa agtaagggtt aactgacgt ggtgaggatt 60
cctgaagggg caaccacat aaaagttcga cagttcaaag ccaaagacca gactagattc 120
actgcctatt tagccctgaa aaagaaaac ggtgagtacc ttatcaatgg aaagtacatg 180
atctccactt cagagactat cattgacatc aatggaacag tcatgaacta tagcggttgg 240
agccacaggg atgacttctt gcatggcatg ggctactctg ccacgaagga aattctaata 300
gtgcagattc ttgcaacaga ccccaactaaa ccattagatg tccgttatag ettttttgtt 360
cccaagaagt ccaactcaaa agtaaactct gtcactagtc atggcagcaa taaagtggga 420
tcacacact 429

<210> 124
<211> 51
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 124

aacgtgcca ccacactcaa gaacttttgc aagtggcagc accaacacaa c 51

<210> 125
<211> 250
<212> PRT
<213> Homo sapiens

ES 2 588 484 T3

<400> 125

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

Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys
20 25 30

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

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

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

Ser Arg Val Lys Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu
85 90 95

Val Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Ser Gly Gly Ser Thr Arg Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu
115 120 125

Gly Ser Ser Gly Thr Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu
130 135 140

Ala Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
145 150 155 160

Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln
165 170 175

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Thr Gly Tyr Thr Glu
180 185 190

Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser
195 200 205

Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Gly Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser
210 215 220

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Asp Leu Gly Tyr Trp
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
245 250

5

<210> 126

<211> 248

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 126

ES 2 588 484 T3

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

5 <210> 127
 <211> 244
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <400> 127

ES 2 588 484 T3

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

Thr Val Ser Ser

- 5 <210> 128
- <211> 254
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens

- 10 <400> 128

ES 2 588 484 T3

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

5 <210> 129
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <400> 129

ES 2 588 484 T3

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Gly Tyr Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
 100 105 110

Ser Gly Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly
 115 120 125

Ser Ser Gly Thr Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
 130 135 140

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Arg
 145 150 155 160

Phe Ser Ser His Asp Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly
 165 170 175

Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Gly Thr Val Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala
 180 185 190

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
 195 200 205

Thr Leu Phe Leu Gln Met Asn Ser Leu Gly Ala Glu Asp Thr Ala Val
 210 215 220

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Gly Thr Arg Tyr Cys Ser Arg Thr Ser Cys
 225 230 235 240

His Ser Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
 245 250 255

Thr Val Thr Val Ser Ser
 260

5 <210> 130
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <400> 130

ES 2 588 484 T3

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

5

<210> 131
 <211> 259
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 131

ES 2 588 484 T3

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

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
 20 25 30

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

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

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

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

Ser Thr Leu Glu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Gly
 100 105 110

Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Ser
 115 120 125

Gly Thr Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro
 130 135 140

Ser Gly Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser
 145 150 155 160

Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 165 170 175

Trp Ile Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
 180 185 190

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
 195 200 205

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 210 215 220

Cys Ala Arg Thr Ile Trp Ser Thr Arg His Asp Phe Trp Ser Gly Tyr
 225 230 235 240

Tyr Ser Ser Asn Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 245 250 255

Val Ser Ser

5 <210> 132
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <400> 132

ES 2 588 484 T3

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

5 <210> 133
 <211> 2793
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

10 <400> 133

ES 2 588 484 T3

atgctgctcg ggtgggctc cctgctgctg tgcgcgttcc gcctgcccct ggccgcggtc 60
 ggccccgccg cgacacctgc ccaggataaa gccgggcagc ctccgactgc tgcagcagcc 120
 gccagcccc gccggcggca gggggaggag gtgcaggagc gagccgagcc tcccggccac 180
 ccgcaccccc tggcgcagcg gcgcaggagc aaggggctgg tgcagaacat cgaccaactc 240
 tactccggcg gcggcaaggt gggctacctc gtctacgcgg gcggccggag gttcctcttg 300
 gacctggagc gagatggttc ggtgggcatt gctggcttcg tccccgagg aggcgggacg 360
 agtgcgccct ggccaccacg gagccactgc ttctatcggg gcacagtgga cgtagtccc 420
 cgctctctgg ctgtctttga cctctgtggg ggtctcgacg gcttcttcgc ggtcaagcac 480
 gcgcgctaca ccctaaagcc actgctgcgc ggacctggg cggaggaaga aaaggggcgc 540
 gtgtacgggg atgggtccgc acggatcctg cactctaca cccgcgaggg cttcagcttc 600
 gaggccctgc cgccgcgcgc cagctgcgaa acccccgcgt ccacaccgga ggcccacgag 660
 catgctccgg cgcacagcaa cccgagcggg cgcgcagcac tggcctcgca gctcttggac 720
 cagtccgctc tctcgcccgc tgggggctca ggaccgcaga cgtggtggcg gcggcggcgc 780
 cgctccatct cccgggcccg ccagggtggag ctgcttctgg tggtgacgc gtccatggcg 840
 cggttgtatg gccggggcct gcagcattac ctgctgacct tggcctccat cgccaatagg 900
 ctgtacagcc atgctagcat cgagaaccac atccgcctgg ccgtggtgaa ggtggtggtg 960
 ctaggcgaca aggacaagag cctggaagtg agcaagaacg ctgccaccac actcaagaac 1020
 ttttgcaagt ggcagcacca acacaaccag ctgggagatg accatgagga gcactacgat 1080
 gcagctatcc tgtttactcg ggaggattta tgtgggcata atctatgta caccctggga 1140
 atggcagacg ttgggaccat atgttctcca gagcgcagct gtgctgtgat tgaagcagat 1200
 ggctccacg cagccttcac tgtggctcac gaaatcggac atttacttgg cctctcccat 1260
 gacgattcca aattctgtga agagacctt ggtccacag aagataagcg cttaatgtct 1320
 tccatcctta ccagcattga tgcattcaag ccctggtcca aatgcacttc agccaccatc 1380
 acagaattcc tggatgatgg ccatggtaac tgtttgctgg acctaccacg aaagcagatc 1440
 ctgggccccg aagaactccc aggacagacc tacgatgcca cccagcagtg caacctgaca 1500
 ttcgggctcg agtactccgt gtgtcccggc atggatgtct gtgctcgct gtggtgtgct 1560
 gtgtaagcc agggccagat ggtctgtctg accaagaagc tgcctgcggg ggaagggacg 1620
 ccttgtggaa aggggagaat ctgcctgcag gccaaatgtg tggacaaaac caagaaaaaa 1680
 tattattcaa cgtcaagcca tggcaactgg gatccttggg gatcctgggg ccagtgttct 1740
 cgctcatgtg gaggaggagt gcagtttgc tctcgtcact gtaataacc tgcctccaga 1800
 aacaacggac gctactgcac agggaagagg gccatctacc gctcctgcag tctcatgccc 1860
 tgcccaccca atggtaaatc atttctcat gaacagtgtg aggccaaaaa tggctatcag 1920
 tctgatgcaa aaggagtcaa aacttttgtg gaatgggttc ccaaatatgc aggtgtcctg 1980

ES 2 588 484 T3

ccagcggatg tgtgcaagct gacctgcaga gccaaaggca ctggctacta tgtggatatt 2040
 tctccaaagg tgaccgatgg cactgaatgt aggccgtaca gtaattccgt ctgcgtccgg 2100
 gggaaagtgt tgagaactgg ctgtgacggc atcattggct caaagctgca gtatgacaag 2160
 tgcggagtat gtggaggaga caactccagc tgtacaaaga ttgttggaac ctttaataag 2220
 aaaagtaagg gttacactga cgtggtgagg attcctgaag gggcaaccca cataaaagtt 2280
 cgacagtcca aagccaaaga ccagactaga ttactgcct atttagcctt gaaaaagaaa 2340
 aacggtgagt accttatcaa tggaaagtac atgatctcca cttcagagac tatcattgac 2400
 atcaatggaa cagtcatgaa ctatagcggg tgagaccaca gggatgactt cctgcatggc 2460
 atgggtact ctgccacgaa ggaattcta atagtgcaga ttcttgcaac agaccccact 2520
 aaaccattag atgtccgta tagctttttt gtcccaaga agtccactcc aaaagtaaac 2580
 tctgtcacta gtcatggcag caataaagtg ggatcacaca cttcgcagcc gcagtgggtc 2640
 acgggcccat ggetcgcctg ctctaggacc tgtgacacag gttggcacac cagaacgggtg 2700
 cagtgccagg atggaaaccg gaagttagca aaaggatgtc ctctctcca aaggccttct 2760
 gcgtttaage aatgettgtt gaagaaatgt tag 2793

<210> 134
 <211> 2514
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 134

atgtcccaga caggetcgca tcccgggagg ggcttggcag ggcgctggct gtggggagcc 60
 caaccctgcc tectgctccc cattgtgccg ctctcctggc tgggtggtt gcttctgcta 120
 ctgctggcct ctctcctgcc ctgacccggc ctggccagcc ccctccccg ggaggaggag 180
 atcgtgtttc cagagaagct caacggcagc gtcctgcctg gctcggggcg ccctgccagg 240
 ctgttgtgcc gcttgcaggc ctttggggag acgctgctac tagagctgga gcaggactcc 300
 ggtgtgcagg tggaggggct gacagtgcag tacctgggcc aggcgctga gctgctgggt 360
 ggagcagagc ctggcaccta cctgactggc accatcaatg gagatccgga gtcggtggca 420
 tctctgact gggatggggg agccctgta ggcgtgttac aatatcgggg ggctgaactc 480
 cacctccagc ccctggaggg aggcaccctt aactctgctg ggggacctgg ggctcacatc 540
 ctacgcggga agagtccctg cagcgggtaa ggtcccatgt gcaacgtaa ggctcctctt 600
 ggaagcccca gcccagacc ccgaagagcc aagcgtttg cttcactgag tagatttgtg 660
 gagacactgg tgggtggcaga tgacaagatg gccgcattcc acggtgctgg gctaaagcgc 720
 tacctgctaa cagtgatggc agcagcagcc aaggccttca agcacccaag catccgcaat 780
 cctgtcagct tgggtgtgac tggctagtg atcctggggg caggcgagga ggggccccaa 840
 gtggggccca gtgetgcca gaccctgccc agcttctgtg cctggcagcg gggcctcaac 900

10

ES 2 588 484 T3

acccctgagg actcggaccc tgaccacttt gacacagcca ttctgtttac ccgtcaggac 960
 ctgtgtggag tctccacttg cgacacgctg ggtatggctg atgtgggcac cgtctgtgac 1020
 ccggctcgga gctgtgccat tgtggaggat gatgggctcc agtcagcctt cactgctgct 1080
 catgaactgg gtcatgtctt caacatgctc catgacaact ccaagccatg catcagtttg 1140
 aatgggcctt tgagcacctc tcgccatgtc atggcccctg tgatggctca tgtggatcct 1200
 gaggagccct ggtccccctg cagtgccgcg ttcactactg acttcctgga caatggetat 1260
 gggcactgtc tcttagacaa accagagget ccattgcatc tgctgtgac tttccctggc 1320
 aaggactatg atgctgaccg ccagtgccag ctgacctcg gggccgactc acgccattgt 1380
 ccacagctgc cgccgccctg tgctgccctc tgggtgctctg gccacctcaa tggccatgcc 1440
 atgtgccaga ccaaactc gccctgggccc gatggcacac cctgcccggcc cgcacaggcc 1500
 tgcattgggtg tgcctgctcct ccacatggac cagctccagg acttcaatat tccacaggct 1560
 ggtggctggg gtccttgggg accatggggg gactgctctc ggacctgtgg ggggtgtgctc 1620
 cagttctctc cccgagactg cagcaggcct gtccccgga atggtggcaa gtactgtgag 1680
 ggccgccgta cccgcttcgg ctctgcaac actgaggact gcccactgg ctcagccctg 1740
 acctccggg aggagcagtg tgctgctac aaccaccgca ccgacctctt caagagcttc 1800
 ccagggccca tggactgggt tctctgctac acaggcgtgg cccccagga ccagtgcaaa 1860
 ctcacctgcc agggccaggc actgggctac tactatgtgc tggagccacg ggtggtagat 1920
 gggaccccct gttccccgga cagctcctcg gtctgtgtcc agggccgatg catccatgct 1980
 ggctgtgac gcatcattgg ctccaagaag aagtttgaca agtgcattgt gtgcggaggg 2040
 gacggttctg gttgcagcaa gcagtcaggc tcttcagga aattcaggta cggatacaac 2100
 aatgtggtca ctatccccgc gggggccacc cacattcttg tccggcagca gggaaaccct 2160
 ggccaccgga gcatctactt ggccctgaag ctgccagatg gctcctatgc cctcaatggt 2220
 gaatacacgc tgatgccctc ccccacagat gtggtactgc ctggggcagt cagcttgcgc 2280
 tacagcgggg ccaactgcagc ctcagagaca ctgtcaggcc atgggcccact ggcccagcct 2340
 ttgacactgc aagtcctagt ggctggcaac ccccaggaca cacgcctccg atacagcttc 2400
 ttcgtgcccc gggcgacccc ttcaacgcca cgccccactc cccaggactg gctgcaccga 2460
 agagcacaga ttctggagat ccttcggcgg cgcccctggg cgggcaggaa ataa 2514

<210> 135
 <211> 257
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 135

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Arg Pro Gly Gly
 1 5 10 15

5

10

ES 2 588 484 T3

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Asp Arg Asp Leu Leu His Lys Asp Gly Phe Asp Ile Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Gly
 115 120 125

Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Ser Gly Thr Gln Ser Val
 130 135 140

Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Ala Ser Leu Gly Ala Ser Val Thr
 145 150 155 160

Leu Thr Cys Thr Leu Ser Ser Gly Tyr Ser Asn Tyr Lys Val Asp Trp
 165 170 175

Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys Gly Pro Arg Phe Val Met Arg Val Gly
 180 185 190

Thr Gly Gly Thr Val Gly Ser Lys Gly Asp Gly Ile Pro Asp Arg Phe
 195 200 205

Ser Val Leu Gly Ser Gly Leu Asn Arg Tyr Leu Ile Ile Lys Asn Ile
 210 215 220

Gln Glu Glu Asp Glu Thr Asp Tyr His Cys Gly Ala Asp His Gly Ser
 225 230 235 240

Gly Ser Asn Phe Val Tyr Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Thr Val
 245 250 255

Leu

<210> 136

<211> 244

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 136

ES 2 588 484 T3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
 20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Thr Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Thr Ile Ser Phe Asp Gly Thr Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Glu Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Asp Trp Ser Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Glu Gly Ser Ser Gly Thr Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser
 130 135 140

Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 145 150 155 160

Arg Pro Ser Gln Gly Ile Gly Lys Tyr Ser Ala Trp Tyr Gln Gln Lys
 165 170 175

Pro Gly Lys Ala Pro Glu Leu Pro Ile Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Gln
 180 185 190

Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Asp Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe
 195 200 205

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
 210 215 220

Cys Leu Gln Arg Asn Thr Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
 225 230 235 240

Val Glu Ile Lys

5 <210> 137
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <400> 137

ES 2 588 484 T3

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

Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Arg Leu Thr Glu Tyr
 20 25 30

Pro Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Met
 35 40 45

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

Arg Gly Arg Phe Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Ser Val Tyr
 65 70 75 80

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

Val Lys Gly Pro Gly Tyr Gly Ala Leu Val Thr Ser Phe Thr Ser Trp
 100 105 110

Gly Leu Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Ser Gly Thr Ser Tyr
 130 135 140

Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala
 145 150 155 160

Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Glu Asp Lys Tyr Ala Cys Trp
 165 170 175

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr His Asp
 180 185 190

Tyr Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser
 195 200 205

Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Gly Gly Asp Glu
 210 215 220

Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Gly Ser Asp Asp Gln Val
 225 230 235 240

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

5 <210> 138
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> ligante sintético

<400> 138

ES 2 588 484 T3

Ser Gly Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly
1 5 10 15

Ser Ser Gly Thr
20

5 <210> 139
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> cebador sintético

<400> 139

ttatcctcga gcggtaccca ggtgcagctg caggagtcsg 40

15 <210> 140
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> cebador sintético

<400> 140

25 ttatcctcga gcggtaccca ggtacagctg cagcagtca 39

<210> 141
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> cebador sintético

35 <400> 141

ttatcctcga gcggtaccca ggtgcagcta cagcagtggg 40

40 <210> 142
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> cebador sintético

<400> 142

50 ttatcctcga gcggtaccga ggtgcagctg ktgagwcy 39

<210> 143
 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <223> cebador sintético

<400> 143

60 ttatcctcga gcggtaccca ggtccagctk gtrcagctg g 41

<210> 144
 <211> 40
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético

 10 <400> 144

 ttatcctcga gcggtacca grtcaccttg aaggagtctg 40

 <210> 145
 <211> 41
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> cebador sintético

 <400> 145

 ttatcctcga gcggtacca ggtgcagctg gtgsartctg g 41
 25
 <210> 146
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 30
 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 146
 35
 gattggtttg ccgctagctg aggagacrgt gaccagggtg 40

 <210> 147
 <211> 40
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético
 45
 <400> 147

 gattggtttg ccgctagctg aggagacggt gaccagggtt 40
 50
 <210> 148
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 55 <223> cebador sintético

 <400> 148

 60 gattggtttg ccgctagctg aagagacggt gaccattgt 39

 <210> 149
 <211> 41
 <212> ADN
 65 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> cebador sintético

 <400> 149
 5 gattggttg ccgctagctg aggagacggt gaccgtggtc c 41

 <210> 150
 <211> 42
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético
 15 <400> 150

 agcaagcggc gcgcatgccg acatccrgdt gaccagtct cc 42
 20 <210> 151
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 25 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 151
 30 agcaagcggc gcgcatgccg aaattgrwt gacrcagtct cc 42

 <210> 152
 <211> 42
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 152
 40 agcaagcggc gcgcatgccg atattggmt gacbcagwct cc 42

 <210> 153
 <211> 41
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 153
 50 agcaagcggc gcgcatgccg aaacgacact cagcagtct c 41

 <210> 154
 <211> 43
 <212> ADN
 60 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 154
 65 gaagttatgg tcgaccctcc ggatttgatt tccacctgg tcc 43

<210> 155
 <211> 43
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético

 10 <400> 155

 gaagttatgg tcgaccctcc ggattgatc tccascttgg tcc 43

 <210> 156
 15 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> cebador sintético

 <400> 156

 gaagttatgg tcgaccctcc ggattgata tccacttgg tcc 43
 25
 <210> 157
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 30
 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 157
 35
 gaagttatgg tcgaccctcc ggattaatc tccagtcgtg tcc 43

 <210> 158
 <211> 42
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético
 45
 <400> 158

 agcaagcggc gcgcatgccc agtctgtsbt gacgcagccg cc 42
 50
 <210> 159
 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 159
 55
 agcaagcggc gcgcatgcct cctatgwgct gacwcagcca c 41
 60
 <210> 160
 <211> 42
 <212> ADN
 65 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> cebador sintético

 <400> 160
 5 agcaagcggc ggcgatgcct cctatgagct gayrcagcya cc 42

 <210> 161
 <211> 39
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético
 15 <400> 161

 agcaagcggc ggcgatgccc agcctgtgct gactcaryc 39
 20 <210> 162
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 25 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 162
 30 agcaagcggc ggcgatgccc agdctgtggt gacycaggag cc 42

 <210> 163
 <211> 42
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético
 40 <400> 163

 agcaagcggc ggcgatgccc agccwggkgt gactcagccm cc 42
 45 <210> 164
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético
 50 <400> 164

 agcaagcggc ggcgatgcct cctctgagct gascaggas cc 42
 55 <210> 165
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 60 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 165
 65 agcaagcggc ggcgatgccc agtctgyyct gaytcagcct 40

ES 2 588 484 T3

<210> 166
 <211> 41
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético

 10 <400> 166

 agcaagcggc gcgcatgcca atttatgct gactcagccc c 41

 <210> 167
 <211> 43
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> cebador sintético

 <400> 167

 gaagttatgg tcgaccctcc ggataggacg gtsasctgg tcc 43
 25
 <210> 168
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 30
 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 168
 35
 gaagttatgg tcgaccctcc ggagaggacg gtcagctggg tgc 43

 <210> 169
 <211> 40
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético
 45
 <400> 169

 cgctggattg ttattactcg cagcaagcgg cgcgcatgcc 40
 50
 <210> 170
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 55
 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 170
 60 accgctcgag cctcaccgg aacctggttt cccagaaccg ctggtcgacc ctcc 54

 <210> 171
 <211> 55
 <212> ADN
 65 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> cebador sintético

 <400> 171
 5 ggagggtcga ccagcgggtc tgggaaacca ggttccggtg aaggctcgag cgga 55

 <210> 172
 <211> 38
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético
 15 <400> 172

 ccagggccag cagtgggttt gggattggtt tgccgcta 38
 20 <210> 173
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 25 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 173
 30 tacctattgc ctacggcagc cgctggattg ttattactc 39

 <210> 174
 <211> 40
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético
 40 <400> 174

 tggatgattg gactactatc caggcccagc agtgggttg 40
 45 <210> 175
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 50 <223> cebador sintético

 <400> 175
 55 agcaagcggc ggcgatgccc aggtgcagct ggtgcagtct gg 42

 <210> 176
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 60
 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 176
 65 agcaagcggc ggcgatgccc aggtcaact aaggagctct gg 42

<210> 177
 <211> 42
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético

 10 <400> 177

 agcaagcggc gcgcatgccg aggtgcagct ggtggagtct gg 42

 <210> 178
 15 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> cebador sintético

 <400> 178

 agcaagcggc gcgcatgccc aggtgcagct gcaggagtcg gg 42
 25
 <210> 179
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 30
 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 179
 35
 agcaagcggc gcgcatgccg aggtgcagct gttgcagtct gc 42

 <210> 180
 <211> 42
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético
 45
 <400> 180

 agcaagcggc gcgcatgccc aggtacagct gcagcagtca gg 42
 50
 <210> 181
 <211> 47
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 181
 55
 60 gaagttatgg tcgaccctcc ggatgaggag acggtgacca gggtgcc 47

 <210> 182
 <211> 47
 <212> ADN
 65 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> cebador sintético

 <400> 182
 5 gaagttatgg tcgaccctcc ggatgaagag acggtgacca ttgtccc 47

 <210> 183
 <211> 47
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético
 15 <400> 183

 gaagttatgg tcgaccctcc ggatgaggag acggtgacca gggttcc 47
 20 <210> 184
 <211> 47
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 25 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 184
 30 gaagttatgg tcgaccctcc ggatgaggag acggtgaccg tggttccc 47

 <210> 185
 <211> 41
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético
 40 <400> 185

 ttatcctcga gcggtaccga catccagatg acccagtctc c 41
 45 <210> 186
 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 50 <223> cebador sintético

 <400> 186

 ttatcctcga gcggtaccga tgtgtgatg actcagtctc c 41
 55 <210> 187
 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 60
 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 187
 65 ttatcctcga gcggtaccga aattgtgtg acgcagtctc c 41

<210> 188
 <211> 41
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético

 10 <400> 188

 ttatcctcga gcggtaccga catcgtgatg acccagtctc c 41

 <210> 189
 15 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> cebador sintético

 <400> 189

 ttatcctcga gcggtaccga aacgacactc acgcagtctc c 41
 25
 <210> 190
 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 30
 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 190
 35
 ttatcctcga gcggtaccga aattgtgctg actcagtctc c 41

 <210> 191
 40 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético
 45
 <400> 191

 gattggttg ccgctagcac gtttgattc caccttggtc cc 42
 50
 <210> 192
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 192
 55
 gattggttg ccgctagcac gttgatctc cagcttggtc cc 42
 60
 <210> 193
 <211> 42
 <212> ADN
 65 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> cebador sintético

 <400> 193
 5 gattggttg ccgctagcac gttgatatc cacttggtc cc 42

 <210> 194
 <211> 42
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético
 15 <400> 194

 gattggttg ccgctagcac gttgatctc caccttggtc cc 42
 20 <210> 195
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 25 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 195
 30 gattggttg ccgctagcac gtttaatctc cagtcgtgc cc 42

 <210> 196
 <211> 41
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético
 40 <400> 196

 ttatcctcga gcggtacca gtctgtgtg acgcagccgc c 41
 45 <210> 197
 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 50 <223> cebador sintético

 <400> 197

 ttatcctcga gcggtacca gtctgccctg actcagcctg c 41
 55 <210> 198
 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 60
 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 198
 65 ttatcctcga gcggtacctc ctatgtgctg actcagccac c 41

<210> 199
 <211> 41
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético

 10 <400> 199

 ttatcctcga gcggtacctc ttctgagctg actcaggacc c 41

 <210> 200
 15 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> cebador sintético

 <400> 200

 ttatcctcga gcggtaccca cgttactg actcaaccgc c 41
 25
 <210> 201
 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 30
 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 201
 35
 ttatcctcga gcggtaccca ggctgtgctc actcagccgt c 41

 <210> 202
 <211> 42
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético
 45
 <400> 202

 gattggtttg ccgctagcac ctaggacggt gaccttggtc cc 42
 50
 <210> 203
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 203
 55
 gattggtttg ccgctagcac ctaggacggt cagcttggtc cc 42
 60
 <210> 204
 <211> 42
 <212> ADN
 65 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> cebador sintético

 <400> 204
 5 gattggttg ccgctagcac ctaaacggt gagctgggtc cc 42

 <210> 205
 <211> 40
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético
 15 <400> 205

 cgctggattg ttattactg cagcaagcgg cgcgcatgcc 40
 20 <210> 206
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 25 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 206
 30 accgctcgag cctcaccgg aacctggtt cccagaaccg ctggtcgacc ctcc 54

 <210> 207
 <211> 55
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético
 40 <400> 207

 ggagggtcga ccagcgggtc tgggaaacca ggtccggtg aaggctcgag cggtta 55
 45 <210> 208
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 50 <223> cebador sintético

 <400> 208

 ccaggcccag cagtggggtt gggattggtt tgccgcta 38
 55 <210> 209
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 60 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 209
 65 tacctattgc ctacggcagc cgctggattg ttattactc 39

<210> 210
 <211> 40
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético

 10 <400> 210

 tggatgatgt gagtactatc caggcccagc agtgggttg 40

 <210> 211
 15 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> cebador sintético

 <400> 211

 tggctggaat tcacaaagat tgttga 27
 25
 <210> 212
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 30
 <220>
 <223> cebador sintético

 <400> 212
 35
 gtcgacggat ccttaagtgt gtgatccac 30

 <210> 213
 <211> 64
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cebador sintético
 45
 <400> 213

 aattcaacgc tgccaccaca ctcaagaact ttgcaagtg gcagcaccaa cacaactaac 60
 50 tgca 64

 <210> 214
 <211> 56
 <212> ADN
 55 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> secuencia sintética

 60 <400> 214

 gttagtgtg ttgggtctgc cacttgcaaa agttcttgag tgtggggca gcgttg 56

 <210> 215
 65 <211> 28
 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> secuencia sintética
5 <400> 215
atccatggtc acaaagattg ttggaacc 28
10 <210> 216
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial
15 <220>
<223> cebador sintético
<400> 216
20 atctcgagtt aagtgtgtga tcccacttta ttg 33

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo capaces de reconocer y unirse a un epitopo comprendido en la región aa. 732 a aa 874 de SEQ ID NO. 2 de ADAMTS-5.
- 5 2. El anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según la reivindicación 1 que comprenden al menos una secuencia de aminoácidos de la región determinante de complementariedad de la cadena pesada (CDRH3) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 62, 65, 68, 71, 74, 77, 80, 83, 86, 89 y 92.
- 10 3. El anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según la reivindicación 2 que comprenden además una secuencia de aminoácidos de la región determinante de complementariedad de la cadena pesada (CDRH2) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 61, 64, 67, 70, 73, 76, 79, 82, 85, 88 y 91.
- 15 4. El anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según la reivindicación 3 que comprenden además una secuencia de aminoácidos de la región determinante de complementariedad de la cadena pesada (CDRH1) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 60, 63, 66, 69, 72, 75, 78, 81, 84, 87 y 90.
- 20 5. El anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4 que comprenden además al menos una secuencia de aminoácidos de la región determinante de complementariedad de la cadena ligera (CDRL3) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 29, 32, 35, 38, 41, 44, 47, 50, 53, 56 y 59.
- 25 6. El anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según la reivindicación 5 que comprenden además una secuencia de aminoácidos de la región determinante de complementariedad de la cadena ligera (CDRL2) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 28, 31, 34, 37, 40, 43, 46, 49, 52, 55 y 58.
- 30 7. El anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según la reivindicación 6 que comprenden además una secuencia de aminoácidos de la región determinante de complementariedad de la cadena ligera (CDRL1) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 27, 30, 33, 36, 39, 42, 45, 48, 51, 54 y 57.
- 35 8. El anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores que comprenden una secuencia de aminoácidos de regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (CDRH1) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 60, 63, 66, 69, 72, 75, 78, 81, 84, 87 y 90 y una secuencia de aminoácidos de regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (CDRH2) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 61, 64, 67, 70, 73, 76, 79, 82, 85, 88 y 91 y una secuencia de aminoácidos de regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (CDRH3) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 62, 65, 68, 71, 74, 77, 80, 83, 86, 89 y 92.
- 40 9. El anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según la reivindicación 8 que comprenden además una secuencia de aminoácidos de regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (CDRL1) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 27, 30, 33, 36, 39, 42, 45, 48, 51, 54 y 57 y una secuencia de aminoácidos de regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (CDRL2) que
- 45 tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 28, 31, 34, 37, 40, 43, 46, 49, 52, 55 y 58 y una secuencia de aminoácidos de regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera (CDRL3) que tiene al menos 80 % de identidad con una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en: SEQ ID NO: 29, 32, 35, 38, 41, 44, 47, 50, 53, 56 y 59.
- 50 10. El anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según la reivindicación 8 que comprenden una secuencia de aminoácidos de CDRH1 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 60, una secuencia de aminoácidos de CDRH2 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 61 y una secuencia de aminoácidos de CDRH3 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 62.
- 55 11. El anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según la reivindicación 10 que comprenden además una secuencia de aminoácidos de CDRL1 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 27, una secuencia de aminoácidos de CDRL2 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 28 y una secuencia de aminoácidos de CDRL3 que tiene al menos 80 % de identidad con

SEQ ID NO. 29.

5 12. El anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según la reivindicación 8 que comprenden una secuencia de aminoácidos de CDRH1 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 81, una secuencia de aminoácidos de CDRH2 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 82 y una secuencia de aminoácidos de CDH3 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 83.

10 13. El anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según la reivindicación 12 que comprenden además una secuencia de aminoácidos de CDRL1 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 48, una secuencia de aminoácidos de CDRL2 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 49 y una secuencia de aminoácidos de CDRL3 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 50.

15 14. El anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según la reivindicación 8 que comprenden una secuencia de aminoácidos de CDRH1 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 87, una secuencia de aminoácidos de CDRH2 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 88 y una secuencia de aminoácidos de CDH3 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 89.

20 15. El anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según la reivindicación 14 que comprenden además una secuencia de aminoácidos de CDRL1 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 54, una secuencia de aminoácidos de CDRL2 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 55 y una secuencia de aminoácidos de CDRL3 que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO. 56.

16. El anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según la reivindicación 1 seleccionados entre el grupo que consiste en un anticuerpo que comprende:

25 a) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 69, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 70, una CDRH3 que consiste en SEQ ID NO. 71, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 36, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 37, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 38;

b) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 72, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 73, una CDRH3 que consiste en SEQ ID NO. 74, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 39, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 40, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 41;

30 c) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 75, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 76, una CDRH3 que consiste en SEQ ID NO. 77, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 42, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 43, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 44;

35 d) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 78, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 79, una CDRH3 que consiste en SEQ ID NO. 80, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 45, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 46, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 47;

e) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 81, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 82, una CDRH3 que consiste en SEQ ID NO. 83, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 48, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 49, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 50;

40 f) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 84, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 85, una CDRH3 que consiste en SEQ ID NO. 86, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 51, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 52, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 53;

g) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 87, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 88, una CDRH3 que consiste en SEQ ID NO. 89, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 54, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 55, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 56;

45 h) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 90, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 91, una CDRH3 que consiste en SEQ ID NO. 92, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 57, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 58, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 59.

17. El anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según la reivindicación 1 seleccionados entre el grupo que consiste en un anticuerpo que comprende:

50 a) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 60, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 61, una CDRH3 que consiste en SEQ ID NO. 62, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 27, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 28, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 29;

b) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 63, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 64, una CDRH3 que

consiste en SEQ ID NO. 65, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 30, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 31, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 32;

5 c) una CDRH1 que consiste en SEQ ID NO. 66, una CDRH2 que consiste en SEQ ID NO. 67, una CDRH3 que consiste en SEQ ID NO. 68, una CDRL1 que consiste en SEQ ID NO. 33, una CDRL2 que consiste en SEQ ID NO. 34, una CDRL3 que consiste en SEQ ID NO. 35.

18. El anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 siendo un anticuerpo quimérico o uno humanizado, o uno desinmunizado o uno completamente humano.

10 19. El anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según la reivindicación 17 siendo un anticuerpo quimérico o uno humanizado, o uno desinmunizado.

20. El anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según una cualquiera de las anteriores reivindicaciones para su uso en el tratamiento y/o prevención de una afección caracterizada por la degradación del cartílago.

15 21. El anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según una cualquiera de las anteriores reivindicaciones para su uso en el tratamiento y/o prevención humana de osteoartritis o artritis reumatoide.

22. Una molécula de ácidos nucleicos que codifica el anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo como se definen en las reivindicaciones 1 a 21.

20 23. La molécula de ácidos nucleicos que codifica el anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según la reivindicación 22 que comprende al menos una secuencia de ácidos nucleicos seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO. 99 a SEQ ID NO. 120.

24. Un vector de expresión que codifica el anticuerpo neutralizante monoclonal según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21.

25. Una célula hospedante aislada que comprende el ácido nucleico según la reivindicación 22 o 23.

25 26. La célula hospedante aislada de la reivindicación 25 que produce el anticuerpo neutralizante monoclonal según una cualquiera de las reivindicaciones 1-21.

27. Un método de producción del anticuerpo neutralizante monoclonal según una cualquiera de las reivindicaciones 1-21 que comprende cultivar la célula que produce el anticuerpo neutralizante monoclonal de la reivindicación 25 y recuperar el anticuerpo neutralizante monoclonal del cultivo celular.

30 28. Una composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo neutralizante monoclonal, recombinante o fragmentos de unión a antígeno sintéticos del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21 y excipientes farmacéuticamente aceptables.

29. La composición según la reivindicación 28 para su uso en administración intraarticular.

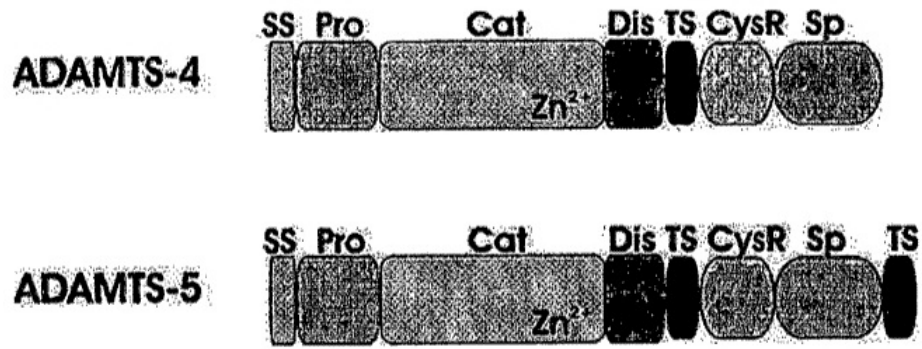


Fig. 1

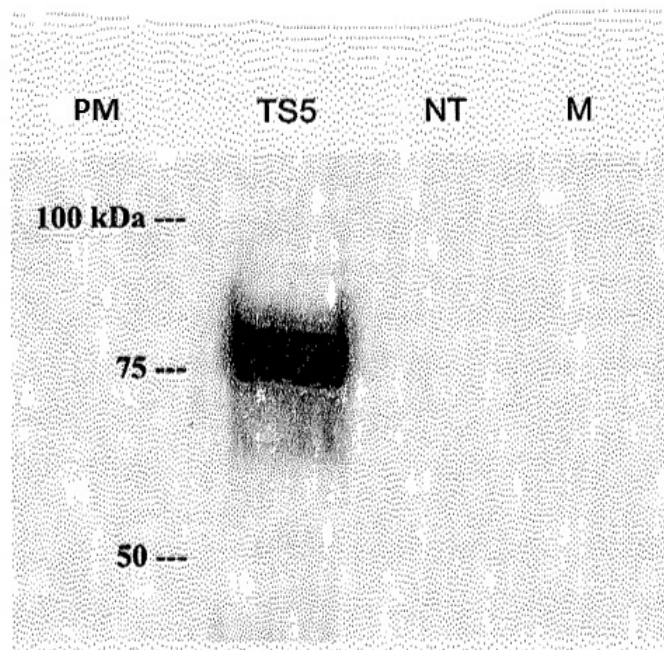


Fig. 2

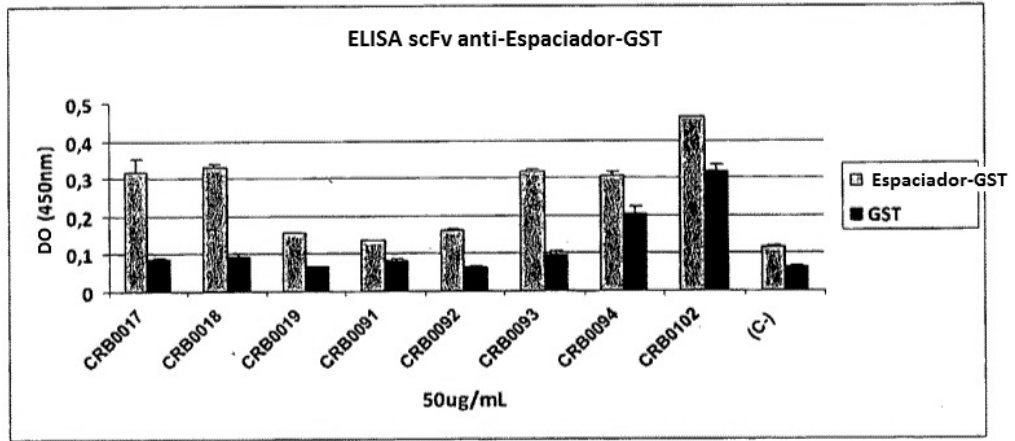


Fig. 3

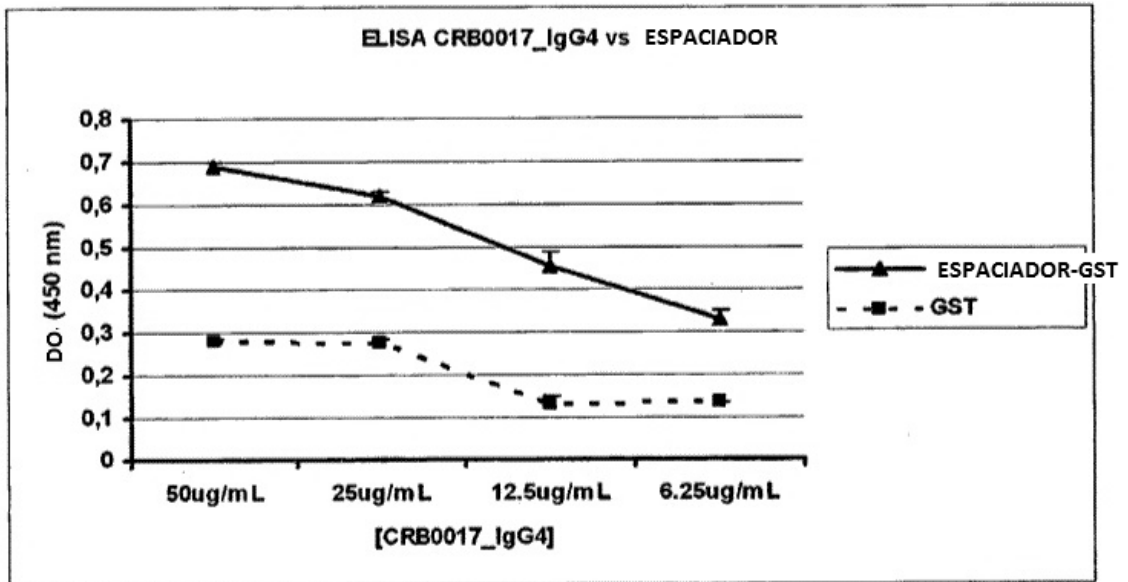
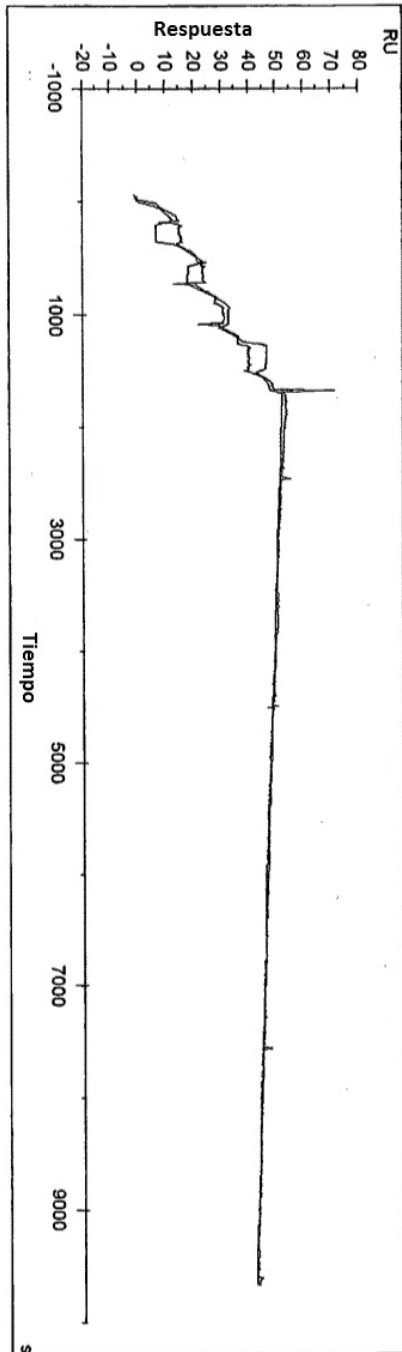


Fig. 4



CRB0017_1gG4

| ka(1/MS) | kd(1/s) | KD (M) | Rmax(RU) | Cone (M) | tg | Kt(RUM/s) | Rt(RU) | Ch ² (RU ²) | U-valor |
|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|---------|------------------------------------|---------|
| 1,26E+04 | 2,70E-05 | 2,15E-09 | 53,33 | 6,25E-08 | 1,18E+17 | 3,59E+17 | 6,685 | 3,64 | 3 |
| | | | | 1,25E-07 | | | 5,959 | | |
| | | | | 2,50E-07 | | | -0,7987 | | |
| | | | | 5,00E-07 | | | -7,294 | | |
| | | | | 1,00E-06 | | | -4,493 | | |

Fig. 5

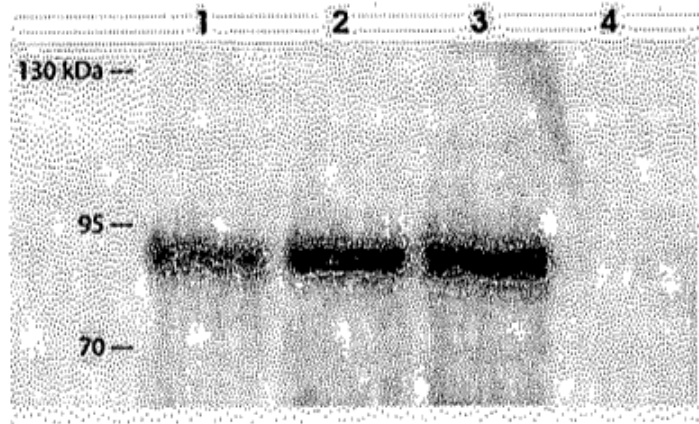


Fig. 6

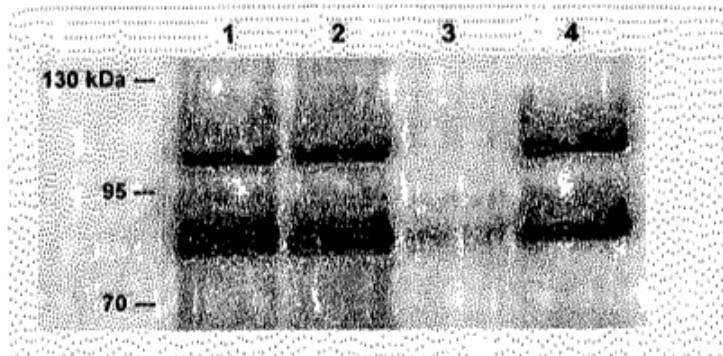


Fig. 7

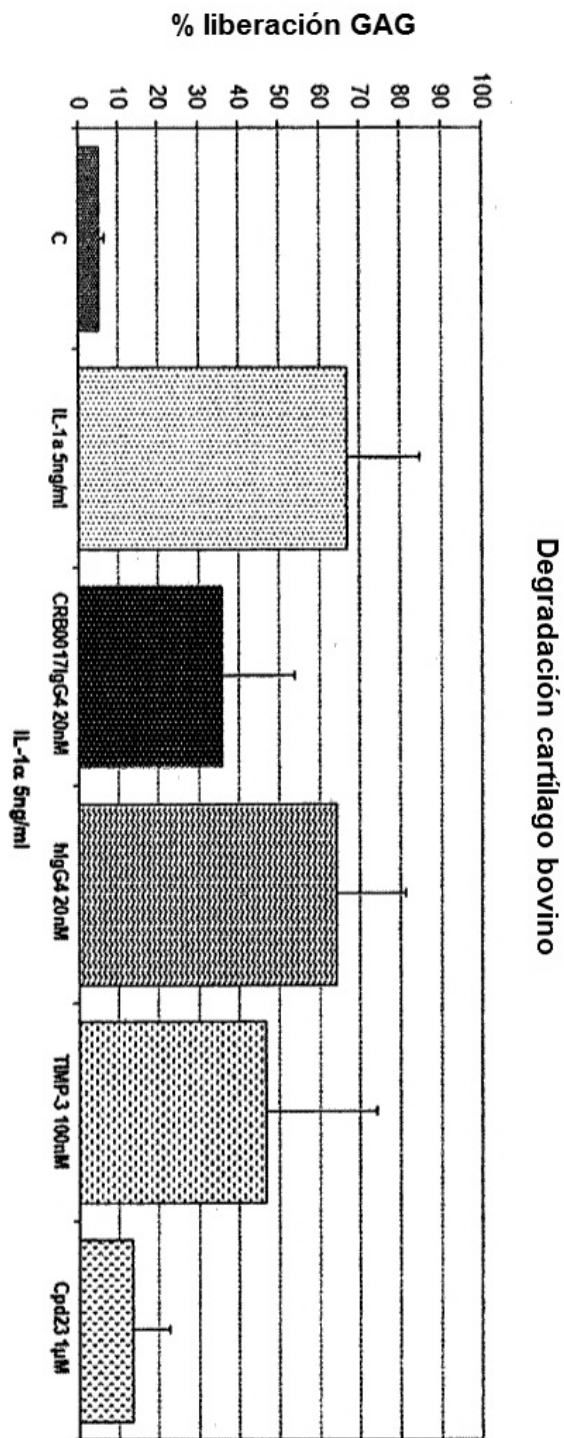


Fig. 8

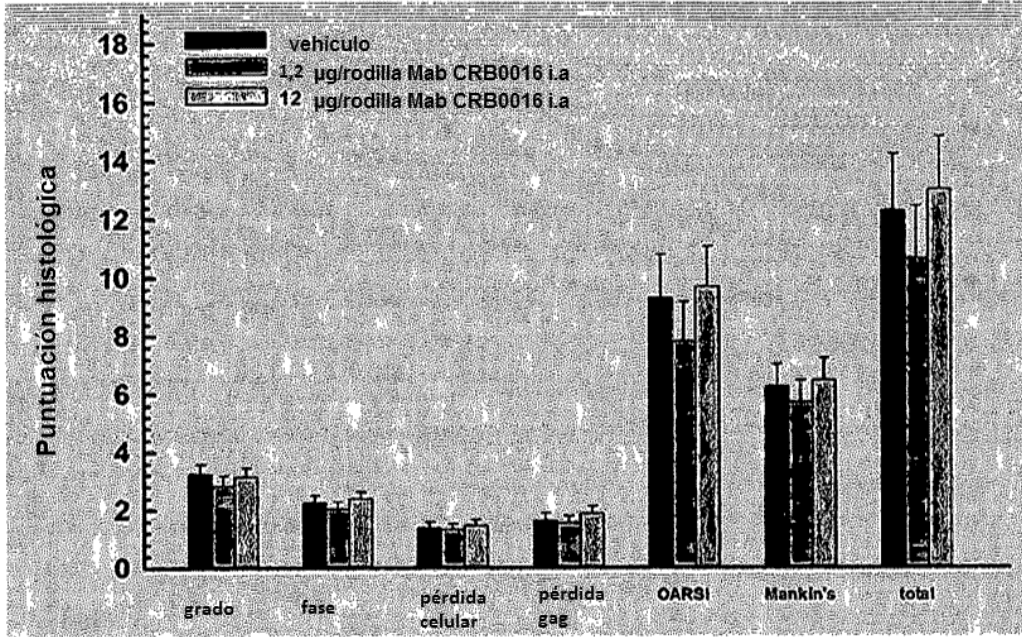


Fig. 9

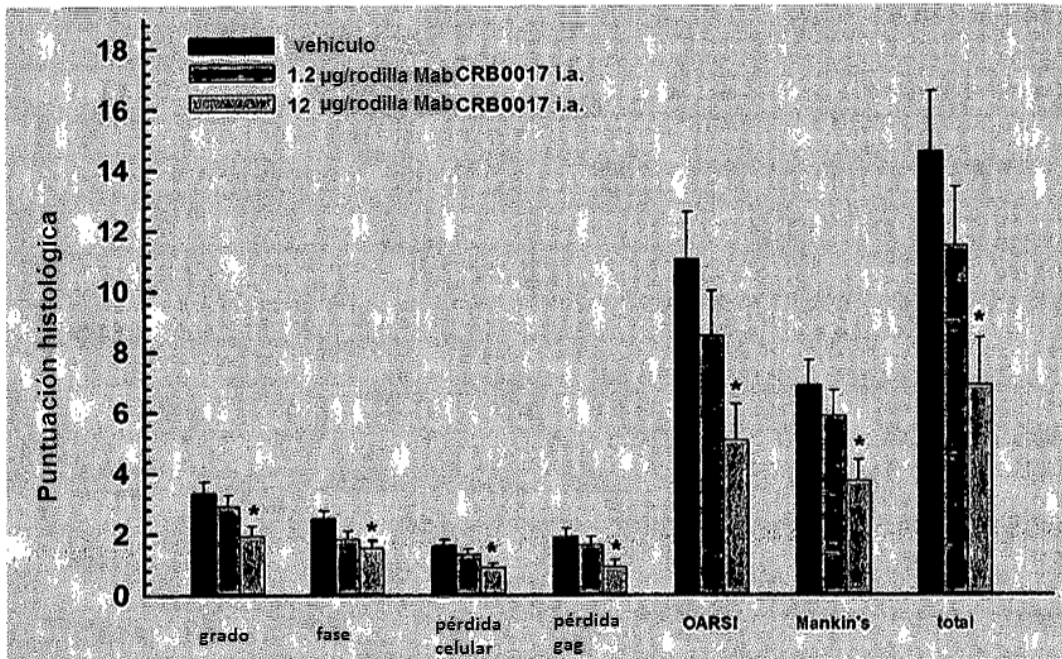


Fig. 10