

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 636 663**

51 Int. Cl.:

G01N 33/574 (2006.01)

G01N 33/576 (2006.01)

G01N 33/74 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.01.2011 PCT/EP2011/000047**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.07.2011 WO11083089**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.01.2011 E 11700114 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.05.2017 EP 2542898**

54 Título: **Progastrina y patologías hepáticas**

30 Prioridad:

08.01.2010 US 293557 P

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

06.10.2017

73 Titular/es:

**PROGASTRINE ET CANCERS S.À R.L. (100.0%)
11, Côte d'Eich
1450 Luxembourg, LU**

72 Inventor/es:

**FLOCH, JEAN-FRANÇOIS y
HOUHOU, LEÏLA**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 636 663 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

Progastrina y patologías hepáticas.

5 **3. Antecedentes**

10 La presente divulgación proporciona procedimientos y materiales para el diagnóstico y el cribado de patologías hepáticas, incluidas enfermedades proliferativas o degenerativas del hígado; y más en particular, procedimientos y materiales para la cuantificación o la determinación de niveles de progastrina para diagnosticar patologías hepáticas.

3.1. Antecedentes de las hormonas gastrina y progastrina.

15 La gastrina es una hormona peptídica del intestino que actúa como estimulante de la secreción de ácido gástrico. En mamíferos adultos es producida principalmente por las células G del antro pilórico y en una medida variable en el intestino delgado superior y el páncreas, con cantidades casi indetectables en el colon. Recientemente se ha desarrollado un interés creciente en el papel de la familia de péptidos de la gastrina en la carcinogénesis colorrectal. En particular, existen evidencias de que las formas precursoras de gastrina (progastrina y gastrina extendida con glicina), que se pensaba anteriormente que eran inactivas, desempeñan un papel en el desarrollo del cáncer colorrectal.

20 El gen de la gastrina se traduce en un polipéptido de 101 aminoácidos, denominado preprogastrina, que contiene una secuencia señal que se escinde proporcionando progastrina, un polipéptido de 80 aminoácidos. A su vez, la progastrina se procesa para proporcionar el producto de escisión G₃₄, un péptido de 34 aminoácidos que corresponde a los residuos 38 a 71 de la progastrina. El G₃₄ se extiende después en su extremo carboxi-terminal con un residuo de glicina, generando G₃₄ extendido con glicina (G₃₄-Gly). Un subproducto de la escisión de progastrina es un péptido de 6 aminoácidos denominado el péptido flanqueante C-terminal o CTFP.

25 La mayor parte de los ensayos para determinar progastrina no distinguen entre progastrina y otros productos del gen de la gastrina, lo que tiene como consecuencia una medición inexacta de los niveles de progastrina de longitud completa. Debido a que los niveles de progastrina desempeñan un papel en una o más enfermedades, serían deseables medios precisos para la medición de progastrina.

30 3.2. Antecedentes de patologías hepáticas.

35 Muchas patologías hepáticas son difíciles de diagnosticar. Por ejemplo, el cáncer de hígado no puede diagnosticarse mediante ensayos de sangre rutinarios. Generalmente es necesario un cribado realizado por el médico con el marcador tumoral alfa-fetoproteína (AFP). Sin embargo, unos niveles elevados de AFP no son específicos del cáncer de hígado. En adultos, unos niveles en sangre elevados (más de 500 ng/ml) de AFP se observan en tres situaciones: cáncer de hígado, tumores de células germinales (cánceres de testículos y de ovarios) y cáncer metastásico del hígado (un cáncer que se origina en otros órganos). Además, la sensibilidad de la AFP para el cáncer de hígado es de aproximadamente el 60%. En otras palabras, un nivel de AFP en sangre elevado se observa en solo aproximadamente el 60% de los pacientes con cáncer de hígado; el 40% de pacientes con cáncer de hígado tienen niveles de AFP normales. Otra dificultad para diagnosticar patologías hepáticas es la cirrosis, una consecuencia de una enfermedad hepática crónica caracterizada por la formación de cicatrices en el hígado y una función hepática deficiente. El criterio de referencia del diagnóstico es por medio de una biopsia del hígado, una técnica invasiva.

40 La hepatitis C es una enfermedad infecciosa que afecta al hígado, provocada por el virus de la hepatitis C (VHC). La infección es a menudo asintomática, pero una vez establecida, la infección crónica puede progresar hacia la formación de cicatrices en el hígado (fibrosis) y la formación de cicatrices avanzada (cirrosis). La hepatitis C se diagnostica normalmente por medio de cribado serológico. Serían deseables otros medios para detectar y/o confirmar la hepatitis C.

45 Konturek S.J. *et al.* ("Progastrin and its products from patients with chronic viral hepatitis and liver cirrhosis", en la publicación *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, Vol. 38, Nº 6, junio de 2003 (2003-06), páginas 643-647) demuestra que los niveles en plasma de progastrina y gastrina están aumentados significativamente en pacientes cirróticos y que esto podría atribuirse a una reducción del metabolismo de estos péptidos en caso de cirrosis hepática y a una reducción de su liberación debida a la tasa de infección de *H. Pylori* en esta enfermedad.

50 Konturek Stanislaw J. *et al.* ("Plasma progastrin and leptin in type B and C viral hepatitis and liver cirrhosis", en *Gastroenterology*, Vol. 122, Nº 4, Supl. 1, abril de 2002 (2002-04), página A-306, y *Digestive Disease Week and the 103rd Annual Meeting of the American Gastroenterological Association*; San Francisco, CA, Estados Unidos; 19-22 de mayo, 2002) demuestran que la progastrina (pero no la gastrina) y la leptina en plasma están significativamente aumentadas en pacientes cirróticos y este aumento podría atribuirse a una reducción del

metabolismo de estos péptidos en el hígado cirrótico y a un aumento de la tasa de infección de H. Pylori en esta enfermedad.

5 El documento US 2003/091574 (Gevas Philip *et al.*, 15 de mayo de 2003) divulga una combinación para su utilización en el tratamiento de cáncer pancreático que comprende (i) una composición inmunógena eficaz antigastrina y (ii) uno o más agentes quimioterapéuticos adecuados para inhibir el crecimiento de cáncer.

10 Debido a que la detección temprana y exacta de cáncer de hígado, cirrosis y hepatitis C tiene el potencial de aumentar la tasa de supervivencia de un paciente, existe actualmente y desde hace mucho la necesidad de procedimientos de diagnóstico o de detección de estas patologías, incluidos casos en los que un paciente tiene más de una de las enfermedades mencionadas anteriormente, o todas ellas.

4. Sumario

15 La presente invención se define como sigue:

- 20 1. Procedimiento de diagnóstico para diagnosticar si un paciente presenta múltiples patologías hepáticas, en el que una primera patología hepática ha sido diagnosticada en un paciente, que comprende la etapa de determinación del nivel de progastrina humana (hPG) en una muestra de plasma o suero de dicho paciente, en el que un nivel umbral de progastrina de por lo menos 400 pM indica que el paciente probablemente padece por lo menos una patología hepática adicional.
- 25 2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que dicha primera patología hepática se selecciona de entre el grupo que consiste en: cáncer de hígado, cirrosis y hepatitis C.
- 30 3. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2, en el que dichas múltiples patologías hepáticas se seleccionan de entre el grupo que consiste en:
 - cáncer de hígado y cirrosis,
 - cáncer de hígado y hepatitis C.
 - cáncer de hígado, cirrosis y hepatitis C.
- 35 4. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la etapa de determinación del nivel de hPG se lleva a cabo mediante un anticuerpo que se une específicamente a hPG.
- 40 5. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el nivel umbral de progastrina es de por lo menos 500 pM.
- 45 6. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicho paciente pertenece a una población que tiene una incidencia superior a la media de hepatitis C o dicho paciente reside en una región geográfica que tiene una incidencia superior a la media de hepatitis C o dicho paciente tiene una afección de dependencia de drogas o alcohol.
- 50 7. Procedimiento de diagnóstico según la reivindicación 1, que comprende adicionalmente las etapas siguientes:
 - a. identificar un paciente con una concentración de hPG en plasma o en suero de por lo menos 400 pM,
 - b. someter a análisis a dicho paciente para determinar por lo menos dos de las afecciones siguientes:
 - 55 i. cáncer de hígado, utilizando una técnica de radiografía o de diagnóstico por la imagen;
 - ii. virus de la hepatitis C, utilizando un ensayo basado en ácidos nucleicos; y
 - iii. cirrosis hepática, analizando una muestra de sangre de dicho paciente para determinar uno o más marcadores de fibrosis en suero,diagnosticando de esta forma si el paciente padece múltiples patologías hepáticas.
- 60 8. Procedimiento para determinar el riesgo de un paciente de padecer una pluralidad de afecciones hepáticas, que comprende:
 - a. determinar mediante un ensayo bioquímico niveles de hPG en suero o plasma de un paciente y
 - 65 b. sobre la base de (a), asignar al paciente un riesgo relativo de una o más patologías hepáticas, en el que:

- i. un nivel de hPG inferior a 100 pM indica que el paciente tiene un “riesgo bajo” de padecer una o más patologías hepáticas;
- 5 ii. un nivel de hPG comprendido entre 100 pM y 400 pM indica que un paciente tiene un “riesgo alto” de padecer cirrosis con o sin cáncer de hígado, y un “riesgo elevado” de padecer también hepatitis C, y
- 10 iii. un nivel de hPG superior a 400 pM indica que un paciente tiene un riesgo grave de padecer cáncer de hígado, cirrosis y hepatitis C;
- c. en el que dicho paciente se somete a análisis opcionalmente utilizando otros medios de diagnóstico para confirmar que dicho paciente no tiene cáncer de hígado si dicho paciente presenta niveles inferiores a 100 pM; y
- 15

en el que dicho paciente se somete a análisis opcionalmente de forma adicional utilizando otros medios de diagnóstico para detectar cáncer de hígado y/o hepatitis C si dicho paciente tiene niveles de hPG comprendidos entre 100 pM y 400 pM.

20 Se ha descubierto que mientras que los pacientes con una o dos patologías hepáticas pueden mostrar niveles elevados de progastina humana (hPG), los pacientes con cáncer de hígado, hepatitis C y cirrosis muestran niveles extremadamente elevados de hPG que son más que meras adiciones a los niveles de hPG mostrados por pacientes con solo una o dos de estas afecciones. En base a la presente divulgación, los niveles de hPG en suero o plasma del paciente pueden utilizarse para asignar un factor de riesgo de padecer una patología hepática. Además, unos niveles de hPG en suero o plasma excesivos pueden utilizarse para diagnosticar que un paciente padece cáncer de hígado, hepatitis C y cirrosis.

Los cánceres de hígado que pueden diagnosticarse mediante procedimientos de la divulgación incluyen cánceres de hígados primarios (por ejemplo, carcinoma hepatocelular, un cáncer que se origina en el hígado) y cánceres de hígado secundarios.

También se proporcionan procedimientos de diagnóstico en los que se identifica que un paciente padece de múltiples afecciones hepáticas o del hígado si se detecta un nivel de progastina humana (hPG) superior a un valor umbral (por ejemplo, por lo menos aproximadamente 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700 o 750 pM). Dichos procedimientos también pueden ser útiles como diagnóstico estándar en poblaciones que tienen una incidencia superior a la media de una enfermedad hepática, por ejemplo, en poblaciones consumidoras de drogas o alcohol o personas que residen en regiones geográficas con incidencias superiores a la media de enfermedades hepáticas. En consecuencia, también se proporcionan procedimientos para detectar niveles de hPG elevados en dichas poblaciones.

La presente divulgación también proporciona procedimientos para asignar a un paciente a un grupo de riesgo de padecer una pluralidad de patologías hepáticas tales como cáncer de hígado (por ejemplo, carcinoma hepatocelular), hepatitis C y cirrosis en base a los niveles de hPG del paciente. Por ejemplo, un primer nivel umbral de hPG puede indicar que el paciente tiene un “riesgo bajo” de padecer una patología hepática; un segundo nivel umbral de hPG puede indicar que el paciente tiene un “riesgo alto” de padecer una patología hepática; un tercer nivel umbral de hPG puede indicar que el paciente tiene un “riesgo elevado” de padecer una patología hepática; y un cuarto nivel umbral de hPG puede indicar que el paciente tiene un “riesgo grave” de padecer una patología hepática.

50 Los niveles de hPG cuantificados también pueden utilizarse con biomarcadores adicionales, tales como alfa-fetoproteína (“AFP”), para ayudar en la identificación, el diagnóstico, la diferenciación o la asignación de riesgo de padecer patologías hepáticas.

Los procedimientos divulgados en el presente documento pueden utilizarse para determinar procedimientos terapéuticos de actuación apropiados. En algunos casos es útil cribar pacientes a los que se les ha diagnosticado ya una patología hepática para determinar si están justificadas otras opciones de tratamiento. En consecuencia, en determinados aspectos, a un paciente al que se le ha diagnosticado previamente una patología hepática se le diagnostica que padece una afección hepática o del hígado adicional en base a los niveles de hPG de la muestra biológica del paciente. La patología hepática previa puede ser hepatitis C, cirrosis o cáncer hepático, tal como carcinoma hepatocelular. Ventajosamente, unos niveles extremadamente elevados de hPG (por ejemplo, concentraciones de hPG superiores a 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700 pM) indican que el paciente presenta todas estas afecciones.

Un paciente cuyos niveles de hPG indican que el paciente presenta una patología hepática, o un paciente al que se le ha diagnosticado previamente una afección hepática y cuyos niveles de hPG son indicativos de más de una afección hepática, puede someterse a un análisis adicional para identificar afecciones hepáticas específicas. El

paciente puede someterse a análisis para determinar cáncer hepático, hepatitis C o cirrosis hepática.

Los pacientes a los que se ha identificado que presentan múltiples patologías hepáticas utilizando procedimientos de la divulgación pueden tratarse de su afección. También puede realizarse un seguimiento de los niveles de hPG de pacientes que están sometidos a tratamiento de una patología hepática para evaluar la progresión de la enfermedad y/o la eficacia del tratamiento. Un paciente cuyos niveles de hPG continúan siendo superiores al valor umbral debe continuar recibiendo tratamiento.

En la puesta en práctica de los procedimientos divulgados en el presente documento, el ensayo particular para la medición de niveles de hPG no es crítico si el nivel de hPG medido es exacto. En algunas realizaciones, se utilizan de forma adecuada anticuerpos anti-hPG para medir niveles de hPG. Como se ha indicado, la hPG es escindida por el cuerpo dando péptidos más pequeños. Se prefiere que el hPG se detecte y se mida en los procedimientos de la divulgación utilizando ensayos que no detecten subproductos del procesamiento de la progastrina a fin de evitar mediciones de hPG inexactas. Esto puede lograrse utilizando anticuerpos que se unan a la hPG de longitud completa pero no a péptidos de hPG más pequeños. Esto puede lograrse también utilizando dos anticuerpos diferentes que se unen ambos a hPG de longitud completa, pero en la medida que los anticuerpos se unen a péptidos de hPG más pequeños, no se unen a los mismos péptidos de hPG más pequeños. En dichos ensayos, el único producto al que se unen ambos anticuerpos es la hPG de cadena completa. Por ejemplo, los anticuerpos que se unen a los epítopes C-terminal y N-terminal de hPG permiten la detección y la medición de hPG de cadena completa sin la detección ni la medición de péptidos de hPG más pequeños. Así, en determinados aspectos, la divulgación proporciona un procedimiento de diagnóstico para un paciente en el que una muestra biológica se pone en contacto con un primer anticuerpo que se une a un primer epítipo de hPG, preferentemente a un epítipo C-terminal o N-terminal, y un segundo anticuerpo que se une a un epítipo diferente de hPG, preferentemente un epítipo presente en el otro extremo terminal.

En un procedimiento ejemplar que utiliza un anticuerpo anti-hPG para la detección y la medición de hPG, se identifica que un paciente padece una afección múltiple hepática o de hígado poniendo en contacto una muestra del paciente con por lo menos un anticuerpo anti-hPG; y determinando si la muestra tiene una concentración de hPG superior a un valor umbral, por ejemplo por lo menos 400, 450, 500, 550 o 600 pM, a menudo 400, 450 o 500 pM, en base a la cantidad de hPG unida al anticuerpo.

Los procedimientos de la divulgación incluyen, en general, analizar la muestra biológica para determinar niveles de hPG. La muestra biológica puede ser plasma o suero. También pueden utilizarse niveles en tejidos; no obstante, se espera que los niveles de hPG medidos en tejidos difieran de los niveles de hPG encontrados en suero o plasma, pero serán elevados con respecto a un nivel de hPG normal en un paciente cuando dicho paciente padece patologías hepáticas. Así, los niveles en tejidos de hPG también pueden utilizarse para realizar un seguimiento del riesgo de padecer, o del estado de, una patología hepática en un paciente. Cuando se utiliza una muestra de tejido, puede detectarse progastrina utilizando un inmunoensayo que se realiza sobre un extracto celular o tisular, o se pueden utilizar técnicas inmunohistoquímicas que utilizan un anticuerpo policlonal o monoclonal marcado con un marcador detectable. Las técnicas inmunohistoquímicas proporcionan una medición cualitativa de niveles de progastrina. Los marcadores detectables adecuados incluyen una marca radiactiva (tal como yodo radiactivo), una marca fluorescente o una marca quimioluminiscente.

En el presente documento también se proporcionan kits de diagnóstico. Un kit de diagnóstico puede comprender, por ejemplo, uno o más anticuerpos de progastrina opcionalmente marcados con un marcador detectable que pueden utilizarse para cribar, diagnosticar o diferenciar patologías hepáticas. Un kit de diagnóstico puede contener un primer anticuerpo que tiene afinidad por la región peptídica N-terminal de la hPG y un segundo anticuerpo que tiene afinidad por un epítipo diferente tal como la región peptídica C-terminal de la hPG. La presente divulgación también proporciona kits para llevar a cabo procedimientos de diagnóstico de patologías hepáticas, que comprenden un anticuerpo monoclonal anti-hPG N-terminal y un anticuerpo anti-hPG C-terminal monoclonal o policlonal, cada uno en un recipiente separado, y reactivos adecuados. En algunas realizaciones, uno de los anticuerpos proporcionados, o ambos, está marcado.

También se proporcionan procedimientos para diagnosticar si un paciente padece múltiples afecciones hepáticas o de hígado, en los que un paciente con una concentración de hPG en sangre de por lo menos aproximadamente 400 pM se identifica que tiene dos o más de las afecciones siguientes: hepatitis C, cáncer de hígado o cirrosis, por ejemplo, analizando niveles de hPG en suero o en plasma del paciente utilizando un ensayo bioquímico. Después de identificar dicho paciente, la patología hepática del paciente puede diagnosticarse adicionalmente utilizando ensayos para determinar hepatitis C, cáncer de hígado o cirrosis. La hepatitis C puede diagnosticarse utilizando un ensayo basado en ácidos nucleicos. El cáncer de hígado puede diagnosticarse utilizando una técnica de radiografía o de diagnóstico por la imagen (con o sin contraste). La cirrosis hepática puede diagnosticarse analizando una muestra de dicho paciente para determinar uno o más marcadores séricos de fibrosis que incluyen alfa-2-macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteína A1, gamma-glutamil transpeptidasa (GGT), bilirrubina total y alanina transaminasa (ALT). El paciente puede tener otros marcadores importantes para un diagnóstico, tales como alfa-fetoproteína y/o des-gamma carboxiprotrombina elevadas en suero, y el procedimiento de diagnóstico o de tratamiento puede comprender adicionalmente una etapa de medición de

dichos niveles.

Después del diagnóstico, un paciente puede tratarse de su afección o sus afecciones hepáticas utilizando agentes convencionales, por ejemplo, un paciente con hepatitis C puede tratarse con interferón-alfa-2a pegilado, interferón-alfa-2b pegilado y/o fármaco vírico ribavirina; un paciente con cirrosis puede tratarse con cirugía de trasplante hepático y tratamiento sintomático para complicaciones de cirrosis; y un paciente al que se diagnosticado cáncer hepático puede tratarse con radioterapia y/o quimioterapia.

También puede realizarse un seguimiento a los pacientes utilizando las técnicas de la divulgación. En un procedimiento, se realiza un seguimiento del estado patológico de un paciente con múltiples enfermedades hepáticas o del hígado sometiendo al paciente que padece múltiples enfermedades hepáticas o del hígado y que tiene una concentración de hPG en sangre superior a una cantidad umbral a un régimen terapéutico para tratar dichas enfermedades hepáticas o del hígado. Después del tratamiento, se determina si dicho paciente sigue teniendo una concentración de hPG en sangre superior a la cantidad umbral, y si este es el caso, se continúa con el régimen terapéutico. Si el paciente ya no tiene una concentración de hPG en sangre superior a la cantidad umbral, puede realizarse periódicamente un seguimiento de los niveles de hPG del paciente para determinar si aumentan por encima de dicha cantidad umbral, lo que permite que se reinicie el tratamiento.

También se proporcionan sistemas para diagnosticar el estado de salud hepático o del hígado del paciente. Los sistemas de la divulgación comprenden uno o más de los componentes siguientes: un elemento de entrada que recibe valores de la concentración de hPG en sangre del paciente, un procesador configurado para comparar la concentración de hPG en sangre del paciente con una concentración de hPG en sangre de referencia, estando el procesador configurado para proporcionar un nivel de riesgo para la patología hepática del paciente basado totalmente o parcialmente en la concentración de hPG en sangre del paciente, y una pantalla configurada para mostrar el nivel de riesgo de la patología hepática. Los sistemas pueden adaptarse de forma que el procesador proporcione determinaciones del nivel de riesgo bajas, elevadas, altas o graves para una pluralidad de patologías hepáticas. El sistema también puede comprender un elemento de entrada para recibir valores de niveles de alfa-fetoproteína (AFP) del paciente, en el que el procesador está configurado para comparar el nivel de AFP con un nivel de AFP de referencia y proporcionar un nivel de riesgo para una patología hepática basado en niveles de hPG y AFP. Los niveles umbrales (i) de hPG y (ii) de hPG y AFP para diferentes grupos de riesgo se divulgan en el presente documento.

También se proporciona un medio de almacenamiento informático legible en el que se han almacenado datos que representan instrucciones ejecutables por un procesador programado para su utilización en el diagnóstico del estado de salud hepático o del hígado del paciente, comprendiendo el medio de almacenamiento instrucciones para comparar la concentración de hPG en sangre del paciente con una concentración de hPG en sangre de referencia y proporcionar un nivel de riesgo para la patología hepática del paciente basado, totalmente o parcialmente, en la concentración de hPG en sangre del paciente. El medio puede proporcionar niveles de riesgo, por ejemplo, determinaciones de un nivel de riesgo bajo, elevado, alto o grave para una pluralidad de patologías hepáticas. El medio también puede comprender datos para comparar un nivel de AFP en sangre del paciente con un nivel de referencia para proporcionar determinaciones del nivel de riesgo. Los niveles umbrales (i) de hPG y (ii) de hPG y AFP para diferentes grupos de riesgo se divulgan en el presente documento.

5. Breve descripción de las figuras

La figura 1 proporciona secuencias de aminoácidos de preprogastrina (en las que el péptido señal está subrayado), progastrina y productos del procesamiento de la progastrina, incluidos G₃₄, G₃₄-Gly, G₁₇, G₁₇-Gly y el péptido flanqueante C-terminal, CTFP.

La figura 2 proporciona un diagrama de barras de valores de hPG indicativos de determinadas patologías hepáticas.

Las figuras 3A-3L proporcionan secuencias de polipéptidos, y los polinucleótidos correspondientes, de cadenas VH y VL para anticuerpos monoclonales anti-hPG murinos ejemplares.

La figura 3A muestra la cadena VH murina de polinucleótidos (SEC ID NO:16) y polipéptidos (SEC ID NO:12) para MAb3 anti-hPG y la figura 3B muestra la cadena VL murina de polinucleótidos (SEC ID NO:17) y polipéptidos (SEC ID NO:13) para MAb3 anti-hPG.

La figura 3C muestra la cadena VH murina de polinucleótidos (SEC ID NO:18) y de polipéptidos (SEC ID NO:14) para MAb4 anti-hPG y la figura 3D muestra la cadena VL murina de polinucleótidos (SEC ID NO:19) y de polipéptidos (SEC ID NO:15) para MAb4 anti-hPG.

La figura 3E muestra la cadena VH murina de polinucleótidos (SEC ID NO:67) y de polipéptidos (SEC ID NO:59) para MAb8 anti-hPG y la figura 3F muestra la cadena VL murina de polinucleótidos (SEC ID NO:71) y de polipéptidos (SEC ID NO:63) para MAb8 anti-hPG.

La figura 3G muestra la cadena VH murina de polinucleótidos (SEC ID NO:68) y de polipéptidos (SEC ID NO:60) para MAb13 anti-hPG y la figura 3H muestra la cadena VL murina de polinucleótidos (SEC ID NO:72) y de polipéptidos (SEC ID NO:74) para MAb13 anti-hPG.

5

La figura 3I muestra la cadena VH murina de polinucleótidos (SEC ID NO:69) y de polipéptidos (SEC ID NO:61) para MAb16 anti-hPG y la figura 3J muestra la cadena VL murina de polinucleótidos (SEC ID NO:73) y de polipéptidos (SEC ID NO:65) para MAb16 anti-hPG.

10

La figura 3K muestra la cadena VH murina de polinucleótidos (SEC ID NO:70) y de polipéptidos (SEC ID NO:62) para MAb19 anti-hPG y la figura 3L muestra la cadena VL murina de polinucleótidos (SEC ID NO:74) y de polipéptidos (SEC ID NO:66) para MAb19 anti-hPG.

15

Las figuras 4A-4Z proporcionan secuencias de polipéptidos de cadenas VH y VL para anticuerpos monoclonales anti-hPG humanos ejemplares.

La figura 4A muestra la cadena VH humana de polipéptidos (SEC ID NO:21) para MAb3 anti-hPG y la figura 4B muestra la cadena VL humana de polipéptidos (SEC ID NO:22) para MAb3 anti-hPG.

20

La figura 4C muestra la cadena VH humana de polipéptidos (SEC ID NO:23) para MAb4 anti-hPG y la figura 4D muestra la cadena VL humana de polipéptidos (SEC ID NO:24) para MAb4 anti-hPG.

La figura 4E muestra la cadena VH humana de polipéptidos (SEC ID NO:75) para MAb8(a) anti-hPG y la figura 4F muestra la cadena VL humana de polipéptidos (SEC ID NO:76) para MAb8(a) anti-hPG.

25

La figura 4G muestra la cadena VH humana de polipéptidos (SEC ID NO:77) para MAb8(b) anti-hPG y la figura 4H muestra la cadena VL humana de polipéptidos (SEC ID NO:78) para MAb8(b) anti-hPG.

30

La figura 4I muestra la cadena VH humana de polipéptidos (SEC ID NO:79) para MAb8(c) anti-hPG y la figura 4J muestra la cadena VL humana de polipéptidos (SEC ID NO:76) para MAb8(c) anti-hPG.

La figura 4K muestra la cadena VH humana de polipéptidos (SEC ID NO:80) para MAb13(a) anti-hPG y la figura 4L muestra la cadena VL humana de polipéptidos (SEC ID NO:81) para MAb13(a) anti-hPG.

35

La figura 4M muestra la cadena VH humana de polipéptidos (SEC ID NO:82) para MAb13(b) anti-hPG y la figura 4N muestra la cadena VL humana de polipéptidos (SEC ID NO:83) para MAb13(b) anti-hPG.

La figura 4O muestra la cadena VH humana de polipéptidos (SEC ID NO:84) para MAb16(a) anti-hPG y la figura 4P muestra la cadena VL humana de polipéptidos (SEC ID NO:85) para MAb16(a) anti-hPG.

40

La figura 4Q muestra la cadena VH humana de polipéptidos (SEC ID NO:86) para MAb16(b) anti-hPG y la figura 4R muestra la cadena VL humana de polipéptidos (SEC ID NO:87) para MAb16(b) anti-hPG.

La figura 4S muestra la cadena VH humana de polipéptidos (SEC ID NO:88) para MAb16(c) anti-hPG y la figura 4T muestra la cadena VL humana de polipéptidos (SEC ID NO:89) para MAb16(c) anti-hPG.

45

La figura 4U muestra la cadena VH humana de polipéptidos (SEC ID NO:90) para MAb19(a) anti-hPG y la figura 4V muestra la cadena VL humana de polipéptidos (SEC ID NO:91) para MAb19(a) anti-hPG.

50

La figura 4W muestra la cadena VH humana de polipéptidos (SEC ID NO:92) para MAb19(b) anti-hPG y la figura 4X muestra la cadena VL humana de polipéptidos (SEC ID NO:93) para MAb19(b) anti-hPG.

La figura 4Y muestra la cadena VH humana de polipéptidos (SEC ID NO:94) para MAb19(c) anti-hPG y la figura 4Z muestra la cadena VL humana de polipéptidos (SEC ID NO:95) para MAb19(c) anti-hPG.

55

6. Descripción detallada

6.1. Definiciones

60

A menos que se indique lo contrario, está previsto que los términos siguientes tengan sus significados ordinarios, que se comentan a continuación en el contexto de la presente divulgación:

65

La "progastrina humana" o "hPG" es un polipéptido con la secuencia de aminoácidos identificada como SEC ID NO:20. Tal como se utiliza en el presente documento, la definición de hPG comprende el producto proteico primario del gen de la gastrina; es decir, preprogastrina sin el péptido señal o el prepéptido. Véase Rehfeld *et al.* (2004) *Regulatory Peptides* 120(1-3):177-183. La hPG consiste en tres regiones bien definidas divididas por dos

sitios de escisión d-Arg. En consecuencia, a menos que se defina de otra forma, la hPG consiste en los productos del procesamiento de la progastrina que conservan los dos sitios d-Arg. La hPG no incluye las "gastrinas," es decir, G₃₄ y G₁₇, pero puede comprender, por ejemplo, truncados cortos (hasta 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos) o variantes de hPG que conservan los dos sitios d-Arg localizados en, o aproximadamente en, 36/37 y 73/74. Véase la figura 1.

"Marcador biológico" o "biomarcador" significa una característica que se mide y se evalúa objetivamente como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patológicos o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica.

Un "ensayo tipo sándwich" se refiere a un tipo específico de inmunoensayo que puede utilizarse para cuantificar la cantidad de un compuesto que interactúa con una muestra. El ensayo tipo sándwich se denomina de esta forma debido a que el antígeno de la muestra se une entre un anticuerpo de captura y un anticuerpo de detección o de referencia. En el ensayo tipo sándwich de la divulgación, la progastrina humana se une entre anticuerpos anti-hPG. El ensayo proporciona una cuantificación de hPG, pero no de precursores o productos de la misma, proporcionando de esta forma una medida más exacta de la concentración de hPG. Ventajosamente, los anticuerpos de la divulgación dirigidos contra las regiones N-terminal o C-terminal de progastrina son también específicos para la progastrina por separado. Es, por lo tanto, menos probable que los fragmentos de procesamiento de progastrina más pequeños actúen como competidores de un anticuerpo o del otro, sesgando de esta forma, posiblemente, los resultados del ensayo.

"Sujeto" o "paciente" se usan indistintamente en el presente documento, y se refiere a un vertebrado, preferentemente un mamífero, más preferentemente un ser humano.

Un "anticuerpo" o "Ab" se refiere a una molécula de inmunoglobulina que se une específicamente a, o es inmunológicamente reactiva con, un antígeno particular, e incluye formas policlonales, monoclonales, obtenidas mediante ingeniería genética o modificadas de otra forma de anticuerpos, incluidos, pero sin limitación, anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados y fragmentos de unión a antígeno de anticuerpos, incluidos, por ejemplo, los fragmentos Fab', F(ab')₂, Fab, Fv, rIgG y scFv. En diversas realizaciones, los anticuerpos monoclonales anti-hPG comprenden la totalidad, o una porción, de una región constante de un anticuerpo. En algunas realizaciones, la región constante es un isotipo seleccionado de entre: IgA (por ejemplo, IgA₁ o IgA₂), IgD, IgE, IgG (por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃ o IgG₄) y IgM. Los anticuerpos (incluidos anticuerpos monoclonales) pueden generarse a partir de una cualquiera de diversas especies, incluidas, pero sin limitación, ratón, conejo, rata, cerdo, cobaya, pollo, burro, caballo, camello y llama.

Tal como se utiliza en el presente documento, un anticuerpo es "altamente específico para" hPG si se une a progastrina de longitud completa pero no se une de ninguna forma a CTFP, a gastrina amidada o a gastrina extendida con glicina, y "específico para hPG" o un "anticuerpo que se une específicamente a hPG" si muestra una unión por lo menos aproximadamente 5 veces superior a hPG que a CTFE y los otros productos del gen de la gastrina, medida en ensayos de unión estándar. Un ensayo ELISA que puede utilizarse para evaluar la especificidad de un anticuerpo anti-hPG particular se proporciona en el ejemplo 4.

Dichos anticuerpos anti-hPG específicos (denominados en el presente documento "anticuerpos anti-hPG") pueden ser policlonales ("PAb anti-hPG") o monoclonales ("MAb anti-hPG"), aunque para aplicaciones terapéuticas y, en algunos casos, aplicaciones de diagnóstico u otras aplicaciones in vitro, se prefieren anticuerpos monoclonales.

La expresión "anticuerpo monoclonal", tal como se utiliza en el presente documento, no está limitada a anticuerpos producidos mediante tecnología de hibridoma. Un anticuerpo monoclonal se deriva de un único clon, incluido cualquier clon eucariótico, procariontico o de fago, por cualquier medio disponible o conocido en la técnica. Pueden prepararse anticuerpos monoclonales útiles con la presente divulgación utilizando una amplia diversidad de técnicas conocidas en la técnica que incluyen la utilización de tecnologías de hibridoma, recombinantes y de presentación en fagos, o una combinación de las mismas. En muchas utilizaciones de la presente divulgación, incluidas aplicaciones in vivo de los anticuerpos monoclonales anti-hPG en seres humanos y ensayos de detección in vitro, pueden utilizarse de forma adecuada anticuerpos quiméricos, primatizados, humanizados o humanos.

El término "scFv" se refiere a un anticuerpo Fv monocatenario en el que los dominios variables de la cadena pesada y la cadena ligera de un anticuerpo tradicional se han unido para formar una cadena.

Las referencias a "VH" se refieren a la región variable de una cadena pesada de inmunoglobulina de un anticuerpo, que incluye la cadena pesada de un Fv, scFv o Fab. Las referencias a "VL" se refieren a la región variable de una cadena ligera de inmunoglobulina, que incluye la cadena ligera de un Fv, scFv, dsFv o Fab. Los anticuerpos (Ab) y las inmunoglobulinas (Ig) son glicoproteínas que tienen las mismas características estructurales. Mientras que los anticuerpos muestran una especificidad de unión a una diana específica, las inmunoglobulinas incluyen tanto anticuerpos como otras moléculas similares a anticuerpos que carecen de

especificidad por la diana. Los anticuerpos nativos y las inmunoglobulinas nativas son generalmente glicoproteínas heterotetraméricas de aproximadamente 150.000 Daltons, compuestas por dos cadenas ligeras (L) idénticas y dos cadenas pesadas (H) idénticas. Cada una de las cadenas pesadas tiene en un extremo un dominio variable (VH) seguido por una serie de dominios constantes. Cada una de las cadenas ligeras tiene un dominio variable en un extremo (VL) y un dominio constante en su otro extremo.

Los anticuerpos monoclonales anti-hPG de la divulgación comprende "regiones determinantes de la complementariedad (CDR)". Las CDR se conocen también como regiones hipervariables tanto en los dominios variables de cadena ligera como de cadena pesada. Las porciones más altamente conservadas de dominios variables se denominan el marco estructural (FR). Como se conoce en la técnica, la posición/el límite de aminoácidos que delimitan una región hipervariable de un anticuerpo puede variar, en función del contexto y las diversas definiciones conocidas en la técnica. Algunas posiciones dentro de un dominio variable pueden observarse como posiciones hipervariables híbridas, pudiendo considerarse que estas posiciones están dentro de una región hipervariable bajo una serie de criterios mientras que se considera que están fuera de una región hipervariable bajo una serie diferente de criterios. Una o más de estas posiciones también pueden encontrarse en regiones hipervariables extendidas. La divulgación proporciona anticuerpos que comprenden modificaciones en estas posiciones hipervariables híbridas. Los dominios variables de cadenas ligera y pesada nativas comprenden cada uno cuatro regiones FR, que adoptan ampliamente una configuración de lámina β , conectadas mediante tres CDR, que forman bucles que conectan, y en algunos casos forman parte de, la estructura de lámina β . Las CDR de cada cadena se mantienen juntas en una proximidad cercana mediante las regiones FR y, con las CDR de la otra cadena, contribuyen a la formación del sitio de unión a diana de anticuerpos (véase Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, National Institute of Health, Bethesda, Md. 1987).

El término "epítotope" se refiere a cualquier porción (determinante) de una proteína que es capaz de provocar una respuesta inmunitaria y que se une específicamente a un anticuerpo. Los determinantes de epítotope consisten habitualmente en agrupaciones de moléculas superficiales activas tales como cadenas laterales de aminoácidos o de GAG y tienen generalmente características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas. Se dice que dos anticuerpos se unen a sustancialmente el mismo epítotope de una proteína (o el epítotope solapante de una proteína) si las mutaciones de aminoácidos de la proteína que reducen o eliminan la unión de un anticuerpo también reducen o eliminan la unión del otro anticuerpo, y/o si los anticuerpos compiten por la unión a la proteína, es decir, la unión de un anticuerpo a la proteína reduce o elimina la unión del otro anticuerpo. La determinación de si dos anticuerpos se unen sustancialmente al mismo epítotope se realiza mediante los procedimientos conocidos en la técnica, tales como un ensayo de competencia. Al realizar un estudio de competencia de anticuerpos entre un anticuerpo de control (por ejemplo, uno de los anticuerpos anti-progastrina descritos en el presente documento) y cualquier anticuerpo de ensayo, se puede marcar en primer lugar el anticuerpo de control con una marca detectable, tal como una marca de biotina, una marca de enzimática, una marca radiactiva o una marca fluorescente para permitir la subsiguiente identificación. Un anticuerpo de ensayo (sin marcar) que se une a sustancialmente el mismo epítotope que el anticuerpo de control (marcado) debería ser capaz de bloquear la unión del anticuerpo de control y, de esta forma, debería reducir la unión del anticuerpo de control.

Un "ensayo específico para hPG" o un "ensayo específico para progastrina humana" se refiere a un ensayo que distingue la hPG de longitud completa de la CTFP y los otros productos del gen de la gastrina. En el contexto de un ensayo de diagnóstico basado en anticuerpo, un ensayo específico para hPG puede utilizar un anticuerpo que se une específicamente a hPG. Como alternativa, un ensayo específico para hPG puede utilizar dos anticuerpos que se unen ambos a hPG de longitud completa pero, por el contrario, no se unen ambos a los mismos productos del gen de la gastrina, de forma que la hPG sea la única molécula producida por el gen de la gastrina que se reconoce por parte de ambos anticuerpos. Por ejemplo, pueden utilizarse anticuerpos que se unen a epítotope C-terminales y N-terminales de la hPG en un ensayo que distingue la hPG de otros péptidos del gen de la gastrina.

Con respecto a la utilización del término cáncer, se debe indicar que en pacientes en los que las células del tumor primario (original) se han liberado y han migrado a otra ubicación dentro del cuerpo, normalmente a través de la linfa o la sangre, por medio de un proceso denominado "metástasis", para formar otro tumor metastásico (o secundario), el tumor secundario o metastásico es normalmente del mismo tipo que el tumor original, independientemente de su nueva ubicación, de modo que la enfermedad se denomina cáncer metastásico, y no cáncer del tejido residente nuevo. Por ejemplo, el cáncer pancreático que se ha extendido al hígado es cáncer pancreático metastásico, no cáncer de hígado. En consecuencia, un carcinoma hepatocelular metastásico se refiere a un cáncer originado en el hígado y que se ha metastatizado a otro sitio. El cáncer de hígado secundario (es decir, cáncer metastásico de una fuente que no es el hígado que se ha metastatizado al hígado) también puede diagnosticarse en base a niveles excesivos de hPG. Por ejemplo, un cáncer colorrectal que se ha metastatizado (es decir, cáncer colorrectal metastásico) al hígado es una forma de cáncer de hígado secundario. En otras palabras, el cáncer de hígado es detectable utilizando niveles de hPG en suero, plasma o tejido tanto en cánceres de hígado primarios como secundarios.

6.2. Niveles de progastrina y patologías hepáticas

Se considera generalmente que los niveles de progastrina normales son inferiores a de 20 a 50 pM, encontrándose normalmente entre 0 y 5 pM. La presente divulgación demuestra que pacientes con múltiples patologías hepáticas pueden mostrar niveles de progastrina humana (hPG) elevados y que pacientes con cáncer de hígado, hepatitis C y cirrosis muestran niveles extremadamente elevados de hPG.

La figura 2 ilustra gráficamente niveles de hPG en pacientes con una o más patologías hepáticas determinados mediante un ensayo tipo sándwich de ELISA utilizando anticuerpos anti-hPG. Las uniones exteriores de áreas en recuadros indican del 25° al 75° percentil. Los filamentos indican del 5° al 95° percentil. Las líneas individuales representan la mediana. Los puntos indican valores atípicos. La tabla siguiente resume datos del 5° al 95° percentil:

Tabla 1

Niveles de progastrina (pM) en pacientes con patologías hepáticas (5°-95° percentil)	
Cáncer de hígado	Cirrosis
0 a 100 (20) [†]	10 a 700 (90)
Cáncer de hígado y hepatitis C	Cáncer de hígado, hepatitis C y cirrosis
10 a 500 (50)	150 a 2000 (1300-1400)
[†] Los valores en paréntesis indican niveles de hPG promedio	

Sobre la base de lo anterior, los niveles de hPG superiores a 50 pM o 100 pM pueden ser indicativos de una o más patologías hepáticas. Los niveles de hPG de por lo menos aproximadamente 400 pM, 500 pM o 600 pM son, en particular, diagnósticamente significativos dado que son muy indicativos de múltiples patologías hepáticas, en particular la presencia de cáncer de hígado y de cirrosis, cáncer de hígado y hepatitis C, y cáncer de hígado, cirrosis y hepatitis C.

Se ha encontrado que los niveles en plasma para pacientes con solo hepatitis C son similares a pacientes sanos en un estudio que mide niveles de progastrina totales (es decir, niveles de progastrina de longitud completa y productos de escisión). Véase Konturek *et al.*, 2003, *Scand J Gastroenterol* 6:643-647. Se espera que los niveles de progastrina de longitud completa solo en pacientes con hepatitis C sean muy reducidos.

Los niveles de progastrina pueden utilizarse para asignar una puntuación de riesgo y una probabilidad de riesgo patológico correspondiente. Para un ejemplo de un modelo para asignar un riesgo de mortalidad en pacientes con enfermedad hepática en un estadio terminal, véase Kamath *et al.* (2001) *Hepatology* 33(2):464-70.

Utilizando datos empíricos que correlacionan niveles de progastrina determinados con estados patológicos hepáticos, pueden derivarse una puntuación y una probabilidad de riesgo de enfermedad asociado de los niveles de biomarcadores, tales como progastrina y opcionalmente otros biomarcadores. La probabilidad de riesgo de enfermedad puede describirse cualitativamente utilizando cuatro grupos de riesgo: riesgo bajo, riesgo elevado, riesgo alto y riesgo grave.

Los niveles de riesgo a los que se refiere la presente divulgación tienen los significados siguientes:

o "Riesgo bajo" significa que los niveles de marcador(es) biológico(s) del paciente no indican la presencia de una patología hepática dada.

o "Riesgo elevado" significa que los niveles de marcador(es) biológico(s) del paciente indican un riesgo aumentado de padecer una patología hepática dada. El riesgo es de tal magnitud que es necesario un análisis adicional.

o "Riesgo alto" significa que los niveles de marcador(es) biológico(s) del paciente indican un riesgo muy aumentado de padecer una patología hepática dada. El riesgo es de tal magnitud que se requiere un análisis adicional. Un diagnóstico tentativo basado en la especificidad de los marcadores biológicos puede estar justificado.

o "Riesgo grave" significa que los niveles de marcador(es) biológico(s) del paciente son claramente anormales e indican una patología subyacente. Puede realizarse un diagnóstico, sujeto a la especificidad del marcador o los marcadores biológicos.

Los pacientes que tienen niveles de progastrina en suero o plasma inferiores a de 0 pM a 100 pM tienen un riesgo bajo de un diagnóstico tanto de cáncer de hígado, por ejemplo, carcinoma hepatocelular, como de cirrosis, como un riesgo extremadamente bajo de un diagnóstico de la totalidad de las tres patologías: cáncer de hígado, cirrosis y hepatitis C. Los pacientes con niveles normales en suero o plasma de progastrina (por ejemplo, de 0 a 5 pM) o niveles ligeramente elevados (de hasta 100 pM) pueden tener, no obstante, cáncer de hígado. En

consecuencia, es aconsejable someter adicionalmente a análisis a un paciente con niveles en suero o plasma de hPG de 100 pM o inferiores para determinar si tiene cáncer de hígado.

5 Los pacientes que tienen niveles de progastrina en suero o plasma de entre 100 pM y 400 pM es improbable que tengan cáncer de hígado sin otras patologías hepáticas. Dichos pacientes tienen un riesgo alto de tener cirrosis (con o sin cáncer de hígado) y un riesgo elevado de tener hepatitis C adicionalmente. Los pacientes que tienen niveles de progastrina en suero o plasma superiores a 400 pM tienen un riesgo grave de tener cáncer de hígado, hepatitis C y cirrosis.

10 La relación entre los niveles de hPG de un paciente y el estado patológico del hígado puede utilizarse en una diversidad de procedimientos de diagnóstico. Los procedimientos de diagnóstico suponen generalmente comparar niveles de hPG en una muestra de un paciente con un valor normal de hPG, por ejemplo los niveles de hPG de un individuo sano o un grupo de individuos sanos. Si los niveles de hPG son elevados, el nivel elevado se correlaciona con una patología hepática probable, por ejemplo sobre la base de las asignaciones de riesgo proporcionadas anteriormente. Dichos procedimientos incluyen opcionalmente una etapa en la que un paciente proporciona una muestra de un fluido corporal. El fluido corporal puede analizarse después para determinar los niveles de hPG, preferentemente mediante un ensayo bioquímico.

20 En determinadas aplicaciones, puede utilizarse un análisis del nivel del paciente de un marcador de cáncer conjuntamente con el nivel de hPG del paciente para aumentar la especificidad de un marcador de cáncer de hígado en un paciente, o para asignar una puntuación de riesgo y una probabilidad de riesgo de enfermedad correspondiente. Un marcador secundario preferido es alfa-fetoproteína (AFP). La AFP en suero, un antígeno de glicoproteína específico fetal, es el marcador de tumores más ampliamente utilizado para detectar pacientes con cáncer de hígado, por ejemplo carcinoma hepatocelular. La sensibilidad de la AFP para detectar carcinoma hepatocelular comunicada varía ampliamente tanto en poblaciones positivas al virus de la hepatitis B (VHB) como negativas al VHB, lo que se puede atribuir a un solapamiento entre diseños de estudio de cribado y de diagnóstico. Cuando se utiliza la AFP para cribar poblaciones de riesgo alto, se ha informado de una sensibilidad del 39% al 97%, una especificidad del 76% al 95% y un valor predictivo positivo (PPV) del 9% al 32%. La AFP no es específica del cáncer de hígado. Las valoraciones también aumentan en hepatitis aguda o crónica, en el embarazo y en presencia de tumores de células germinales.

La tabla siguiente indica el riesgo relativo de una patología hepática dada sobre la base de niveles de hPG junto con niveles de AFP. La asignación de riesgo relativo sobre la base de niveles tanto de hPG como de AFP proporciona un ensayo más sensible y exacto para patologías hepáticas que sobre la base de AFP solo.

Tabla 2

Riesgo relativo de padecer patologías hepáticas a niveles de progastrina y AFP determinados				
		Nivel de progastrina		
		0-100 pM	100-400 pM	> 400 pM
Nivel de AFP	0 pM a 50 pM	-	-	++
	51 pM a 250 pM	-	+	+++
	251 pM a 500 pM	+	++	+++
	501 pM a 750pM	++	+++	+++
- = riesgo bajo, + = riesgo elevado, ++ = riesgo alto, +++ = riesgo grave				

40 Otros marcadores secundarios que pueden utilizarse junto con progastrina incluyen antígenos oncofetales, antígenos de glicoproteína, enzimas e isoenzimas, marcadores génicos y citocinas que se correlacionan con el cáncer de hígado. Los marcadores secundarios adecuados adicionales incluyen glicoproteína-3, gamma-glutamil transferasa II, alfa-L-fucosidasa, factor de crecimiento transformante-beta-1, factor específico de tumor, gamma-glutamil transferasa ARNm, factor de crecimiento endotelial vascular, interleucina-8 y variantes de los mismos. Se describen marcadores ejemplares en Zhou *et al.* (2006) *World Journal of Gastroenterology* 12(8):1175-1181.

Las patologías hepáticas pueden confirmarse mediante técnicas estándar conocidas en la técnica. Por ejemplo, pueden confirmarse cánceres de hígado, tales como carcinoma hepatocelular, mediante radiografía o una técnica de diagnóstico por la imagen tal como MRI, con o sin biopsia y con o sin cuantificación de un marcador sanguíneo tal como AFP. La hepatitis C puede confirmarse mediante cuantificación de partículas víricas en sangre, mediante análisis de niveles de fibrosis utilizando ultrasonidos, utilizando un ensayo basado en ácidos nucleicos y/o mediante fibroscan. La cirrosis puede confirmarse mediante diagnóstico utilizando ultrasonidos con o sin biopsia y/o detectando marcadores en suero de fibrosis. También pueden utilizarse otras técnicas.

6.3. Procedimientos de medición de niveles de progastrina

Los procedimientos de la presente divulgación diagnostican una o más patologías hepáticas y/o asignan riesgos

de padecer una patología hepática sobre la base de los niveles de hPG del paciente. Pueden medirse niveles de progastrina en plasma y suero utilizando cualquier técnica analítica conocida. Dichas técnicas incluyen, pero sin limitación: ELISA, ELISA tipo sándwich, inmunotransferencia (inmunotransferencia Western), inmunoprecipitación, tecnología de BIACORE y similares, así como ensayos basados en una propiedad de la proteína que incluye, pero sin limitación, actividad enzimática o interacción con otros asociados proteicos. Para inmunoensayos puede utilizarse una clase preferida de ensayos, uno o más anticuerpos anti-progastrina (anti-PG) de la divulgación (policlonales o monoclonales y neutralizantes o no neutralizantes).

Los ensayos preferidos detectan específicamente progastrina en lugar de otros productos génicos de gastrina, incluidos productos de degradación. Los ensayos tipo sándwich proporcionan dicha especificidad para la detección de progastrina en lugar de otros subproductos génicos de gastrina, proporcionando de esta forma una medida más exacta de niveles de progastrina en suero. Los anticuerpos de inmunoensayo preferidos unen a antígeno/epítipo que comprende una región terminal única a progastrina. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la progastrina se detecta utilizando un ELISA tipo sándwich con un anticuerpo anti-PG dirigido al extremo N-terminal de progastrina y un segundo anticuerpo anti-PG dirigido al extremo C de progastrina. Los anticuerpos ejemplares se abordan más adelante en la sección 6.4, y se divulga seguidamente una técnica tipo "sándwich" general para la medición de niveles de progastrina utilizando anticuerpos anti-PG.

Se prepara una superficie, tal como los pocillos de una placa de 96 pocillos, a la que se une una cantidad conocida de un primer anticuerpo, de "captura", a progastrina. El anticuerpo de captura puede ser, por ejemplo, un anticuerpo anti-PG que se une al extremo C-terminal o N-terminal de progastrina. Después del bloqueo, se aplica una muestra de ensayo a la superficie, operación seguida de un periodo de incubación. La superficie se lava después para eliminar el antígeno no unido y se aplica una solución que contiene un segundo anticuerpo de "detección" a progastrina. El anticuerpo de detección puede ser cualquiera de los anticuerpos monoclonales anti-PG descritos en el presente documento, siempre que el anticuerpo de detección se una a un epítipo diferente del anticuerpo de captura. Por ejemplo, si el anticuerpo de captura se une a la región peptídica C-terminal de progastrina, entonces un anticuerpo de detección adecuado sería uno que se una a la región peptídica N-terminal de progastrina. Los niveles de progastrina pueden detectarse después o bien directamente (sí, por ejemplo, el anticuerpo de detección está conjugado a una marca detectable) o bien indirectamente (a través de un anticuerpo secundario marcado que se une al anticuerpo anti-PG de detección).

En una realización específica, los niveles de progastrina humana (hPG) se miden a partir de una muestra de ensayo biológica tal como se describe en el ejemplo 1.

Se han generado curvas de características de operación del receptor (ROC) sobre la base de niveles de hPG en plasma determinados mediante ensayo tipo sándwich y estas demuestran que la medición de niveles de hPG proporciona un ensayo diagnósticamente útil para distinguir entre pacientes con una o más patologías hepáticas y pacientes que tienen otros cánceres y/o individuos sanos.

Los anticuerpos ejemplares para los procedimientos basados en anticuerpos de medición de niveles de hPG se divulgan en la sección siguiente.

6.4. Anticuerpos anti-hPG

Un inmunoensayo para medir niveles de hPG puede utilizar uno o más anticuerpos anti-hPG policlonales o monoclonales o un fragmento de unión a antígeno de los mismos.

Pueden utilizarse diversos procedimientos conocidos en la técnica para la producción de anticuerpos policlonales de hPG. En una realización particular, pueden obtenerse anticuerpos policlonales de conejo. Para la producción de anticuerpos pueden inmunizarse diversos animales huéspedes mediante inyección con hPG, incluidos, pero sin limitación, conejos, ratones, ratas, etc. Pueden utilizarse diversos coadyuvantes para aumentar la respuesta inmunológica, dependiendo de las especies huéspedes, que incluyen, pero sin limitación, adyuvante de Freund (completo e incompleto), geles minerales tales como hidróxido de aluminio, sustancias tensioactivas tales como lisolecitina, polioles plurónicos, polianiones, péptidos, emulsiones en aceite, hemocianinas de lapa californiana y dinitrofenoles.

En los procedimientos de la divulgación se utilizan preferentemente anticuerpos monoclonales. Pueden obtenerse anticuerpos monoclonales, que son poblaciones homogéneas de anticuerpos para un antígeno particular mediante cualquier técnica que proporcione la producción de moléculas de anticuerpos por medio de líneas celulares continuas en cultivo. Estas incluyen, pero sin limitación, la técnica de hibridoma de Kohler y Milstein, la técnica de hibridoma de linfocito B y la técnica de hibridoma de EBV. Véase, por ejemplo, Kohler y Milstein (1975) *Nature* 256:495-497; Kozbor *et al.* (1983) *Immunology Today* 4:72; Cole *et al.* (1985) páginas 77-96 en Reisfeld y Sell (1985) *Monoclonal Antibodies and Myeloma Therapy* Liss; Coligan (1991) *Current Protocols in Immunology* Lippincott; Harlow y Lane; *Antibodies: A Laboratory Manual* (1988) CSH Press; y Goding (1986) *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice* (2ª ed.) Academic Press. Dichos anticuerpos pueden ser de cualquier clase de inmunoglobulina que incluye IgG, IgM, IgE, IgA, IgD y cualquier subclase de las mismas.

Recientemente se ha descubierto que, por lo menos para anticuerpos anti-hPG monoclonales, la selección del antígeno utilizado para obtener los anticuerpos anti-hPG puede ser importante (véase la solicitud internacional N° PCT/EP2010/006329, presentada el 15 de octubre de 2010 y la solicitud de Estados Unidos N° 12/906.041, presentada el 15 de octubre de 2010, que se denominan en adelante en el presente documento las solicitudes '329 y '041, respectivamente). Como se divulga en las solicitudes '329 y '041, no todos los antígenos derivados de hPG estimulan la producción de anticuerpos monoclonales que se unen específicamente a hPG en condiciones fisiológicas. De hecho, determinados antígenos que se han utilizado para obtener exitosamente anticuerpos anti-hPG policlonales, tales como hPG recombinante de longitud completa (véase, por ejemplo, el documento WO 08/076454 de Singh) y un péptido correspondiente a los diez últimos aminoácidos del extremo C-terminal de la hPG (véase el documento WO 07/135542 de Hollande *et al.*) no consiguieron generar anticuerpos monoclonales.

En una realización preferida, pueden utilizarse anticuerpos específicos para epítopos C-terminales y N-terminales para detectar y medir niveles de hPG con especificidad, lo que significa que solo se detecta hPG de longitud completa. Como se indica en las solicitudes '329 y '041, se ha identificado que las secuencias N-terminal y C-terminal antigénicas dentro de la secuencia de hPG se pueden utilizar para generar anticuerpos monoclonales que se unen específicamente a hPG. Es interesante destacar que la secuencia antigénica no precisa estar limitada a regiones de la secuencia de hPG que son únicas para ella. Los antígenos peptídicos que tienen regiones de secuencia en común con otros productos del gen de la gastrina, por ejemplo G₁₇, G₃₄ y CTFP, proporcionan anticuerpos monoclonales que no solo se unen a la hPG, sino que se unen a la misma específicamente.

Los anticuerpos anti-hPG que pueden obtenerse utilizando un antígeno peptídico que tiene una secuencia correspondiente a una región N-terminal de hPG y/o que se une a una región N-terminal de hPG se denominan en el presente documento "anticuerpos anti-PG N-terminales". Una región antigénica ejemplar de hPG que puede utilizarse para construir un inmunógeno adecuado para obtener anticuerpos tanto policlonales como monoclonales específicos para hPG corresponde a los residuos 1 a 14 de hPG: SWKPRSQQPDAPLG (SEC ID NO:25). En la Tabla 3A, a continuación, y la sección de Ejemplos, se proporcionan inmunógenos ejemplares útiles para obtener anticuerpos anti-hPG N-terminales, así como secuencias CDR y VH y VL de anticuerpos monoclonales anti-hPG N-terminales, obtenidos con estos inmunógenos ejemplares:

Tabla 3A: Anticuerpos monoclonales anti-PG N-terminales			
Inmunógeno	Hibridoma (Nº de depósito)	MAB	Secuencias CDR murinas
N1	43B9G11	MAb1	
N1	WE5H2G7	MAB2	
N2	6B5B11C10	MAB3	VH CDR 1.3 GYFTSYW (SEC ID NO:1)
			VH CDR 2.3 FYPGNSDS (SEC ID NO:2)
			VH CDR 3.3 TRRDSPPQY (SEC ID NO:3)
N2	20D2C3G2	MAB4	VL CDR 1.3 QSVHSGNNTY (SEC ID NO:4)
			VL CDR 2.3 KVS (SEC ID NO:5)
			VL CDR 3.3 FQGSHPVPT (SEC ID NO:6)
N2	1E9A4A4 (I-4376)	MAB15	VH CDR 1.4 GYTFSSW (SEC ID NO:7)
			VH CDR 2.4 FLPGSGST (SEC ID NO:8)
			VH CDR 3.4 ATDGNVDWFAY (SEC ID NO:9)
N2	1E9D9B6	MAB16	VL CDR 1.4 QSLVHSSGVTY (SEC ID NO:10)
			VL CDR 2.4 KVS (SEC ID NO:5)
			VL CDR 3.4 SQSTHVPT (SEC ID NO:11)
N2	1C8D10F5	MAB17	VH CDR 1.16 GYTFTSY (SEC ID NO:39)
			VH CDR 2.16 INPSNGGT (SEC ID NO:43)
N2	1A7C3F11	MAB18	VH CDR 3.16 TRGGYYPFDY (SEC ID NO:47)
			VL CDR 1.16 QSLDSDGKTY (SEC ID NO:50)
			VL CDR 2.16 LVS (SEC ID NO:53)
N2	1B3B4F11	MAB19	VL CDR 3.16 WQGTSPYT (SEC ID NO:57)
			VH CDR 1.19 GYSITSDYA (SEC ID NO:40)
			VH CDR 2.19 ISFSGYT (SEC ID NO:44)
N2	1C11F5E8	MAB20	VH CDR 3.19 GVGDAIKGQSVFV (SEC ID NO:58)
			VH CDR 1.19 GYSITSDYA (SEC ID NO:40)
			VH CDR 2.19 ISFSGYT (SEC ID NO:44)

Secuencias mVH y mVL

Secuencias hVH y hVL (proyectadas)

hVH.3 (SEC ID NO:21)

hVL.3 (SEC ID NO:22)

hVH.4 (SEC ID NO:23)

hVL.4 (SEC ID NO:24)

hVH.16a (SEC ID NO:84)

hVH.16b (SEC ID NO:86)

hVH.16c (SEC ID NO:88)

hVL.16a (SEC ID NO:85)

hVL.16b (SEC ID NO:87)

hVL.16c (SEC ID NO:89)

hVH.19a (SEC ID NO:90)

hVH.19b (SEC ID NO:92)

hVH.19c (SEC ID NO:94)

hVL.19a (SEC ID NO:91)

hVL.19b (SEC ID NO:93)

hVL.19c (SEC ID NO:95)

Inmunógeno N1 = SWKPRSQPDAPLG-Ahx-Cys-BSA, también representado como (SEC ID NO:25)-Ahx-Cys-BSA

Inmunógeno N2 = SWKPRSQPDAPLG-Ahx-Cys-KLH, también representado como (SEC ID NO:25)-Ahx-Cys-KLH

En la tabla 3A, todas las secuencias de aminoácidos se representan utilizando orientación N→C convencional. Para cada inmunógeno, el péptido progastrina se sintetizó con un enlazador C-terminal de un residuo de ácido aminohexanoico (Ahx) seguido de un residuo de cisteína (Cys), que se conjugó después o bien a un vehículo de seroalbúmina bovina ("BSA") o bien de hemocianina de lapa californiana ("KLH") por medio de un residuo enlazador de Cys.

5 Los anticuerpos anti-hPG que pueden obtenerse utilizando un antígeno peptídico que tiene una secuencia correspondiente a una región C-terminal de hPG y/o que se une a una región C-terminal de hPG se denominan en el presente documento "anticuerpos anti-PG C-terminales". Una región antigénica ejemplar específica que puede utilizarse para construir un inmunógeno útil para obtener anticuerpos anti-hPG C-terminales tanto policlonales como monoclonales corresponde a los residuos 55 a 80 de hPG: QGPWLEEEEEAYGWMDFGRRSAEDEN (SEC ID NO:27). En la Tabla 3B, a continuación, y la sección de Ejemplos, se proporcionan inmunógenos ejemplares útiles para obtener anticuerpos anti-hPG C-terminales, así como secuencias CDR y VH y VL de anticuerpos monoclonales anti-hPG C-terminales, obtenidos con estos inmunógenos ejemplares:

Tabla 3B: Anticuerpos monoclonales anti-PGh C-terminales

Inmunógeno	Hibridoma (Nº de depósito)	MAb	Secuencias CDR murinas	Secuencias mVH y mVL	Secuencias hVH y hVL (proyectadas)
C1	1B4A11D11 (I-4371)	MAb5			
C1	1B6A11F2 (I-4372)	MAb6			
C1	1B11E4B11 (I-4373)	MAb7			
C1	1C10D3B9	MAb8	VH CDR 1.8 GFTFTTYA	(SEC ID NO:37)	hVH.8a (SEC ID NO:75)
			VH CDR 2.8 ISSGGTYT	(SEC ID NO:41)	hVH.8b (SEC ID NO:77)
			VH CDR 3.8 ATQGNYSLDF	(SEC ID NO:45)	hVH.8c (SEC ID NO:79)
			VL CDR 1.8 KSLRHTKGITF	(SEC ID NO:49)	hVL.8a (SEC ID NO:76)
			VL CDR 2.8 QMS	(SEC ID NO:52)	hVL.8b (SEC ID NO:78)
			VL CDR 3.8 AQNLELPLT	(SEC ID NO:55)	hVL.8c (SEC ID NO:76)
C1	1D8F5B3	MAb9			
C1	1E1C7B4	MAb10			
C1	2B4C8C8 (I-4374)	MAb11			
C1	2B11E6G4 (I-4375)	MAb12			
C1	2C6C3C7	MAb13	VH CDR 1.13 GFIFSSYG	(SEC ID NO:38)	hVH.1 (SEC ID NO:80)
			VH CDR 2.13 INTFGDRT	(SEC ID NO:42)	hVH.13b (SEC ID NO:82)
			VH CDR 3.13 ARGTGTY	(SEC ID NO:46)	
			VL CDR 1.13 QSLDSDGKTY	(SEC ID NO:50)	hVL.13a (SEC ID NO:81)
			VL CDR 2.13 LVS	(SEC ID NO:53)	hVL.13b (SEC ID NO:83)
			VL CDR 3.13 WQGTHTFPQT	(SEC ID NO:56)	
C1	2H9F4B7	MAb14			
C2	1F11F5E10	MAb21			
C2	1F11F5G9	MAb22			
C2	1A11F2C9	MAb23			
Inmunógeno C1 = KLH-Cys-Ahx-Ahx-QGPWLEEEEEAYGWMDFGRRSAEDEN, también representado como KLH-Cys-Ahx-Ahx-(SEC ID NO:27) Inmunógeno C2 = DT-Cys-Ahx-Ahx-QGPWLEEEEEAYGWMDFGRRSAEDEN, también representado como DT-Cys-Ahx-Ahx-(SEC ID NO:27)					

En la tabla 3B, todas las secuencias de aminoácidos se representan utilizando orientación N→C convencional. Para cada inmunógeno, el péptido progastrina se sintetizó con un enlazador Ahx-Ahx-Cys N-terminal, que se conjugó después o bien con un vehículo de hemocianina de lapa californiana ("KLH") o bien de una toxina de difteria ("DT") por medio de un residuo enlazador de Cys.

Los epítopes específicos unidos por los anticuerpos monoclonales anti-hPG ejemplares MAb1-MAb23 proporcionados en las tablas 4A y 4B se mapearon utilizando la técnica SPOT y barrido de alanina, tal como se describe por Laune *et al.* (2002) *J. Immunol. Methods* 267:53-70 y Laune (1997) *J. Biol. Chem.* 272:30937-30944, respectivamente (véase también el ejemplo 6 de la solicitud '329).

5 En la técnica SPOT, secuencias peptídicas de 15 aminoácidos que abarcan un epítipo putativo se generan y se disponen en una membrana de nitrocelulosa que se sondea después con el anticuerpo de ensayo para determinar la secuencia de epítipo mínima reconocida por el anticuerpo. El barrido de alanina se utiliza para determinar residuos dentro de un epítipo que son críticos para la unión al anticuerpo. Cada residuo dentro de un
10 epítipo putativo se muta, uno a uno, a una alanina, y los péptidos que contienen alanina se verifican después con el anticuerpo de ensayo.

Para anticuerpos monoclonales anti-hPG N-terminales MAb N° 1-4 y 15-20, los epítipes comprenden por lo menos las secuencias siguientes: DAPLG (SEC ID NO:28), PDAPLG (SEC ID NO:29), PRSQQPD (SEC ID
15 NO:30), WKPRSQQPD (SEC ID NO:31) o WKPRSQQPDAPLG (SEC ID NO:32), tal como se muestra en la tabla 4A, a continuación.

Tabla 4A		
MAb N°	Antígeno de péptido PG: SWKPRSQQPDAPLG	SEC ID NO:
MAb2	WKPRSQQPDAPLG	32
MAb4	WKPRSQQPDAPLG	32
MAb1	PDAPLG	29
MAb3	DAPLG	28
MAb17	WKPRSQQPD	31
MAb18	WKPRSQQPD	31
MAb19	WKPRSQQPD	31
MAb20	WKPRSQQPD	31
MAb15	PRSQQPD	30
MAb16	PRSQQPD	30

Para anticuerpos monoclonales anti-hPG C-terminales MAb N° 5-7, 9-12, 14 y 21-23, los epítipes comprenden por lo menos las secuencias siguientes: FGRR (SEC ID NO:33), MDFGR (SEC ID NO:34), AEDEN (SEC ID
20 NO:35) y GWMDFGRR (SEC ID NO:36), como se muestra en la tabla 4B, a continuación.

Tabla 4B		
MAb N°	Antígeno de péptido PG: QGPWLEEEEEAYGWMDFGRRSAEDEN	SEC ID NO:
MAb14	GWMDFGRR	36
MAb11	MDFGR	34
MAb5	FGRR	33
MAb6	FGRR	33
MAb7	FGRR	33
MAb9	FGRR	33
MAb10	FGRR . . E	33
MAb12	FGRR	33
MAb23	AEDEN	35

Los experimentos de mapeo del epítipo revelan que MAb2 y MAb4 anti-hPG se unen al mismo epítipo; MAb1 y MAb3 anti-hPG se unen aproximadamente al mismo epítipo; MAb17, MAb18, MAb19 y MAb20 se unen aproximadamente al mismo epítipo; MAb15 y MAb16 se unen aproximadamente al mismo epítipo; MAb5, MAb6, MAb7, MAb9 y MAb12 anti-hPG se unen aproximadamente al mismo epítipo y se unen aproximadamente al mismo epítipo que MAb10 anti-hPG; y MAb11 y MAb14 anti-hPG se unen aproximadamente al mismo epítipo.

30 Realizaciones específicas de anticuerpos anti-PG N-terminales útiles en los procedimientos y kits descritos en el presente documento incluyen anticuerpos que se unen a un epítipo que incluye residuos 10 a 14 de hPG (SEC ID NO:28), residuos 9 a 14 de hPG (SEC ID NO:29), residuos 4 a 10 de hPG (SEC ID NO:30), residuos 2 a 10 de hPG (SEC ID NO:31) o residuos 2 a 14 de hPG (SEC ID NO:32).

35 Realizaciones específicas de anticuerpos anti-PG C-terminales útiles en los procedimientos y kits descritos en el presente documento incluyen anticuerpos que se unen a un epítipo que incluye residuos 71 a 74 de hPG (SEC ID NO:33), residuos 69 a 73 de hPG (SEC ID NO:34), residuos 76 a 80 de hPG (SEC ID NO:35) o residuos 67 a 74 de hPG (SEC ID NO:36).

40 Los anticuerpos N-terminales y C-terminales anti-hPG útiles en los procedimientos y kits divulgados en el

presente documento, además de los proporcionados en las tablas 4A y 4B, pueden identificarse en ensayos de unión competitivos con los MAb 1-23 ejemplares, o con otros anticuerpos de referencia que se unen a epítopes N-terminales o C-terminales, tal como se describirá con más detalle en una sección posterior.

5 Varios de los hibridomas útiles para obtener los anticuerpos se depositaron el 6 de octubre de 2010 en la Collection Nationale de Cultures de Microorganismes (CNCM) de acuerdo con el Tratado de Budapest. Los nombres designados de los hibridomas productores de MAb1-23 anti-hPG y los números de registro de depósito de estos hibridomas depositados se proporcionan en las tablas 4A y 4B. Además, para varios de los anticuerpos, se han determinado las secuencias de aminoácidos de sus cadenas pesadas variables (VH), cadenas ligeras variables (VL), regiones determinantes de complementariedad (CDR) de VL y CDR de VH. Estas secuencias de aminoácidos y la nomenclatura abreviada utilizada para referenciarlas a lo largo de la divulgación, se proporcionan también en las tablas 4A y 4B. Brevemente, los dominios variables de cadena pesada y ligera murinos se denominan en el presente documento mVH y mVL seguidos por el número del anticuerpo monoclonal correspondiente, por ejemplo mVH.3 y mVL.3 para las cadenas pesada variable y ligera variable de MAb3 anti-hPG, respectivamente. De forma similar, los dominios variables de cadena pesada y ligera humanos se denominan en el presente documento hVH y hVL seguido por el número del anticuerpo monoclonal correspondiente. Las tres CDR de cadena pesada variable y las tres CDR de cadena ligera variable se denominan VH CDR 1, 2 o 3, y VL CDR 1, 2 o 3, respectivamente, seguida por el número del anticuerpo monoclonal anti-hPG específico. Por ejemplo, VH CDR 1 de MAb3 se denomina VH CDR 1.3 y VL CDR 1 de MAb3 se denomina VL CDR 1.3. VH CDR 2 de MAb3 se denomina VH CDR 2.3 y VL CDR 2 de MAb3 se denomina VL CDR 2.3.

Se espera que las CDR correspondientes y/o cadenas VH y VL de anticuerpos monoclonales anti-hPG que se unen aproximadamente a los mismos epítopes puedan intercambiarse para proporcionar nuevos anticuerpos monoclonales anti-hPG útiles en los procedimientos y los kits descritos en el presente documento. Por ejemplo, como se ha indicado anteriormente, los anticuerpos monoclonales anti-hPG ejemplares MAb5 y MAb6 se unen al mismo epítope. Un anticuerpo monoclonal anti-hPG puede diseñarse de modo que incluya, en su cadena VL, diversas combinaciones de las CDR de VL de estos dos anticuerpos, y/o en su cadena VH diversas combinaciones de las CDR de VH de estos dos anticuerpos. Como ejemplo específico no limitante para ilustrar las diversas combinaciones posibles, dicho anticuerpo podría incluir en su cadena VL, CDR 1 y 2 de MAb5 (VL CDR 1.5 y VL CDR 2.5, respectivamente) y CDR 3 de MAb6 (VL CDR 3.6), y en su cadena VH, CDR 1 de MAb6 (VH CDR 1.6) y CDR 2 y 3 de MAb5 (VH CDR 2.5 y VH CDR 3.5, respectivamente). Las secuencias de aminoácidos de CDR de anticuerpos producidos por hibridomas que se han depositado pueden obtenerse utilizando medios convencionales. Véase, por ejemplo, Coligan (1996) *Current Protocols in Immunology*, Vol. 3, Nueva York: John Wiley and Sons.

Con referencia a la tabla 3A, realizaciones específicas de anticuerpos anti-hPG N-terminales útiles en los procedimientos y kits descritos en el presente documento incluyen, pero sin limitación, los siguientes:

- 40 (a) anticuerpos que tienen CDR de VL que corresponde en secuencia a las CDR de VL de MAb1, MAb2, MAb3, MAb4, MAb15, MAb16, MAb17, MAb18, MAb19 o MAb20, y CDR de VH que corresponde en secuencia a las CDR de VH de MAb1, MAb2, MAb3, MAb4, MAb15, MAb16, MAb17, MAb19, MAb19 o MAb20;
- 45 (b) anticuerpos que tienen CDR de VL y CDR de VH que corresponden en secuencia a las CDR de VL y de VH de MAb1, MAb2, MAb3, MAb4, MAb15, MAb16, MAb17, MAb18, MAb19 o MAb20;
- (c) anticuerpos en los que:
- 50 (i) VL CDR1 se selecciona de entre QSVHSNGNTY ("VL CDR 1.3"; SEC ID NO:4), QSLVHSSGVTY ("VL CDR 1.4"; SEC ID NO:10), QSLLDSDGKTY ("VL CDR 1.16"; SEC ID NO:50) y SQHRITY ("VL CDR 1.19"; SEC ID NO:51);
- 55 (ii) VL CDR2 se selecciona de entre KVS ("VL CDR 2.3" y ("VL CDR 2.4"; SEC ID NO:5), LVS ("VL CDR 2.16"; SEC ID NO:53) y VKKDGS ("VL CDR 2.19"; SEC ID NO:54);
- (iii) VL CDR3 se selecciona de entre FQGSHVPFT ("VL CDR 3.3"; SEC ID NO:6), SQSTHVPPT ("VL CDR 3.4"; SEC ID NO:11), WQGTHSPYT ("VL CDR 3.16"; SEC ID NO:57) y GVGDAIKGQSVFV ("VL CDR 3.19"; SEC ID NO:58);
- 60 (iv) VH CDR1 se selecciona de entre GYIFTSYW ("VH CDR 1.3"; SEC ID NO:1), GYTFSSSW ("VH CDR 1.4"; SEC ID NO:7), GYTFTSY ("VH CDR 1.16"; SEC ID NO:39) y GYSITSDYA ("VH CDR 1.19"; SEC ID NO:40);
- 65 (v) VH CDR2 se selecciona de entre FYPGNSDS ("VH CDR 2.3"; SEC ID NO:2), FLPGSGST ("VH CDR 2.4"; SEC ID NO:8), INPSNGGT ("VH CDR 2.16"; SEC ID NO:43) y ISFSGYT ("VH CDR 2.19"; SEC

ID NO:44); y

(vi) VH CDR3 se selecciona de entre TRRDSPQY ("VH CDR 3.3"; SEC ID NO:3), ATDGNYDWFAY ("VH CDR 3.4" SEC ID NO:9), TRGGYYPFDY ("VH CDR 3.16"; SEC ID NO:47) y AREVNYGDSYHFDY ("VH CDR 3.19"; SEC ID NO:48);

(d) anticuerpos que tienen una VL que corresponde en secuencia a la VL de MAb1, MAb2, MAb3, MAb4, MAb15, MAb16, MAb17, MAb18, MAb19 o MAb20 y una VH que corresponde en secuencia a la VH de MAb1, MAb2, MAb3, MAb4, MAb15, MAb16, MAb17, MAb18, MAb19 or MAb20; y

(e) anticuerpos que tienen una VL y una VH que corresponde en secuencia a la VL y la VH de MAb1, MAb2, MAb3, MAb4, MAb15, MAb16, MAb17, MAb18, MAb19 o MAb20.

Con referencia a la tabla 3B, realizaciones específicas de anticuerpos anti-hPG C-terminales útiles en los procedimientos y kits descritos en el presente documento incluyen, pero sin limitación, los siguientes:

(f) anticuerpos que tienen CDR de VL que corresponden en secuencia a las CDR de VL de MAb5, MAb6, MAb7, MAb8, MAb9, MAb10, MAb11, MAb12, MAb13, MAb14, MAb21, MAb22 o MAb23 y CDR de VH que corresponden en secuencia a las CDR de VH de MAb5, MAb6, MAb7, MAb8, MAb9, MAb10, MAb11, MAb12, MAb13, MAb14, MAb21, MAb22 o MAb23;

(g) anticuerpos que tienen CDR de VL y CDR de VH que corresponden en secuencia a las CDR de VL y de VH de MAb5, MAb6, MAb7, MAb8, MAb9, MAb10, MAb11, MAb12, MAb13, MAb14, MAb21, MAb22 o MAb23;

(h) anticuerpos en los que:

(i) VL CDR1 se selecciona de entre KSLRHTKGITF ("VL CDR 1.8"; SEC ID NO:49) y QSLDSDGKTY ("VL CDR 1.13"; SEC ID NO:50);

(ii) VL CDR2 se selecciona de entre QMS ("VL CDR 2.8"; SEC ID NO:52) y LVS ("VL CDR 2.13"; SEC ID NO:53);

(iii) VL CDR3 se selecciona de entre AQNLELPLT ("VL CDR 3.8"; SEC ID NO:55) y WQGTHFPQT ("VL CDR 3.13"; SEC ID NO:56);

(iv) VH CDR1 se selecciona de entre GFTFTTYA ("VH CDR 1.8"; SEC ID NO:37) y GFIFSSYG ("VH CDR 1.13"; SEC ID NO:38);

(v) VH CDR2 se selecciona de entre ISSGGTYT ("VH CDR 2.8"; SEC ID NO:41) y INTFGDRT ("VH CDR 2.13"; SEC ID NO:42); y

(vi) VH CDR3 se selecciona de entre ATQGNYSLDF ("VH CDR 3.8"; SEC ID NO:45) y ARGTGTY ("VH CDR 3.13"; SEC ID NO:46);

(i) anticuerpos que tienen una VL que corresponde en secuencia a la VL de MAb5, MAb6, MAb7, MAb8, MAb9, MAb10, MAb11, MAb12, MAb13, MAb14, MAb21, MAb22 o MAb23 y una VH que corresponde en secuencia a la VH de MAb5, MAb6, MAb7, MAb8, MAb9, MAb10, MAb11, MAb12, MAb13, MAb14, MAb21, MAb22 o MAb23; y

(j) anticuerpos que tienen una VL y una VH que corresponde en secuencia a la VL y la VH que corresponde en secuencia a la VL y la VH de MAb5, MAb6, MAb7, MAb8, MAb9, MAb10, MAb11, MAb12, MAb13, MAb14, MAb21, MAb22 o MAb23.

Como se indica en las tablas 4A y 4B, se han identificado diversos anticuerpos anti-hPG monoclonales N-terminales y C-terminales. Todos estos anticuerpos son específicos de hPG y todos menos MAb14 muestran actividad neutralizante en células cancerosas colorrectales. Aunque la actividad neutralizante puede ser importante para aplicaciones terapéuticas, no es necesaria para los fines de diagnóstico de la presente divulgación. Así, los anticuerpos tanto no neutralizantes como neutralizantes que se unen específicamente a hPG son útiles para los diversos procedimientos de diagnóstico descritos en el presente documento.

La afinidad de un anticuerpo anti-hPG no es crítica para los procedimientos de diagnóstico de la divulgación, pero los anticuerpos con una afinidad elevada mejoran la sensibilidad en la detección de progastina. Además, los anticuerpos con afinidad elevada son necesarios para aplicaciones terapéuticas. En consecuencia, pueden existir ventajas en la utilización de anticuerpos que muestran afinidades de por lo menos aproximadamente 1 nM; por ejemplo una afinidad de por lo menos aproximadamente 90 nM, 80 nM, 70 nM, 60 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM,

20 nM, 15 nM, 10 nM, 7 nM, 6 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM, 1 nM, 0,1 nM, 0,01 nM, 0,001 nM o incluso superiores.

5 Las afinidades medidas de los anticuerpos monoclonales anti-hPG identificados en las tablas 4A y 4B varían de 10^{-6} a 10^{-12} M, tal como se indica en la tabla 5:

Tabla 5

Anticuerpo monoclonal	Constante de afinidad medida K_D (M)
MAB 1 anti-hPG	2,5 μ M ($2,5 \times 10^{-6}$ M)
MAB 2 anti-hPG	185 nM ($1,85 \times 10^{-7}$ M)
MAB 3 anti-hPG	6,4 nM ($6,4 \times 10^{-9}$ M)
MAB 4 anti-hPG	3,5 nM ($3,5 \times 10^{-9}$ M)
MAB 5 anti-hPG	13 pM ($1,30 \times 10^{-11}$ M)
MAB 6 anti-hPG	0,6 nM ($6,38 \times 10^{-10}$ M)
MAB 7 anti-hPG	58 pM ($5,84 \times 10^{-11}$ M)
MAB 8 anti-hPG	0,1 nM ($1,08 \times 10^{-10}$ M)
MAB 10 anti-hPG	3,6 nM ($3,62 \times 10^{-9}$ M)
MAB 11 anti-hPG	0,3 nM ($3,12 \times 10^{-10}$ M)
MAB 12 anti-hPG	0,4 nM ($4,43 \times 10^{-10}$ M)
MAB 13 anti-hPG	0,6 nM ($6,12 \times 10^{-10}$ M)
MAB 14 anti-hPG	6,8 pM ($6,86 \times 10^{-12}$ M)
MAB 15 anti-hPG	0,2 nM ($2,11 \times 10^{-10}$ M)
MAB 16 anti-hPG	0,2 nM ($2,78 \times 10^{-10}$ M)
MAB 17 anti-hPG	8,3 nM ($8,29 \times 10^{-9}$ M)
MAB 18 anti-hPG	1,2 nM ($1,24 \times 10^{-9}$ M)
MAB 19 anti-hPG	0,7 nM ($7,79 \times 10^{-10}$ M)
MAB 20 anti-hPG	0,2 nM ($2,47 \times 10^{-10}$ M)
MAB 21 anti-hPG	3,9 nM ($3,90 \times 10^{-9}$ M)
MAB 22 anti-hPG	5 nM ($4,94 \times 10^{-9}$ M)
MAB 23 anti-hPG	0,4 μ M ($3,99 \times 10^{-7}$ M)

10 Un anticuerpo monoclonal anti-hPG que tiene una afinidad especialmente adaptada a una aplicación deseada particular puede seleccionarse fácilmente de entre estos, o generarse o diseñarse utilizando los diversos inmunógenos, secuencias de región determinante de la complementariedad (CDR), secuencias de cadena pesada variable (VH) y ligera variable (VL) de anticuerpos anti-hPG descritos en el presente documento. La afinidad de cualquier anticuerpo monoclonal anti-PG particular puede determinarse utilizando técnicas bien conocidas en la técnica o descritas en la presente documento, tales como, por ejemplo, ELISA, calorimetría de valoración isotérmica (ITC), BIAcore o ensayos de polarización fluorescente. Se proporciona un ensayo específico en el ejemplo 5.

20 Como se reconocerá por parte de los expertos, los anticuerpos anti-hPG que tienen propiedades de unión específicas, tales como la capacidad a unirse a un epítipo específico de interés, pueden obtenerse fácilmente utilizando los diversos antígenos e inmunógenos descritos en el presente documento y evaluando su capacidad para competir por la unión a hPG con un anticuerpo de referencia de interés. Puede utilizarse cualquiera de los anticuerpos anti-hPG descritos en el presente documento como anticuerpos de referencia en dicho ensayo de competencia. Un ensayo específico útil para evaluar la capacidad de un anticuerpo para competir por la unión a hPG con un anticuerpo anti-hPG de referencia biotinilado de interés se proporciona en el ejemplo 6.

30 En la realización de un estudio de competencia de anticuerpos entre un anticuerpo anti-hPG de referencia y cualquier anticuerpo de ensayo (independientemente de especies o isotipos), se puede marcar en primer lugar la referencia con una marca detectable bien directamente, tal como, por ejemplo, un radioisótopo o fluoróforo, o indirectamente, tal como, por ejemplo, biotina (detectable por medio de la unión con estreptavidina marcada fluorescentemente) o una enzima (detectable por medio de una reacción enzimática), para permitir la identificación subsiguiente. En este caso, un anticuerpo anti-hPG de referencia marcado (en concentraciones fijas o crecientes) se incuba con una cantidad conocida de hPG, formando un complejo de anticuerpo anti-hPG marcado con hPG. El anticuerpo de ensayo no marcado se añade después al complejo. La intensidad de la marca complejada se mide. Si el anticuerpo de ensayo compite con el anticuerpo anti-hPG de referencia marcado por hPG mediante unión a un epítipo solapante, la intensidad de la marca complejada se reducirá con respecto al experimento de control llevado a cabo en ausencia del anticuerpo de ensayo.

40 Se conocen numerosos procedimientos para llevar a cabo ensayos de competencia de unión y pueden adaptarse para proporcionar resultados comparables al ensayo descrito anteriormente y en el ejemplo 6.

Se considera que un anticuerpo compite por la unión a hPG con un anticuerpo anti-hPG de referencia, y así se

considera que se une aproximadamente al mismo epítoto de hPG, o a uno solapante, que el anticuerpo anti-hPG de referencia, si reduce la unión del anticuerpo anti-hPG de referencia a hPG en un ensayo de unión competitiva, y específicamente el ensayo de unión competitiva del ejemplo 6, en por lo menos el 50%, a una concentración de anticuerpo de ensayo en el intervalo de 0,01 a 100 µg/ml (por ejemplo, 0,01 µg/ml, 0,08 µg/ml, 0,4 µg/ml, 2 µg/ml, 10 µg/ml, 50 µg/ml o 100 µg/ml u otra concentración dentro del intervalo indicado), aunque pueden ser deseables niveles superiores de reducción, por ejemplo del 60%, 70%, 80%, 90% o incluso el 100%.

Como se apreciará por parte de los expertos, los anticuerpos anti-hPG útiles en los procedimientos de diagnóstico pueden tener cualquier origen, incluido, por ejemplo, mamífero (por ejemplo, humano, primate, roedor, cabra o conejo), no mamífero, quimérico en naturaleza (derivado de más de una especie de origen) y/o injertado con CDR (por ejemplo, humanizado).

Los procedimientos para humanizar anticuerpos, incluidos procedimientos para diseñar anticuerpos humanizados, son bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Lefranc *et al.* (2003) *Dev. Comp. Immunol.* 27:55-77; Lefranc *et al.* (2009) *Nucl. Acids Res.* 37:D1006-1012; Lefranc (2008) *Mol. Biotechnol.* 40:101-111; Riechmann *et al.* (1988) *Nature* 332:323-7; documentos de patente de Estados Unidos N° 5.530.101, 5.585.089, 5.693.761, 5.693.762 y 6.180.370 de Queen *et al.*; el documento EP239400; la publicación PCT WO 91/09967; la patente de Estados Unidos N° 5.225.539; documento EP592106; documento EP519596; Padlan (1991) *Mol. Immunol.* 28:489-498; Studnicka *et al.* (1994) *Prot. Eng.* 7:805-814; Roguska *et al.* (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91:969-973; y la patente de Estados Unidos N° 5.565.332.

Las versiones humanizadas de anticuerpos que tienen secuencias de CDR correspondientes a las CDR de anticuerpos anti-hPG no humanos, incluidos a modo de ejemplo y no de limitación los diversos anticuerpos monoclonales anti-hPG N-terminales proporcionados en la tabla 3A y los diversos anticuerpos monoclonales anti-hPG C-terminales proporcionados en la tabla 3B, pueden obtenerse utilizando estos procedimientos bien conocidos. Las secuencias proyectadas para cadenas VL y VH humanizadas de anticuerpos anti-hPG seleccionados se proporcionan en las tablas 3A y 3B. Pueden utilizarse anticuerpos tanto murinos como humanizados para fines de diagnóstico de la divulgación. Los ejemplos específicos de anticuerpos humanizados incluyen anticuerpos que comprenden:

- (a) cualquiera de las tres CDR de VL y cualquiera de las tres CDR de VH divulgadas en el presente documento;
- (b) una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que corresponde a la SEC ID NO:21 y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que corresponde a la SEC ID NO:22;
- (c) una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que corresponde a la SEC ID NO:23 y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que corresponde a la SEC ID NO:24;
- (d) una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en la SEC ID NO:75, 77 y 79 y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en la SEC ID NO:76 y 78;
- (e) una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en la SEC ID NO:80 y 82 y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en la SEC ID NO:81 y 83;
- (f) una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en la SEC ID NO:84, 86 y 88 y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en la SEC ID NO:85, 87 y 89;
- (g) una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en la SEC ID NO:90, 92 y 94 y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en la SEC ID NO:91, 93 y 95;

Los anticuerpos y fragmentos de anticuerpos monoclonales anti-hPG utilizados en los procedimientos de la presente divulgación pueden estar derivados, por ejemplo modificados o conjugados a otras moléculas.

En determinadas realizaciones, los anticuerpos anti-PG o fragmentos de los mismos están conjugados a un agente de diagnóstico. La detección de una hPG unida a un anticuerpo anti-PG puede facilitarse acoplado el

anticuerpo a una sustancia que pueda detectarse directamente o indirectamente. Los ejemplos de sustancias detectables incluyen diversas enzimas, grupos prostéticos, materiales fluorescentes, materiales luminiscentes, materiales bioluminiscentes, materiales radiactivos, metales emisores de positrones que utilizan diversas tomografías de emisión de positrones y iones metálicos paramagnéticos no radiactivos.

5 La sustancia detectable puede acoplarse o conjugarse o bien directamente al anticuerpo (o fragmento del mismo) o bien indirectamente, a través de un intermedio (tal como, por ejemplo, un enlazador conocido en la técnica) utilizando técnicas conocidas en la técnica.

10 Los ejemplos de enzimas adecuadas incluyen peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, beta-galactosidasa o acetilcolinesterasa. Se conocen en la técnica sustratos bioluminiscentes, quimioluminiscentes y/o cromogénicos para estas enzimas. Por ejemplo, cuando la enzima es alcalina fosfatasa, el sustrato puede incluir sustratos quimioluminiscentes tales como AMPPD® (3-(2'-espiroadamantano)-4-metoxi-4-(3"-fosforiloxi)fenil-1,2-dioxetano), CDP-star® (4-cloro-3-(metoxiespiro{1,2-dioxetano-3,2'-(5-cloro)tricyclo[3.3.1.1^{3,7}]decan}-4-il)fenilfosfato de sodio) y CSPD® (3-(4-metoxiespiro{1,2-dioxetano-3,2'-(5'-cloro)tricyclo[3.3.1.1^{3,7}]decan}-4-il)fenilfosfato de sodio); sustratos cromogénicos tales como fosfato de p-nitrofenilo, fosfato de 5-bromo-4-cloro-3-indolilo (BCIP), cloruro de 4-nitroazul de tetrazolio (NBT) y yodo-nitro-tetrazolio (INT) y similares.

20 En la solicitud de patente de Estados Unidos N° 4.741.900 se divulgan ejemplos de iones metálicos que pueden conjugarse con anticuerpos anti-hPG para su uso en los procedimientos de diagnóstico de la divulgación. Los ejemplos de complejos de grupos prostéticos adecuados incluyen estreptavidina/biotina y avidina/biotina. Los ejemplos de materiales fluorescentes adecuados incluyen umbeliferota, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, diclorotriazinilamina-fluoresceína, cloruro de dansilo o ficoeritrina. Un ejemplo de un material luminiscente es el luminol. Los ejemplos de materiales bioluminiscentes incluyen luciferasa, luciferina y acuorina. Los ejemplos de material radiactivo adecuado incluyen ¹²⁵I, ¹³¹I, ¹¹¹In o ⁹⁹Tc.

25 Los procedimientos de anticuerpos de acoplamiento para sustratos detectables son conocidos en la técnica. Se describen técnicas típicas por Kennedy *et al.*, (1976) *Clin. Chim. Acta* 70:1-31); Schurs *et al.* (1977) *Clin. Chim. Acta* 81:1-40; *Antibodies: A Laboratory Manual* Harlow y Lane, eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press (1988) at ch. 9; *Bioconjugate Techniques*, Hermanson, Academic Press (2008).

30 También pueden unirse anticuerpos a soportes sólidos, que son particularmente útiles para inmunoensayos o purificación de hPG. Dichos soportes sólidos incluyen, pero no están limitados a, vidrio, celulosa, poliacrilamida, nailon, poliestireno, poli(cloruro de vinilo) o polipropileno.

35 Aunque los diversos anticuerpos anti-hPG útiles en los procedimientos y kits descritos en el presente documento se han ejemplificado con anticuerpos de longitud completa, los expertos apreciarán que también pueden utilizarse fragmentos de unión, o anticuerpos subrogados diseñados o derivados a partir de anticuerpos de longitud completa o fragmentos de unión. Los fragmentos, subrogados, etc., adecuados incluyen, pero sin limitación, fragmentos Fab', F(ab')₂, Fab, Fv, vlgG, scFv y *surrobodyes*.

6.5. Kits

45 En un aspecto de la divulgación, se proporcionan kits para su utilización en aplicaciones de diagnóstico y de investigación tal como se ha sugerido anteriormente. En algunas realizaciones, se proporciona un kit que comprende anticuerpos anti-hPG y reactivos necesarios para detectar y/o cuantificar hPG en una muestra y este puede incluir reactivos de ensayo y tampones. Adicionalmente los kits pueden incluir materiales de instrucción que contienen instrucciones (por ejemplo protocolos) para la puesta en práctica de procedimientos de diagnóstico. Mientras que los materiales de instrucción comprenden normalmente materiales escritos o impresos, no están limitados a los mismos. Se contempla en la presente invención un medio capaz de almacenar dichas instrucciones y comunicarlas a un usuario final. Dichos medios incluyen, pero sin limitación, medios de almacenamiento electrónicos (por ejemplo, discos magnéticos, cintas, cartuchos, chips), medios ópticos (por ejemplo, CD ROM) y similares. Dichos medios pueden incluir direcciones de sitios de Internet que proporcionan dichos materiales de instrucción.

55 Los kits pueden adaptarse para el diagnóstico o el cribado de pacientes a los que se ha diagnosticado ya una o más afecciones. Por ejemplo, el kit puede contener materiales de instrucción para pacientes a los que se ha diagnosticado hepatitis C, de forma que pueda realizarse un diagnóstico de patologías hepáticas adicionales basado en niveles de hPG. Los materiales también pueden estar dirigidos a pacientes a los que se ha diagnosticado otras afecciones hepáticas tales como cirrosis y/o cáncer de hígado. Los kits también pueden adaptarse para el cribado de poblaciones de alto riesgo, incluidas poblaciones en las que son más prevalentes la hepatitis C u otras patologías hepáticas.

6.6. Procedimientos automáticos y ejecución de los mismos

60 En algunas realizaciones de la divulgación, el procedimiento de diagnóstico o de determinación de un riesgo

indicado de padecer una pluralidad de patologías hepáticas se ejecuta en su totalidad o en parte por una máquina. Por ejemplo, el procedimiento puede ponerse en práctica mediante una unidad de diagnóstico que comprende una entrada para una muestra de sangre. La muestra de sangre se manipula después por la máquina para producir un nivel de progastina. Dicha manipulación puede incluir la unión de progastina en la muestra de sangre con uno o más anticuerpos. La muestra de progastina-anticuerpo puede comprender un marcador detectable. La medición del marcador detectable proporciona unos datos de salida que puede transmitirse a una pantalla. Como alternativa, los datos de salida pueden correlacionarse mediante un ordenador según el nivel de progastina con múltiples patologías hepáticas. En otra realización, los datos de salida puede compararse con un valor umbral de hPG, por ejemplo 400, 450, 500, 550, 600, 650 o 700 pM. Si el nivel de hPG determinado es superior al umbral, se realiza un diagnóstico de múltiples patologías hepáticas.

El ordenador puede comprender, además, una base de datos de información estadística o experimental. La información puede utilizarse para correlacionar el nivel de progastina cuantificado y datos adicionales que pueden introducirse por un usuario para proporcionar un diagnóstico o una indicación del riesgo de padecer una pluralidad de patologías hepáticas con más detalle y exactitud. La base de datos también puede comprender información tal como un tratamiento recomendado u opciones de diagnóstico adicionales. En consecuencia, los procedimientos de la divulgación pueden ponerse en práctica en forma de un procedimiento de diagnóstico médico informatizado. Los sistemas automáticos de ejemplo útiles para llevar a cabo los diagnósticos de ensayo de la presente divulgación incluyen los descritos en las patentes de Estados Unidos N° 6.063.026, 6.063.340 y 7.381.370.

En general, dichos sistemas automáticos pueden comprender uno o más de los siguientes: unidades de entrada de sangre o muestra, unidades de manipulación de sangre o muestra, unidades de detección de hPG y/o marcadores de hPG, una CPU con almacenamiento para una o más bases de datos, una pantalla y/o unidad de comunicación, o unidades que combinan la funcionalidad de una cualquiera de las unidades previas. Las unidades se han integrado para recibir una muestra, procesar la muestra utilizando reactivos para proporcionar un marcador detectable indicativo de niveles de hPG, detectar el nivel del marcador, correlacionar el nivel del marcador con un nivel de hPG y proporcionar una salida de la información, es decir, el nivel de hPG determinado y opcionalmente un diagnóstico basado en el nivel de hPG determinado. Las unidades también pueden integrarse con una CPU y bases de datos para proporcionar información adicional tal como un diagnóstico de cáncer de hígado, hepatitis C, cirrosis o una combinación de los mismos sobre la base del nivel de hPG determinado e información adicional opcional proporcionada por el ensayo automático o introducida por un usuario. En algunos aspectos, las unidades pueden integrarse con procedimientos no automáticos. Por ejemplo, un procedimiento parcialmente automatizado puede comprender unidades para recibir y manipular una muestra. La muestra manipulada puede remitirse después para su análisis por medio de un procedimiento no automatizado.

7. Ejemplos

40 Ejemplo 1: Cuantificación de progastina en plasma

Se recubren placas de microvaloración de 96 pocillos con entre 0,5 y 10 µg/ml de un anticuerpo anti-hPG C-terminal, por ejemplo un anticuerpo policlonal anti-hPG C-terminal de conejo, y después se incuban durante toda la noche. Las placas se lavan después tres veces en PBS-Tween (0,05%) y se bloquean con leche secada no grasa al 2% (p/v) en PBS-Tween (0,05%). Por separado, se preparan muestras de ensayo, muestras de control (muestras en blanco o negativas a PG en suero o plasma), y entre aproximadamente 5 pM ($0,5 \times 10^{-11}$ M) y aproximadamente 0,1 nM (1×10^{-10} M) de un patrón de referencia de hPG (hPG liofilizado diluido en plasma o suero negativo a PG) en un diluyente apropiado (por ejemplo, PBS-Tween al 0,05%). Las muestras se incuban en las placas recubiertas entre 2 y 4 horas a 37 °C, o como alternativa entre 12 y 16 horas a 21 °C. Después de la incubación, las placas se lavan tres veces con PBS-Tween (0,05%) y se incuban con entre 0,001 y 0,1 µg/ml de un anticuerpo monoclonal anti-hPG N-terminal tal como se describe en el presente documento, se acoplan a peroxidasa de rábano picante (HRP) (Nakane *et al.*, 1974, *J. Histochem. Cytochem.* 22(12):1084-1091) durante 30 minutos a 21 °C. Las placas se lavan después tres veces en PBS-Tween (0,05%) y se añade sustrato HRP durante 15 minutos a 21 °C. La reacción se detiene mediante la adición de 100 µl de ácido sulfúrico 0,5 M y se lleva a cabo una medición óptica a 405 nm. Los niveles de hPG en la muestra se determinan mediante comparación con una curva estándar construida a partir de las mediciones derivadas a partir del patrón de referencia de hPG.

Se conocen otros ensayos de competencia, que pueden adaptarse para proporcionar resultados comparables al ensayo descrito anteriormente.

Ejemplo 2: Identificación de un riesgo incrementado de padecer, o un diagnóstico de, una o más patologías hepáticas, en un paciente

Un paciente del que se sospecha que padece una patología hepática, o un paciente que se está sometiendo a cribado, por ejemplo un cribado realizado como parte de un examen físico rutinario, proporciona una muestra

biológica tal como plasma, suero o sangre. Los niveles de progastrina se cuantifican, por ejemplo, como se muestra en el ejemplo 1, para producir un valor numérico que corresponde a una concentración de progastrina en la muestra de sangre. En los procedimientos de la divulgación, el valor numérico se encuentra generalmente entre el 1% y el 5% (o menos) del valor numérico de progastrina verdadero, dado que se utilizan ensayos
 5 específicos para progastrina y no sus precursores o productos. Este valor numérico se compara después con un listado de patologías hepáticas asociado con niveles de progastrina dentro de un intervalo definido. En otras palabras, se comparan niveles de progastrina indicativos de determinadas patologías hepáticas con el valor numérico cuantificado. Determinados subintervalos pueden indicar niveles diferentes de riesgo. Por ejemplo, un nivel bajo pero elevado de progastrina puede indicar un riesgo moderado de padecer una o más patologías,
 10 mientras que un nivel alto de progastrina puede indicar un riesgo alto de padecer una o más patologías. El nivel puede compararse con un valor umbral, produciendo de esta forma un resultado de ensayo positivo o negativo. Opcionalmente, puede analizarse un segundo biomarcador para confirmar un diagnóstico o una indicación. Por ejemplo, de un paciente que presenta un riesgo moderado de padecer una patología hepática, pero no un riesgo alto, puede analizarse un segundo biomarcador. Si el segundo biomarcador también indica la misma patología
 15 hepática, entonces es más probable que sea exacto un diagnóstico de esta patología. Los medios para determinar niveles de progastrina pueden proporcionarse en un kit. El kit también puede proporcionar datos estadísticos o de otro tipo que correlacionan niveles de progastrina con una o más patologías, en particular patologías hepáticas, y opcionalmente complementados mediante uno o más biomarcadores adicionales.

Los pacientes a los que se ha diagnosticado ya una patología hepática también pueden someterse a un análisis de hPG. Por ejemplo, a un paciente al que se ha diagnosticado cáncer de hígado puede someterse a análisis de hPG para determinar si el paciente también padece patologías hepáticas adicionales tales como hepatitis C y cirrosis. Debido a que los niveles de hepatitis C no son normalmente elevados excepto en el caso en el que el paciente presenta múltiples patologías hepáticas, por ejemplo cáncer de hígado, cirrosis y hepatitis C, la
 20 progastrina es un biomarcador útil para el diagnóstico de hepatitis C en dichos pacientes. Asimismo, los pacientes a los que se ha diagnosticado ya hepatitis C o cirrosis pueden cribarse para determinar patologías adicionales evaluando si los niveles de hPG son anormales.

Los niveles de hPG pueden utilizarse en algunos casos para confirmar un diagnóstico. Por ejemplo, un paciente que presenta resultados de análisis anormales para uno o más biomarcadores indicativos de cáncer de hígado u otra patología hepática, puede cribarse para determinar niveles anormalmente altos de hPG para confirmar el diagnóstico inicial. Los niveles de hPG pueden cuantificarse en poblaciones en riesgo como parte de un programa de cribado rutinario. Por ejemplo, debido a que niveles muy altos de hPG se correlacionan con
 30 múltiples patologías hepáticas y debido a que los pacientes que presentan hepatitis C normalmente presentan también por lo menos otra patología hepática, las poblaciones con altos niveles de hepatitis C son candidatos probables para el cribado por hPG. Los niveles de hPG también pueden utilizarse para realizar un seguimiento del transcurso del tratamiento de una o más patologías hepáticas. Niveles decrecientes de hPG se correlacionarían con un tratamiento eficaz.

Ejemplo 3: Kits, unidades, ensayos y técnicas de diagnóstico para el diagnóstico de una o más patologías hepáticas.

Pueden utilizarse artículos que comprenden una o más técnicas de diagnóstico en los procedimientos de diagnóstico descritos en el presente documento. Por ejemplo puede adaptarse una tira secante o cromatográfica al cambio de color después de asociarla a sangre o componentes sanguíneos de un paciente en los que el nivel de progastrina es superior al valor umbral. Como alternativa, el kit puede comprender reactivos para unir un
 45 marcador a progastrina en sangre. Dicho marcador puede ser, por ejemplo, un radioisótopo o un cromóforo. Pueden utilizarse después detección y cuantificación de radiación (inducida por excitación o de otro modo) para generar un resultado de ensayo positivo si la emisión del marcador tiene una intensidad suficiente como para indicar niveles de progastrina superiores al umbral. Los resultados de ensayo pueden adaptarse para indicar intervalos, tales como intervalos de riesgo. Por ejemplo, un kit puede comprender un ensayo adaptado para presentar una primera señal para un intervalo de niveles de progastrina y señales adicionales para otros intervalos de niveles de progastrina.

En un ejemplo particular, una unidad o sistema de diagnóstico comprende una o más cámaras de muestra para la manipulación de una muestra de sangre, o bien por parte de un técnico o bien por un mecanismo automático. La unidad o el sistema comprende además uno o más reactivos, tales como antibióticos que se unen específicamente a progastrina. En una unidad o un sistema para el análisis específico de progastrina, puede realizarse un ensayo tipo sándwich utilizando una pluralidad de anticuerpos proporcionados en la unidad o el
 60 sistema. El sistema o la unidad puede comprender un detector para detectar la cantidad de un marcador utilizado para cuantificar el nivel de progastrina unida. El sistema o la unidad puede comprender adicionalmente un procesador tal como un ordenador programado con instrucciones para correlacionar el nivel de marcador detectado con un nivel de progastrina unida y para correlacionar un nivel de progastrina unida con un diagnóstico. Finalmente, el sistema o la unidad puede comprender una unidad para mostrar o comunicar los resultados de ensayo y/o el diagnóstico. En una unidad alternativa o un sistema alternativo, la unidad comprende un repositorio de muestra de sangre y uno o más reactivos que se unen a progastrina. Por ejemplo, puede
 65

utilizarse una tira de ensayo impregnada o recubierta con reactivos que se pone en contacto con progastina y da como resultado un cambio de color para proporcionar un ensayo de patología hepática de una gota.

Ejemplo 4: Ensayo ELISA para evaluar la especificidad de anticuerpos anti-hPG

La especificidad de anticuerpos anti-hPG puede determinarse convenientemente utilizando un ensayo ELISA de la forma siguiente. Se incuban placas de 96 pocillos durante toda la noche a 4 °C con una concentración o concentraciones apropiadas de polipéptido de ensayo (por ejemplo, 25 y 50 ng de PG humana recombinante y 50 y 250 ng de CTFP u otros productos génicos derivados de gastrina) en solución salina tamponada con sulfatos (PBS), después de lo cual los pocillos se lavan tres veces con solución de lavado (PBS y el 0,1% de Tween-20), y después se incuban durante 2 horas a 22 °C con 100 µl de solución de bloqueo (PBS, 0,1% de Tween-20, 0,1% de seroalbúmina bovina o hidrolizado de caseína) por pocillo. Después del bloqueo, los pocillos se lavan tres veces y se añade el anticuerpo que se va a analizar (anticuerpo de ensayo). Se añaden a cada pocillo 100 µl del anticuerpo de ensayo (a 0,3 a 1 ng/ml) en PBS y el 0,1% de Tween-20. Después las placas se incuban durante 2 horas a 22 °C, después de lo cual la solución de anticuerpo de ensayo se descarta y se reemplaza, después de una etapa de lavado (3 X 100 µl, solución de lavado, como se ha indicado anteriormente), por solución de bloqueo que contiene un anticuerpo secundario, un anticuerpo de IgG (Fc) antirratón de cabra acoplado a peroxidasa de rábano picante. Después de una incubación de 1 hora con anticuerpo secundario, se añaden a cada pocillo 100 µl de solución de sustrato (por ejemplo, Fast OPD o diclorhidrato de O-fenilendiamina, disponible de Sigma-Aldrich Co., preparada según las instrucciones del fabricante) y se incuban en oscuridad durante 20 minutos a 22 °C. La reacción se detiene añadiendo 50 µl de ácido sulfúrico 4 N y la cantidad de sustrato catalizado se determina mediante medición de la densidad óptica (D.O.) a 492 nm. La conversión de sustrato es proporcional a la cantidad de anticuerpo primario (de ensayo) unido al antígeno. Los experimentos se llevan a cabo por duplicado y las mediciones de la DO se representan en función de la concentración de antígeno. Los anticuerpos se clasifican como muy específicos para PG si la D.O. medida se encuentra entre 0,2 y 1,5 para hPG y no existe ninguna señal estadísticamente significativa superior al fondo con CTFP o cualquiera de los otros péptidos derivados de genes de gastrina, siendo el fondo la señal promedio de los pocillos de control que contienen solo PBS.

Ejemplo 5: Ensayo para evaluar la afinidad de un anticuerpo anti-hPG

Las constantes de afinidad de anticuerpos anti-hPG pueden medirse utilizando la técnica de proteón (BioRad), según Nahshol *et al.* (2008) *Analytical Biochemistry* 383:52-60. En síntesis, para anticuerpos anti-PG murinos, se recubre en primer lugar un chip sensor con un anticuerpo de IgG antirratón (50 µg/ml), asegurando que la señal detectada por el chip después de la inyección del anticuerpo cae entre 10.000 y 11.500 unidades de respuesta (UR). El anticuerpo anti-hPG murino de interés (anticuerpo de ensayo) se inyecta después (a una concentración típica de 30 µg/ml). Si el anticuerpo de ensayo se une suficientemente se observará una señal adicional de por lo menos 500 UR. Se obtiene después un desarrollo del transcurso de la unión con respecto al tiempo entre el anticuerpo de ensayo y hPG inyectando concentraciones variables de hPG, por ejemplo 200 nM, 100 nM, 50 nM, 25 nM y 12,5 nM, y detectando el nivel de asociación. Normalmente, hay disponibilidad de una variedad de canales para analizar múltiples anticuerpos en paralelo en un único experimento, lo que posibilita analizar la unión de un anticuerpo de ensayo individual a diferentes concentraciones de hPG en paralelo. A un canal debería inyectarse un anticuerpo monoclonal murino que no sea específico de hPG como control para la unión no específica y a otro canal debería inyectarse tampón de dilución solo como línea base para la señal de fondo. En general, no se detecta ninguna unión en el canal al que se ha inyectado anticuerpo murino no específico. Los anticuerpos que muestran un nivel alto de asociación en este marco, que puede dar como resultado la saturación del anticuerpo monoclonal atrapado por hPG, pueden analizarse frente a concentraciones de hPG más reducidas (50 nM, 25 nM, 12,5 nM, 6,25 nM y 3,125 nM), lo que permite una medición más refinada.

Las constantes de afinidad (K_D) se calculan como la relación entre la constante de disociación (k_d) y la constante de asociación (k_a). Los valores experimentales pueden validarse analizando la similitud estadísticamente relevante entre curvas experimentales basadas en mediciones de unión y perfiles teóricos.

Las constantes de afinidad de anticuerpos anti-hPG no murinos pueden evaluarse en un formato similar utilizando una IgG específica para las especies de origen del anticuerpo de ensayo anti-hPG.

Ejemplo 6: Ensayo para evaluar la unión de competencia con un anticuerpo anti-hPG de referencia

Puede realizarse un ensayo con especificidad para evaluar si un anticuerpo de interés (anticuerpo de ensayo) compite por la unión a hPG con un anticuerpo anti-hPG de referencia biotinilado de la forma siguiente. Se recubren placas de 96 pocillos con un anticuerpo anti-hPG de captura (anticuerpo policlonal o monoclonal que reconoce una región N-terminal o C-terminal de hPG que difiere del epítipo reconocido por el anticuerpo anti-hPG de referencia biotinilado), a una concentración que se elegirá dentro del intervalo de 1-10 µg/ml, durante toda la noche a 4 °C (0,1 a 1 µg/pocillo). Después de bloquear con un tampón de bloqueo (Tween-20 al 0,1%, BSA al 0,1% en PBS) durante 2 h a 22 °C, se añade hPG recombinante a una concentración que varía entre 10 pM y 1 nM (10 y 1000 pg/pocillo) y se incuba durante 2 h a 22 °C. A continuación se añade el anticuerpo anti-

hPG de referencia biotinilado (o una mezcla que contiene el anticuerpo anti-hPG de referencia biotinilado), junto con concentraciones crecientes de anticuerpo de ensayo sin marcar, y se incuba durante 1 h a 22 °C. Después de lavar para eliminar los anticuerpos no unidos, se realiza la detección del anticuerpo anti-hPG de referencia marcado unido incubando la mezcla con 50 ng/ml de esteptavidina-HRP durante 1 h a 22 °C, operación seguida por incubación con un sustrato fluorogénico para la peroxidasa de rábano picante y la cuantificación de las unidades de luz relativas (ULR) en un luminómetro. Los ensayos se realizan por duplicado.

Los anticuerpos que compiten con un anticuerpo anti-hPG de referencia inhiben la unión del anticuerpo de referencia a hPG. Un anticuerpo que se une a sustancialmente el mismo epítotope, o a un epítotope solapado, como el anticuerpo de referencia reduce significativamente (por ejemplo, en por lo menos el 50%) la cantidad de anticuerpo anti-hPG de referencia unido, como se evidencia mediante la reducción observada de las ULR.

Se obtiene un valor de control alto a partir de un experimento de control llevado a cabo mediante incubación del anticuerpo de referencia marcado con hPG recombinante sin anticuerpo de ensayo. Un valor de control bajo se obtiene a partir de un experimento de control llevado a cabo mediante incubación del anticuerpo de referencia marcado con hPG recombinante en presencia de concentraciones en exceso del anticuerpo de referencia sin marcar (el anticuerpo de referencia sin marcar compite de esta forma con el anticuerpo marcado por la unión a hPG). La capacidad de los anticuerpos de ensayo para competir con el anticuerpo anti-hPG de referencia se determina después mediante incubación del anticuerpo de referencia marcado con hPG recombinante en presencia de concentraciones crecientes del anticuerpo de ensayo sin marcar.

En el ensayo de análisis, una reducción significativa en las ULR observadas en presencia del anticuerpo de ensayo indica que el anticuepo de ensayo reconoce sustancialmente el mismo epítotope que el anticuerpo anti-hPG de referencia.

La inhibición de unión puede expresarse como una constante de inhibición, o K_i , que se calcula según la fórmula siguiente:

$$K_i = \frac{CI_{50}}{1 + \left[\frac{R_c}{K_d}\right]}$$

en la que " CI_{50} " es la concentración de anticuerpo de ensayo que proporciona un 50% de reducción en la unión del anticuerpo de referencia, R_c es la concentración del anticuerpo anti-hPG y K_d es la constante de disociación del anticuerpo anti-hPG de referencia, una medida de su afinidad por hPG. Los anticuerpos de ensayo útiles que compiten con un anticuerpo anti-hPG de referencia (por ejemplo, uno de los anticuerpos anti-hPG descritos en el presente documento) tendrán normalmente una K_i que varía de 10 pM a 100 nM en las condiciones de ensayo descritas en el presente documento.

Listado de secuencias

<110> Biorealities S.A.S.

<120> PROGASTRINA Y PATOLOGÍAS HEPÁTICAS

<130> N.112750

<150> 61/293,557

<151> 2010-01-08

<160> 106

<170> Patent In version 3.5

<210> 1

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 1

Gly Tyr Ile Phe Thr Ser Tyr Trp
 1 5

<210> 2
 <211> 8
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

10 <400> 2
 Phe Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Ser
 1 5

15 <210> 3
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 3
 Thr Arg Arg Asp Ser Pro Gln Tyr
 1 5

25 <210> 4
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 4
 Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr
 1 5 10

35 <210> 5
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 5
 Lys Val Ser
 1

45 <210> 6
 <211> 9
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

55 <400> 6
 Phe Gln Gly Ser His Val Pro Phe Thr
 1 5

60 <210> 7
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 7
 Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Ser Trp
 5 1 5

<210> 8
 <211> 8
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

15 <400> 8
 Phe Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr
 1 5

<210> 9
 <211> 11
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

25 <400> 9
 Ala Thr Asp Gly Asn Tyr Asp Trp Phe Ala Tyr
 1 5 10

<210> 10
 <211> 11
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

35 <400> 10
 Gln Ser Leu Val His Ser Ser Gly Val Thr Tyr
 1 5 10

<210> 11
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético
 <900> 11
 Ser Gln Ser Thr His Val Pro Pro Thr
 1 5

50 <210> 12
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético
 <900> 12

ES 2 636 663 T3

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

- 5 <210> 13
- <211> 112
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 10 <220>
- <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 13
 Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Leu Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
 85 90 95
 Ser His Val Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

- 15 <210> 14
- <211> 118
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 20 <220>
- <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

ES 2 636 663 T3

<900> 14

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

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

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

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

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

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

Ala Thr Asp Gly Asn Tyr Asp Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

5 Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 15

<211> 112

<212> PRT

10 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

15 <400>15

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 16

<211> 345

20 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético

ES 2 636 663 T3

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(345)

5

<400> 16

gag gtt cag ctc cag cag tct ggg act gtg ctg gca agg cct ggg gct	48
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Thr Val Leu Ala Arg Pro Gly Ala	
1 5 10 15	
tcc gtg aag atg tcc tgc aag gct tct ggc tac atc ttt acc agc tac	96
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Ser Tyr	
20 25 30	
tgg gta cac tgg gtt aaa cag agg cct gga cag ggt cta gaa tgg att	144
Trp Val His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile	
35 40 45	
ggg ggt ttt tat cct gga aat agt gat tct agg tac aac cag aaa ttc	192
Gly Gly Phe Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Ser Arg Tyr Asn Gln Lys Phe	
50 55 60	
aag ggc aag gcc aca ctg act gca gtc aca tcc gcc agt act gcc tac	240
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Val Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr	
65 70 75 80	
atg gac ctc agc agc ctg aca aat gag gac tct gcg gtc tat ttc tgt	288
Met Asp Leu Ser Ser Leu Thr Asn Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys	
85 90 95	
aca aga aga gat agt ccc cag tac tgg ggc caa ggc acc act ctc aca	336
Thr Arg Arg Asp Ser Pro Gln Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr	
100 105 110	
gtc tcc tca	345
Val Ser Ser	
115	

<210> 17
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético

15

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(336)

20

<400> 17

gat gtt ttg atg acc caa act cca ctc tcc ctg cct gtc agt ctt gga	48
Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly	
1 5 10 15	
gat caa gcc tcc atc tct tgc aga tct agt cag aqc att gta cat agt	96
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser	
20 25 30	
aat gga aac acc tat tta gaa tgg tac ctg cag aaa cca ggc cag tct	144
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser	
35 40 45	
cca aag ctc ctg atc tac aaa gtt tcc aac cga ttt tct ggg gtc cca	192
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro	

ES 2 636 663 T3

	50	55	60		
	gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggg aca gat ttc aca ctc aag atc				240
	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile				
	65	70	75	80	
	agc aga ctg gag gct gag gat ctg gga gtt tat tac tgc ttt caa ggt				288
	Ser Arg Leu Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly				
		85	90	95	
	tca cat gtt ccg ttc acg ttc gga ggg ggg acc aag ctg gaa ata aaa				336
	Ser His Val Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys				
		100	105	110	
	<210> 18				
	<211> 354				
5	<212> ADN				
	<213> Secuencia Artificial				
	<220>				
10	<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético				
	<220>				
	<221> CDS				
	<222> (1)..(354)				
15	<400> 18				
	cag gtt cag ttg cag cag tct gga gct gag ctg atg aag cca ggg gcc				48
	Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala				
	1	5	10	15	
	tca gtg aag ata tcc tgc aag gct act ggc tac aca ttc agt agc tcc				96
	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Ser				
		20	25	30	
	tgg ata gag tgg tta aaa cag agg cct gga cat ggc ctt gag tgg att				144
	Trp Ile Glu Trp Leu Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile				
		35	40	45	
	gga gag ttt tta cct gga agt ggt agt aca gac tac aat gag aag ttc				192
	Gly Glu Phe Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Glu Lys Phe				
		50	55	60	
	aag ggc aag gcc aca ttc act gca gac aca tcc tcc gac aca gcc tac				240
	Lys Gly Lys Ala Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asp Thr Ala Tyr				
	65	70	75	80	
	atg cta ctc agc agc ctg aca tct gag gac tct gcc gtc tat tac tgt				288
	Met Leu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys				
		85	90	95	
	gca act gat ggt aat tat gac tgg ttt gct tac tgg ggc caa ggg act				336
	Ala Thr Asp Gly Asn Tyr Asp Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr				
		100	105	110	
	ctg gtc act gtc tct gca				354
	Leu Val Thr Val Ser Ala				
		115			
	<210> 19				
	<211> 336				
20	<212> ADN				
	<213> Secuencia Artificial				
	<220>				
25	<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético				
	<220>				
	<221> CDS				
	<222> (1)..(336)				
30	<400> 19				

ES 2 636 663 T3

	gat ctt gtg atg acc caa act cca ctc tcc ctg cct gtc agt ctt gga	48
	Asp Leu Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly	
	1 5 10 15	
	gat caa gcc tcc atc tct tgc aga tct agt cag agc ctt gta cac agt	96
	Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser	
	20 25 30	
	agt gga gtc acc tat tta cat tgg tac ctg cag aag cca ggc cag tct	144
	Ser Gly Val Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser	
	35 40 45	
	cca aag ctc ctg atc tac aaa gtt tcc aac cga ttt tct ggg gtc cca	192
	Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro	
	50 55 60	
	gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggg aca gat ttc aca ctc aag atc	240
	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile	
	65 70 75 80	
	agc aga gtg gag gct gag gat ctg gga gtt tat ttc tgc tct caa agt	288
	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser	
	85 90 95	
	aca cat gtt cct ccc acg ttc ggc tcg ggg aca aag ttg gaa ata aaa	336
	Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys	
	100 105 110	

5 <210> 20
 <211> 80
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 20

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

10 <210> 21
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 21

ES 2 636 663 T3

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

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

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Thr Arg Arg Asp Ser Pro Gln Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 22
 <211> 112
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 10 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 22
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
 20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

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

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

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

Ser His Val Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

15 <210> 23
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 23

ES 2 636 663 T3

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

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

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

Gly Ile Phe Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Thr Asp Gly Asn Tyr Asp Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 29

<211> 112

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

10

<400> 24

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

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

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

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

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

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

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

15

<210> 25

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20

<400> 25

ES 2 636 663 T3

Ser Trp Lys Pro Arg Ser Gln Gln Pro Asp Ala Pro Leu Gly
 1 5 10

<210> 26
 <211> 16
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (15)..(15)
 <223> Xaa es un residuo modificado de ácido aminohexanoico

15 <400> 26
 Ser Trp Lys Pro Arg Ser Gln Gln Pro Asp Ala Pro Leu Gly Xaa Cys
 1 5 10 15

<210> 27
 <211> 26
 20 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 27
 Gln Gly Pro Trp Leu Glu Glu Glu Glu Glu Ala Tyr Gly Trp Met Asp
 1 5 10 15

Phe Gly Arg Arg Ser Ala Glu Asp Glu Asn
 20 25

25 <210> 28
 <211> 5
 <212> PRT
 30 <213> Homo sapiens

<400> 28
 Asp Ala Pro Leu Gly
 1 5

35 <210> 29
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

40 <400> 29
 Pro Asp Ala Pro Leu Gly
 1 5

<210> 30
 <211> 7
 45 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 30
 Pro Arg Ser Gln Gln Pro Asp
 1 5

50 <210> 31
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

55 <400> 31
 Trp Lys Pro Arg Ser Gln Gln Pro Asp
 1 5

<210> 32
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 32
 Trp Lys Pro Arg Ser Gln Gln Pro Asp Ala Pro Leu Gly
 1 5 10
 <210> 33
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 10
 <400> 33
 Phe Gly Arg Arg
 1
 15
 <210> 34
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 20
 <400> 34
 Met Asp Phe Gly Arg
 1 5
 25
 <210> 35
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30
 <400> 35
 Ala Glu Asp Glu Asn
 1 5
 35
 <210> 36
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40
 <400> 36
 Gly Trp Met Asp Phe Gly Arg Arg
 1 5
 45
 <210> 37
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 50
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético
 55
 <400> 37
 Gly Phe Thr Phe Thr Thr Tyr Ala
 1 5
 60
 <210> 38
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 65
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético
 70
 <400> 38
 Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr Gly
 1 5

<210> 39
 <211> 8
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

 10 <400> 39
 Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr
 1 5

 <210> 40
 <211> 9
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

 20 <400> 40
 Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp Tyr Ala
 1 5

 <210> 41
 <211> 8
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 30 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

 <400> 41
 Ile Ser Ser Gly Gly Thr Tyr Thr
 1 5

 35 <210> 42
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 40 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

 <400> 42
 Ile Asn Thr Phe Gly Asp Arg Thr
 1 5

 45 <210> 43
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 50 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

 <400> 43
 Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr
 1 5

 55 <210> 44
 <211> 7
 <212> PRT
 60 <213> Secuencia Artificial

 <220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 44
 Ile Ser Phe Ser Gly Tyr Thr
 1 5

5

<210> 45
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 45
 Ala Thr Gln Gly Asn Tyr Ser Leu Asp Phe
 1 5 10

15

<210> 46
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

25

<400> 46
 Ala Arg Gly Thr Gly Thr Tyr
 1 5

30

<210> 47
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 47
 Thr Arg Gly Gly Tyr Tyr Pro Phe Asp Tyr
 1 5 10

40

<210> 48
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 48
 Ala Arg Glu Val Asn Tyr Gly Asp Ser Tyr His Phe Asp Tyr
 1 5 10

50

<210> 49
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 49
 Lys Ser Leu Arg His Thr Lys Gly Ile Thr Phe
 1 5 10

60

<210> 50

<211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<900> 50
 Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr
 1 5 10

10 <210> 51
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 51
 Ser Gln His Arg Thr Tyr Thr
 1 5

20 <210> 52
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

30 <400> 52
 Gln Met Ser
 1

<210> 53
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

40 <400> 53
 Leu Val Ser
 1

45 <210> 54
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

50 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 54
 Val Lys Lys Asp Gly Ser His
 1 5

55 <210> 55
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

ES 2 636 663 T3

<400> 55
Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Leu Thr
1 5

5 <210> 56
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
10 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<900> 56
Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Gln Thr
1 5

15 <210> 57
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 57
Trp Gln Gly Thr His Ser Pro Tyr Thr
1 5

25 <210> 58
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 58
Gly Val Gly Asp Ala Ile Lys Gly Gln Ser Val Phe Val
1 5 10

35 <210> 59
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

45 <400> 59
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

ES 2 636 663 T3

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

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

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

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

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

Ala Thr Gln Gly Asn Tyr Ser Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Ser
 100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
 115

<210> 60
 <211> 114
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

10 <400> 60
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

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

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

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

Ser Ser

15 <210> 61
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

ES 2 636 663 T3

<400> 61

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

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

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

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

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

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

Thr Arg Gly Gly Tyr Tyr Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 62

5 <211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 62

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

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

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

Met Gly Tyr Ile Ser Phe Ser Gly Tyr Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Val Asn Tyr Gly Asp Ser Tyr His Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

15 Gln Gly Thr Ile Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 63

<211> 112

<212> PRT

ES 2 636 663 T3

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

5

<400> 63

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

<210> 64

10

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 69

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

20

<210> 65

<211> 112

<212> PRT

ES 2 636 663 T3

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

5

<400> 65

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

<210> 66

10

<211> 115

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 66

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

20

<210> 67

<211> 351

ES 2 636 663 T3

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 5 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(351)

10

<400> 67

gaa	gtg	cag	ctg	gtg	gag	tct	ggg	gga	ggc	tta	gtg	aag	cct	gga	ggg	48
Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Gly	
1				5				10						15		
tcc	ctg	aaa	ctc	tcc	tgt	gca	gcc	tct	gga	ttc	act	ttc	act	acc	tat	96
Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	Thr	Tyr	
			20					25						30		
gcc	atg	tct	tgg	gtt	cgc	cag	act	ccg	gag	aag	agg	ctg	gag	tgg	gtc	144
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Thr	Pro	Glu	Lys	Arg	Leu	Glu	Trp	Val	
		35				40						45				
gca	acc	att	agt	agt	ggt	ggt	act	tac	acc	tac	tat	cca	gac	agt	gtg	192
Ala	Thr	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Thr	Tyr	Thr	Tyr	Tyr	Pro	Asp	Ser	Val	
	50						55									
aag	ggt	cga	ttc	acc	atc	tcc	aga	gac	aat	gcc	aag	aac	gcc	cta	tac	240
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ala	Leu	Tyr	
65					70					75				80		
ctg	caa	atg	agc	agt	ctg	agg	tct	gag	gac	acg	gcc	atg	tat	tac	tgt	288
Leu	Gln	Met	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	
				85					90					95		
gca	aca	cag	ggg	aat	tac	tct	ttg	gac	ttc	tgg	ggc	caa	ggc	acc	tct	336
Ala	Thr	Gln	Gly	Asn	Tyr	Ser	Leu	Asp	Phe	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	
			100					105					110			
ctc	aca	gtc	tcc	tca												351
Leu	Thr	Val	Ser	Ser												
			115													

15

<210> 68
 <211> 342
 <212> AND
 <213> Secuencia Artificial

20

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético

25

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(342)

<400> 68

ES 2 636 663 T3

gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ttg gtg cag cct gga ggg	48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
1 5 10 15	
tcc ctg aaa ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc att ttc agt agc tat	96
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr	
20 25 30	
ggc atg tct tgg gtt cgc cag tct cca gac agg agg ctg gag ttg gtc	144
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ser Pro Asp Arg Arg Leu Glu Leu Val	
35 40 45	
gca agt att aat act ttt ggt gat aga acc tat tat cca gac agt gtg	192
Ala Ser Ile Asn Thr Phe Gly Asp Arg Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val	
50 55 60	
aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac acc ctg tac	240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr	
65 70 75 80	
ctg caa atg acc agt ctg aag tct gag gac aca gcc att tat tac tgt	288
Leu Gln Met Thr Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys	
85 90 95	
gca aga ggg acc gga acc tac tgg ggc caa gcc acc act ctc aca gtc	336
Ala Arg Gly Thr Gly Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val	
100 105 110	
tcc tca	342
Ser Ser	

<210> 69
 <211> 351
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético

10 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(351)

cag gtc caa ctg cag cag tct ggg gct gaa ctg gtg aag cct ggg gct	48
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala	
1 5 10 15	
tca gtg aag ttg tcc tgc aag gct tct ggc tac acc ttc acc agc tac	96
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr	
20 25 30	
tat atg tac tgg gtg aag cag agg cct gga caa gcc ctt gag tgg att	144
Tyr Met Tyr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile	
35 40 45	
gga gag att aat cct agc aat ggt ggt act aac ttc aat gag aag ttc	192
Gly Glu Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe	
50 55 60	
aag agc aag gcc aca ctg act gta gac aaa tcc tcc agc aca gca tac	240
Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr	
65 70 75 80	
atg caa ctc agc agc ctg aca tct gag gac tct gcg gtc tat tac tgt	288
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys	
85 90 95	
aca aga ggc ggt tac tac ccc ttt gac tac tgg ggc caa gcc acc act	336
Thr Arg Gly Gly Tyr Tyr Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr	
100 105 110	
ctc aca gtc tcc tca	351
Leu Thr Val Ser Ser	
115	

ES 2 636 663 T3

<210> 70
 <211> 363
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético

10 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(363)

<400> 70

	gat	gtg	cag	ctt	cag	gag	tcg	gga	cct	ggc	ctg	gtg	aaa	cct	tct	cag	48
	Asp	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Gln	
	1			5					10					15			
15	tct	ctg	tcc	ctc	aca	tgc	act	gtc	act	ggc	tac	tca	atc	acc	agt	gat	96
	Ser	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Thr	Gly	Tyr	Ser	Ile	Thr	Ser	Asp	
				20					25					30			
	tat	gcc	tgg	aat	tgg	atc	cgg	cag	ttt	cca	gga	aac	aaa	ctg	gag	tgg	144
	Tyr	Ala	Trp	Asn	Trp	Ile	Arg	Gln	Phe	Pro	Gly	Asn	Lys	Leu	Glu	Trp	
			35					40					45				
	atg	ggc	tac	ata	agc	ttc	agt	ggg	tac	act	agt	tac	aac	cca	tct	ctc	192
	Met	Gly	Tyr	Ile	Ser	Phe	Ser	Gly	Tyr	Thr	Ser	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu	
		50					55					60					
	aaa	agt	cga	atc	tct	gtc	act	cgg	gac	aca	tcc	agg	aac	caa	ttc	ttc	240
	Lys	Ser	Arg	Ile	Ser	Val	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Arg	Asn	Gln	Phe	Phe	
	65				70					75					80		
	ctc	cag	ttg	act	tct	gtg	act	act	gag	gac	aca	gcc	aca	tat	tac	tgt	288
	Leu	Gln	Leu	Thr	Ser	Val	Thr	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	
					85					90					95		
	gca	aga	gag	gtc	aac	tat	ggg	gac	tcc	tac	cac	ttt	gac	tac	tgg	ggc	336
	Ala	Arg	Glu	Val	Asn	Tyr	Gly	Asp	Ser	Tyr	His	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	
				100					105					110			
	caa	ggc	acc	att	gtc	aca	gtc	tcc	tca								363
	Gln	Gly	Thr	Ile	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
			115						120								

20 <210> 71
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 25 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(336)

30 <400> 71

ES 2 636 663 T3

gac att gtg atg acg cag gct gca tcc tct aat cca gtc act ctt gga	48
Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Ser Ser Asn Pro Val Thr Leu Gly	
1 5 10 15	
aca tcc gct tcc atc tcc tgc agg tct agt aag agt ctc cga cat act	96
Thr Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Arg His Thr	
20 25 30	
aaa ggc atc act ttt ttg tat tgg tat ctg cag aag cca ggc cag tct	144
Lys Gly Ile Thr Phe Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser	
35 40 45	
cct cag ctc ctg att tat cag atg tcc aac ctt gcc tca gga gtc cca	192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro	
50 55 60	
gac agg ttc agt agc agt ggg tca gga act gat ttc aca ctg aga atc	240
Asp Arg Phe Ser Ser Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile	
65 70 75 80	
agc aga gtg gag gct gag gat ttg ggt gtt tat tac tgt gct caa aat	288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn	
85 90 95	
cta gaa ctt ccg ctc acg ttc ggt gct ggg acc aag ctg gag ctg aaa	336
Leu Glu Leu Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys	

100 105 110

5 <210> 72
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético

<220>
 <221> CDS

15 <222> (1)..(336)

<400> 72	
gat gtt gtg ctg acc cag act cca ctc act ttg tgc gtt acc att gga	48
Asp Val Val Leu Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly	
1 5 10 15	
caa cca gcc tcc atc tcc tgc aag tca agt cag agc ctc tta gat agt	96
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser	
20 25 30	
gat gga aag aca tat ttg aat tgg ttg tta cag agg cca ggc cag tct	144
Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser	
35 40 45	
cca aag cgc cta atc tat ctg gtg tct aaa ctg gac tct gga gtc cct	192
Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro	
50 55 60	
gac agg ttc act ggc agt gga tca ggg aca gat ttc aca ctg aaa atc	240
Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile	
65 70 75 80	
agc aga gtg gag gct gag gat ttg gga gtt tat tat tgc tgg caa ggt	288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly	
85 90 95	
aca cat ttt cct cag acg ttc ggt gga ggc acc aag ctg gaa atc aaa	336
Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys	
100 105 110	

20 <210> 73
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético

5

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(336)

<400>73

gat gtl gtg atg acc cag act cca ctc act ttg tcg gtl acc att ggg 48
 Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly
 1 5 10 15

10

cgc cca gcc tcc atc tct tgc aag tca agt cag agc ctc tta gac agt 96
 Arg Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

gat gga aag aca tat ttg tat tgg ttg tta cag agg cca ggc cag tct 144
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

cca aag cgc cta atc tat ctg gtg tct gag ctg gac tct gga gtc cct 192
 Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Glu Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

gac agg atc act ggc agt ggg tcg ggg aca gat ttc aca ctg aag atc 240
 Asp Arg Ile Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

agc aga gtg gag gct gag gat ttg gga gtt tat tat tgc tgg caa gga 288
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95

aca cat tct ccg tac acg ttc gga ggg ggg acc aag ctg gaa ata aaa 336
 Thr His Ser Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

15

<210> 74

<211> 345

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

20

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(345)

25

<400> 74

ES 2 636 663 T3

```

caa ctt gcg ctc act cag tca tct tca gcc tct ttc tcc ctg gga gcc      48
Gln Leu Ala Leu Thr Gln Ser Ser Ser Ala Ser Phe Ser Leu Gly Ala
1          5          10          15

tca gca aaa cta acg tgc act ttg agt agt caa cac aga acg tac acc      96
Ser Ala Lys Leu Thr Cys Thr Leu Ser Ser Gln His Arg Thr Tyr Thr
20          25          30

att gaa tgg tat cag caa cag tca ctc aag cct cct aag tat gtg atg     144
Ile Glu Trp Tyr Gln Gln Gln Ser Leu Lys Pro Pro Lys Tyr Val Met
35          40          45

gag gtt aag aaa gat gga agc cac agc aca ggt cat ggg att cct gat     192
Glu Val Lys Lys Asp Gly Ser His Ser Thr Gly His Gly Ile Pro Asp
50          55          60

cgc ttc tct gga tcc agt tct ggt gct gat cgc tac ctc agc att tcc     240
Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Ala Asp Arg Tyr Leu Ser Ile Ser
65          70          75          80

aac atc cag cct gaa gat gaa gca ata tac atc tgt ggt gtg ggt gat     288
Asn Ile Gln Pro Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Ile Cys Gly Val Gly Asp
85          90          95

gca att aag gga caa tct gtg ttt gtt ttc ggc ggt ggc acc aag gtc     336
Ala Ile Lys Gly Gln Ser Val Phe Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
100          105          110

act gtc cta      345
Thr Val Leu

```

115

5 <210> 75
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

```

<400> 75
Glu Val Gln Leu Val Glu 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 Thr Thr Tyr
20          25          30

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

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

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

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

Ala Thr Gln Gly Asn Tyr Ser Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100          105          110

Val Thr Val Ser Ser
115

```

15 <210> 76

ES 2 636 663 T3

<211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 76

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

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

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

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

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

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

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

<210> 77
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 77

Glu Val Gln Leu Val Glu 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 Thr Thr Tyr
 20 25 30

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

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

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

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

Ala Thr Gln Gly Asn Tyr Ser Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

ES 2 636 663 T3

<210> 78

<211> 112

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

10 <400> 78

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

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

15 <210> 79

<211> 117

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

20 <220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 79

ES 2 636 663 T3

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

5 <210> 80
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

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

15 <210> 81
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

ES 2 636 663 T3

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 81

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

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

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

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

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

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

Thr His Phe Pro Gln Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 82

10 <211> 114

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 82

Glu 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 Ile Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

Ser Ser

20 <210> 83

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

25 <220>

ES 2 636 663 T3

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 83

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

<210> 84

<211> 117

10 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

15

<400> 84

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

<210> 85

<211> 112

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

ES 2 636 663 T3

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 85

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

5

<210> 86

<211> 117

<212> PRT

10 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

15 <400> 86

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

20

<210> 87

<211> 112

<212> PRT

ES 2 636 663 T3

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

5

<400> 87

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

<210> 88

10

<211> 117

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 88

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

20

<210> 89

ES 2 636 663 T3

<211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 89
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Glu Arg Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95
 Thr His Ser Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

10 <210> 90
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 90
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
 20 25 30
 Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45
 Ile Gly Tyr Ile Ser Phe Ser Gly Tyr Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60
 Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
 65 70 75 80
 Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Val Asn Tyr Gly Asp Ser Tyr His Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

20

ES 2 636 663 T3

<210> 91
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 91

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

10

<210> 92
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

20

<400> 92

ES 2 636 663 T3

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

<210> 93
 <211> 115
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 10 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 93
 Gln Leu Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ala Ser Ala Ser Leu Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Leu Thr Cys Thr Leu Ser Ser Gln His Arg Thr Tyr Thr
 20 25 30
 Ile Ala Trp His Gln Gln Gln Pro Glu Lys Gly Pro Arg Tyr Leu Met
 35 40 45
 Lys Val Lys Lys Asp Gly Ser His Ser Lys Gly Asp Gly Ile Pro Asp
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Ala Glu Arg Tyr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Val Gly Asp
 85 90 95
 Ala Ile Lys Gly Gln Ser Val Phe Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
 100 105 110
 Glu Ile Lys
 115

15 <210> 94
 <211> 121
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia Artificial

ES 2 636 663 T3

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 94

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

<210> 95

<211> 115

<212> PRT

10 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

15 <400> 95

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

<210> 96

<211> 29
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
 <221> MISC_FEATURE

10 <222> (2)..(3)
 <223> Xaa es un residuo modificado de ácido aminohexanoico
 <400> 96
 Cys Xaa Xaa Gln Gly Pro Trp Leu Glu Glu Glu Glu Ala Tyr Gly
 1 5 10 15

Trp Met Asp Phe Gly Arg Arg Ser Ala Glu Asp Glu Asn
 20 25

15 <210> 97
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
 <221> MISC_FEATURE

25 <222> (2)..(3)
 <223> Xaa es un residuo modificado de ácido aminohexanoico

<400> 97
 Cys Xaa Xaa Phe Gly Arg Arg Ser Ala Glu Asp Glu Asn
 1 5 10

30 <210> 98
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
 <221> MISC_FEATURE

40 <222> (11)..(12)
 <223> Xaa es un residuo modificado de ácido aminohexanoico

<400> 98
 Phe Gly Arg Arg Ser Ala Glu Asp Glu Asn Xaa Xaa Cys
 1 5 10

45 <210> 99
 <211> 15
 <212> PRT

50 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético

55 <400> 99
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 100
 <211> 101
 <212> PRT

60

ES 2 636 663 T3

<213> Homo sapiens

<400> 100

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

5

<210> 101

<211> 80

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 101

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

15

<210> 102

<211> 34

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<900> 102

Gln Leu Gly Pro Gln Gly Pro Pro His Leu Val Ala Asp Pro Ser Lys
 1 5 10 15
 Lys Gln Gly Pro Trp Leu Glu Glu Glu Glu Glu Ala Tyr Gly Trp Met
 20 25 30

20

Asp Phe

<210> 103

<211> 35

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

25

ES 2 636 663 T3

<400> 103

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

Lys Gln Gly Pro Trp Leu Glu Glu Glu Glu Glu Ala Tyr Gly Trp Met
20 25 30

Asp Phe Gly
35

5 <210> 104
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10 <400> 104
Gln Gly Pro Trp Leu Glu Glu Glu Glu Glu Ala Tyr Gly Trp Met Asp
1 5 10 15

Phe

15 <210> 105
<211> 18
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 105
Gln Gly Pro Trp Leu Glu Glu Glu Glu Glu Ala Tyr Gly Trp Met Asp
1 5 10 15

Phe Gly

20 <210> 106
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

25 <400> 106
Ser Ala Glu Asp Glu Asn
1 5

30

REIVINDICACIONES

- 5 1. Procedimiento para diagnosticar si un paciente presenta múltiples patologías hepáticas, en el que una primera patología hepática ha sido diagnosticada en un paciente, que comprende la etapa de determinación del nivel de progastrina humana (hPG) en una muestra de plasma o suero de dicho paciente, en el que un nivel umbral de progastrina de por lo menos 400 pM indica que dicho paciente probablemente padece por lo menos una patología hepática adicional.
- 10 2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que dicha primera patología hepática se selecciona de entre el grupo que consiste en: cáncer de hígado, cirrosis y hepatitis C.
- 15 3. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2, en el que dichas múltiples patologías hepáticas se seleccionan de entre el grupo que consiste en:
- cáncer de hígado y cirrosis,
 - cáncer de hígado y hepatitis C.
 - cáncer de hígado, cirrosis y hepatitis C.
- 20 4. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la etapa de determinación del nivel de hPG se lleva a cabo mediante un anticuerpo que se une específicamente a hPG.
- 25 5. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el nivel umbral de progastrina es de por lo menos 500 pM.
- 30 6. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicho paciente pertenece a una población con una incidencia superior a la media de hepatitis C o dicho paciente reside en una región geográfica con una incidencia superior a la media de hepatitis C o dicho paciente tiene una afección de dependencia de drogas o alcohol.
- 35 7. Procedimiento de diagnóstico según la reivindicación 1, que comprende adicionalmente las etapas siguientes:
- a. identificar un paciente con una concentración de hPG en plasma o en suero de por lo menos 400 pM,
 - b. someter a análisis a dicho paciente para determinar por lo menos dos de las afecciones siguientes:
 - 40 i. cáncer de hígado, utilizando una técnica de radiografía o de diagnóstico por la imagen;
 - ii. virus de la hepatitis C, utilizando un ensayo basado en ácidos nucleicos; y
 - iii. cirrosis hepática, analizando una muestra de sangre de dicho paciente para determinar uno o más marcadores de fibrosis en suero,
- diagnosticando de esta forma si el paciente padece múltiples patologías hepáticas.
- 45 8. Procedimiento para determinar el riesgo de un paciente de padecer una pluralidad de afecciones hepáticas, que comprende:
- a. determinar mediante un ensayo bioquímico los niveles de hPG en suero o plasma de un paciente; y
 - 50 b. sobre la base de (a), asignar al paciente un riesgo relativo de padecer una o más patologías hepáticas, en las que:
 - 55 i. un nivel de hPG inferior a 100 pM indica que el paciente tiene un “riesgo bajo” de padecer una o más patologías hepáticas;
 - ii. un nivel de hPG comprendido entre 100 pM y 400 pM indica que un paciente tiene un “riesgo alto” de padecer cirrosis con o sin cáncer de hígado, y un “riesgo elevado” de padecer también hepatitis C, y
 - 60 iii. un nivel de hPG superior a 400 pM indica que un paciente tiene un riesgo grave de padecer cáncer de hígado, cirrosis y hepatitis C;
 - c. en el que dicho paciente se somete a análisis opcionalmente utilizando otros medios de diagnóstico para confirmar que dicho paciente no tiene cáncer de hígado si dicho paciente tiene unos niveles de hPG inferiores a 100 pM; y
- 65 en el que dicho paciente se somete a análisis opcionalmente de forma adicional utilizando otros medios de

ES 2 636 663 T3

diagnóstico para detectar cáncer de hígado y/o hepatitis C si dicho paciente tiene unos niveles de hPG comprendidos entre 100 pM y 400 pM.

FIG. 1

Preprogastrina:
 SEC ID NO:100
 M QRLCVYVLI F ALALAAFSEA SWKPRSQQPD APLGTGANRD LELPWLEQQG
 -21 -11 -1 +1 11 21
 PASHHRRQLG PQGPPHLVAD PSKKQGPWLE EEEEAYGWMD FRRSAEDEN
 31 41 51 61 71

Progastrina:
 SEC ID NO:101
 SWKPRSQQPD APLGTGANRD LELPWLEQQG
 +1 11 21
 PASHHRRQLG PQGPPHLVAD PSKKQGPWLE EEEEAYGWMD FRRSAEDEN
 31 41 51 61 71

G34:
 SEC ID NO:102
 QLG PQGPPHLVAD PSKKQGPWLE EEEEAYGWMD F-NH₂
 41 51 61 71

G34-Gly:
 SEC ID NO:103
 QLG PQGPPHLVAD PSKKQGPWLE EEEEAYGWMD FG
 41 51 61 71

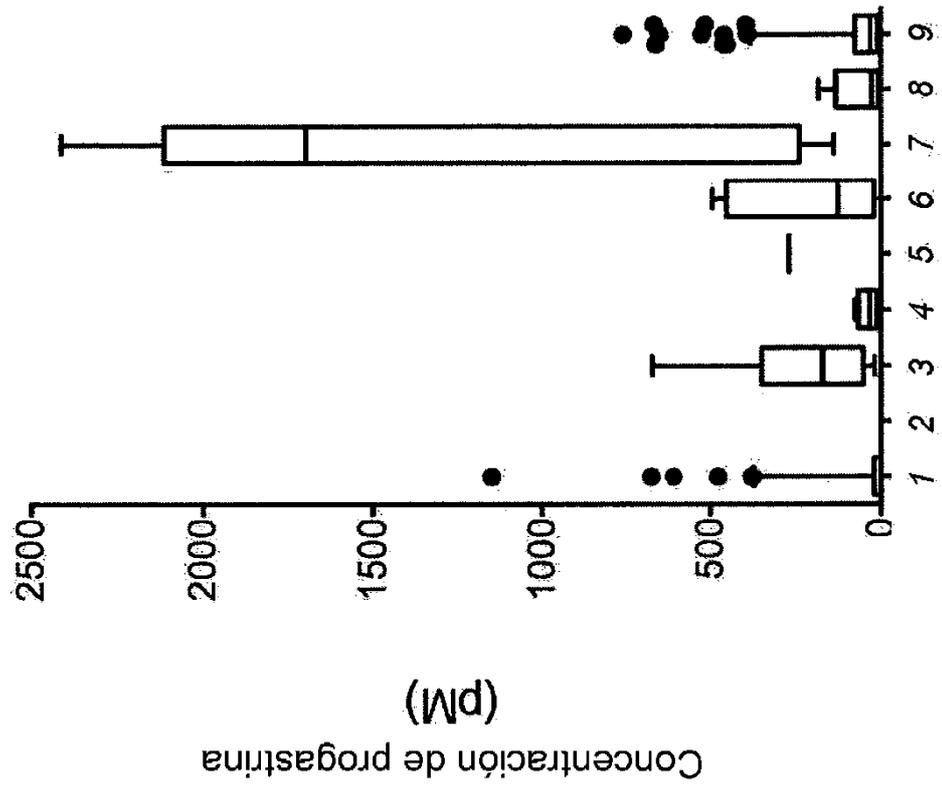
G17:
 SEC ID NO:104
 QGPWLE EEEEAYGWMD F-NH₂
 61 71

G17-Gly:
 SEC ID NO:105
 QGPWLE EEEEAYGWMD FG
 61 71

CTFP:
 SEC ID NO:106
 SAE DEN
 75

FIG. 2

Nivel de progesterona en plasma en pacientes con enfermedades hepáticas



LEYENDA	
1	Controles de banco de sangre
2	VHC (muestra individual a 0 pM)
3	Cirrosis
4	CHC
5	Cirrosis y VHC
6	CHC y cirrosis
7	CHC y cirrosis y VHC
8	Colangiocarcinoma
9	Otros cánceres

FIG. 3A

mV_H MAb3

gag gtt cag ctc cag cag tct ggg act gtg ctg gca agg cct ggg gct	48
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Thr Val Leu Ala Arg Pro Gly Ala	
1 5 10 15	
tcc gtg aag atg tcc tgc aag gct tct ggc tac atc ttt acc agc tac	96
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser <u>Gly Tyr Ile Phe Thr Ser Tyr</u>	
20 25 30	
tgg gta cac tgg gtt aaa cag agg cct gga cag ggt cta gaa tgg att	144
<u>Trp</u> Val His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile	
35 40 45	
ggt ggt ttt tat cct gga aat agt gat tct agg tac aac cag aaa ttc	192
Gly Gly <u>Phe Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Ser</u> Arg Tyr Asn Gln Lys Phe	
50 55 60	
aag ggc aag gcc aca ctg act gca gtc aca tcc gcc agt act gcc tac	240
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Val Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr	
65 70 75 80	
atg gac ctc agc agc ctg aca aat gag gac tct gcg gtc tat ttc tgt	288
Met Asp Leu Ser Ser Leu Thr Asn Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys	
85 90 95	
aca aga aga gat agt ccc cag tac tgg ggc caa ggc acc act ctc aca	336
<u>Thr Arg Arg Asp Ser Pro Gln Tyr</u> Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr	
100 105 110	
gtc tcc tca	345
Val Ser Ser	
115	

FIG. 3B

mV_L MAb3

gat gtt ttg atg acc caa act cca ctc tcc ctg cct gtc agt ctt gga	48
Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly	
1 5 10 15	
gat caa gcc tcc atc tct tgc aga tct agt cag agc att gta cat agt	96
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser <u>Gln Ser Ile Val His Ser</u>	
20 25 30	
aat gga aac acc tat tta gaa tgg tac ctg cag aaa cca ggc cag tct	144
<u>Asn Gly Asn Thr Tyr</u> Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser	
35 40 45	
cca aag ctc ctg atc tac aaa gtt tcc aac cga ttt tct ggg gtc cca	192
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr <u>Lys Val Ser</u> Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro	
50 55 60	
gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggg aca gat ttc aca ctc aag atc	240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile	
65 70 75 80	
agc aga ctg gag gct gag gat ctg gga gtt tat tac tgc ttt caa ggt	288
Ser Arg Leu Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys <u>Phe Gln Gly</u>	
85 90 95	
tca cat gtt ccg ttc acg ttc gga ggg ggg acc aag ctg gaa ata aaa	336
<u>Ser His Val Pro Phe Thr</u> Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys	
100 105 110	

FIG. 3D

mV_L MAb4

gat	ctt	gtg	atg	acc	caa	act	cca	ctc	tcc	ctg	cct	gtc	agt	ctt	gga	48
Asp	Leu	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Ser	Leu	Gly	
1				5					10					15		
gat	caa	gcc	tcc	atc	tct	tgc	aga	tct	agt	cag	agc	ctt	gta	cac	agt	96
Asp	Gln	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	<u>Gln</u>	<u>Ser</u>	<u>Leu</u>	<u>Val</u>	<u>His</u>	<u>Ser</u>	
		20						25					30			
agt	gga	gtc	acc	tat	tta	cat	tgg	tac	ctg	cag	aag	cca	ggc	cag	tct	144
<u>Ser</u>	<u>Gly</u>	<u>Val</u>	<u>Thr</u>	<u>Tyr</u>	Leu	His	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	
		35					40					45				
cca	aag	ctc	ctg	atc	tac	aaa	gtt	tcc	aac	cga	ttt	tct	ggg	gtc	cca	192
Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	<u>Lys</u>	<u>Val</u>	<u>Ser</u>	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro	
	50					55					60					
gac	agg	ttc	agt	ggc	agt	gga	tca	ggg	aca	gat	ttc	aca	ctc	aag	atc	240
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	
65					70					75					80	
agc	aga	gtg	gag	gct	gag	gat	ctg	gga	gtt	tat	ttc	tgc	tct	caa	agt	288
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Val	Tyr	Phe	Cys	<u>Ser</u>	<u>Gln</u>	<u>Ser</u>	
				85					90					95		
aca	cat	gtt	cct	ccc	acg	ttc	ggc	tcg	ggg	aca	aag	ttg	gaa	ata	aaa	336
<u>Thr</u>	<u>His</u>	<u>Val</u>	<u>Pro</u>	<u>Pro</u>	<u>Thr</u>	Phe	Gly	Ser	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	
			100						105						110	

FIG. 3E

mV_H MAb8

```

gaa gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc tta gtg aag cct gga ggg      48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1                               5                               10                               15

tcc ctg aaa ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc act ttc act acc tat      96
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Thr Tyr
                               20                               25                               30

gcc atg tct tgg gtt cgc cag act ccg gag aag agg ctg gag tgg gtc      144
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
                               35                               40                               45

gca acc att agt agt ggt ggt act tac acc tac tat cca gac agt gtg      192
Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Thr Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
                               50                               55                               60

aag ggt cga ttc acc atc tcc aga gac aat gcc aag aac gcc cta tac      240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ala Leu Tyr
65                               70                               75                               80

ctg caa atg agc agt ctg agg tct gag gac acg gcc atg tat tac tgt      288
Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
                               85                               90                               95

gca aca cag ggg aat tac tct ttg gac ttc tgg ggc caa ggc acc tct      336
Ala Thr Gln Gly Asn Tyr Ser Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Ser
                               100                               105                               110

ctc aca gtc tcc tca                                             351
Leu Thr Val Ser Ser
                               115

```

FIG. 3F

mV_L MAb8

gac att gtg atg acg cag gct gca tcc tct aat cca gtc act ctt gga	48
Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Ser Ser Asn Pro Val Thr Leu Gly	
1 5 10 15	
aca tcc gct tcc atc tcc tgc agg tct agt aag agt ctc cga cat act	96
Thr Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser <u>Lys Ser Leu Arg His Thr</u>	
20 25 30	
aaa ggc atc act ttt ttg tat tgg tat ctg cag aag cca ggc cag tct	144
<u>Lys Gly Ile Thr Phe</u> Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser	
35 40 45	
cct cag ctc ctg att tat cag atg tcc aac ctt gcc tca gga gtc cca	192
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr <u>Gln Met Ser</u> Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro	
50 55 60	
gac agg ttc agt agc agt ggg tca gga act gat ttc aca ctg aga atc	240
Asp Arg Phe Ser Ser Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile	
65 70 75 80	
agc aga gtg gag gct gag gat ttg ggt gtt tat tac tgt gct caa aat	288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys <u>Ala Gln Asn</u>	
85 90 95	
cta gaa ctt ccg ctc acg ttc ggt gct ggg acc aag ctg gag ctg aaa	336
<u>Leu Glu Leu Pro Leu Thr</u> Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys	
100 105 110	

FIG. 3G

mV_H MAb13

gag	gtg	cag	ctg	gtg	gag	tct	ggg	gga	ggc	ttg	gtg	cag	cct	gga	ggg	48
Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	
1				5					10					15		
tcc	ctg	aaa	ctc	tcc	tgt	gca	gcc	tct	gga	ttc	att	ttc	agt	agc	tat	96
Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ile	Phe	Ser	Ser	Tyr	
			20					25					30			
ggc	atg	tct	tgg	ggt	cgc	cag	tct	cca	gac	agg	agg	ctg	gag	ttg	gtc	144
Gly	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ser	Pro	Asp	Arg	Arg	Leu	Glu	Leu	Val	
		35					40					45				
gca	agt	att	aat	act	ttt	ggt	gat	aga	acc	tat	tat	cca	gac	agt	gtg	192
Ala	Ser	Ile	Asn	Thr	Phe	Gly	Asp	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Pro	Asp	Ser	Val	
	50					55					60					
aag	ggc	cga	ttc	acc	atc	tcc	aga	gac	aat	gcc	aag	aac	acc	ctg	tac	240
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	
65					70					75					80	
ctg	caa	atg	acc	agt	ctg	aag	tct	gag	gac	aca	gcc	att	tat	tac	tgt	288
Leu	Gln	Met	Thr	Ser	Leu	Lys	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Ile	Tyr	Tyr	Cys	
				85					90					95		
gca	aga	ggg	acc	gga	acc	tac	tgg	ggc	caa	ggc	acc	act	ctc	aca	gtc	336
Ala	Arg	Gly	Thr	Gly	Thr	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Leu	Thr	Val	
			100					105					110			
tcc	tca															342
Ser	Ser															

FIG. 3I

mV_H MAb16

cag gtc caa ctg cag cag tct ggg gct gaa ctg gtg aag cct ggg gct	48
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala	
1 5 10 15	
tca gtg aag ttg tcc tgc aag gct tct ggc tac acc ttc acc agc tac	96
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser <u>Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr</u>	
20 25 30	
tat atg tac tgg gtg aag cag agg cct gga caa ggc ctt gag tgg att	144
<u>Tyr</u> Met Tyr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile	
35 40 45	
gga gag att aat cct agc aat ggt ggt act aac ttc aat gag aag ttc	192
Gly Glu <u>Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr</u> Asn Phe Asn Glu Lys Phe	
50 55 60	
aag agc aag gcc aca ctg act gta gac aaa tcc tcc agc aca gca tac	240
Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr	
65 70 75 80	
atg caa ctc agc agc ctg aca tct gag gac tct gcg gtc tat tac tgt	288
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys	
85 90 95	
aca aga ggc ggt tac tac ccc ttt gac tac tgg ggc caa ggc acc act	336
<u>Thr Arg Gly Gly Tyr Tyr Pro Phe Asp Tyr</u> Trp Gly Gln Gly Thr Thr	
100 105 110	
ctc aca gtc tcc tca	351
Leu Thr Val Ser Ser	
115	

FIG. 3J

mV_L MAb16

gat gtt gtg atg acc cag act cca ctc act ttg tgc gtt acc att ggg	48
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly	
1 5 10 15	
cgc cca gcc tcc atc tct tgc aag tca agt cag agc ctc tta gac agt	96
Arg Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser <u>Gln Ser Leu Leu Asp Ser</u>	
20 25 30	
gat gga aag aca tat ttg tat tgg ttg tta cag agg cca ggc cag tct	144
<u>Asp Gly Lys Thr Tyr</u> Leu Tyr Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser	
35 40 45	
cca aag cgc cta atc tat ctg gtg tct gag ctg gac tct gga gtc cct	192
Pro Lys Arg Leu Ile Tyr <u>Leu Val Ser</u> Glu Leu Asp Ser Gly Val Pro	
50 55 60	
gac agg atc act ggc agt ggg tgc ggg aca gat ttc aca ctg aag atc	240
Asp Arg Ile Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile	
65 70 75 80	
agc aga gtg gag gct gag gat ttg gga gtt tat tat tgc tgg caa gga	288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys <u>Trp Gln Gly</u>	
85 90 95	
aca cat tct ccg tac acg ttc gga ggg ggg acc aag ctg gaa ata aaa	336
<u>Thr His Ser Pro Tyr Thr</u> Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys	
100 105 110	

FIG. 3K

mV_H MAb19

gat	gtg	cag	ctt	cag	gag	tcg	gga	cct	ggc	ctg	gtg	aaa	cct	tct	cag	48
Asp	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Gln	
1				5					10					15		
tct	ctg	tcc	ctc	aca	tgc	act	gtc	act	ggc	tac	tca	atc	acc	agt	gat	96
Ser	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Thr	<u>Gly</u>	<u>Tyr</u>	<u>Ser</u>	<u>Ile</u>	<u>Thr</u>	<u>Ser</u>	<u>Asp</u>	
			20					25					30			
tat	gcc	tgg	aat	tgg	atc	cgg	cag	ttt	cca	gga	aac	aaa	ctg	gag	tgg	144
<u>Tyr</u>	<u>Ala</u>	Trp	Asn	Trp	Ile	Arg	Gln	Phe	Pro	Gly	Asn	Lys	Leu	Glu	Trp	
		35					40					45				
atg	ggc	tac	ata	agc	ttc	agt	ggt	tac	act	agt	tac	aac	cca	tct	ctc	192
Met	Gly	Tyr	<u>Ile</u>	<u>Ser</u>	<u>Phe</u>	<u>Ser</u>	<u>Gly</u>	<u>Tyr</u>	<u>Thr</u>	Ser	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu	
	50					55					60					
aaa	agt	cga	atc	tct	gtc	act	cgg	gac	aca	tcc	agg	aac	caa	ttc	ttc	240
Lys	Ser	Arg	Ile	Ser	Val	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Arg	Asn	Gln	Phe	Phe	
65					70					75					80	
ctc	cag	ttg	act	tct	gtg	act	act	gag	gac	aca	gcc	aca	tat	tac	tgt	288
Leu	Gln	Leu	Thr	Ser	Val	Thr	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	
				85					90					95		
gca	aga	gag	gtc	aac	tat	ggg	gac	tcc	tac	cac	ttt	gac	tac	tgg	ggc	336
<u>Ala</u>	<u>Arg</u>	<u>Glu</u>	<u>Val</u>	<u>Asn</u>	<u>Tyr</u>	<u>Gly</u>	<u>Asp</u>	<u>Ser</u>	<u>Tyr</u>	<u>His</u>	<u>Phe</u>	<u>Asp</u>	<u>Tyr</u>	Trp	Gly	
			100					105					110			
caa	ggc	acc	att	gtc	aca	gtc	tcc	tca								363
Gln	Gly	Thr	Ile	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
		115					120									

FIG. 3L

mV_L MAb19

caa ctt gcg ctc act cag tca tct tca gcc tct ttc tcc ctg gga gcc	48
Gln Leu Ala Leu Thr Gln Ser Ser Ser Ala Ser Phe Ser Leu Gly Ala	
1 5 10 15	
tca gca aaa cta acg tgc act ttg agt agt caa cac aga acg tac acc	96
Ser Ala Lys Leu Thr Cys Thr Leu Ser Ser Gln His Arg Thr Tyr Thr	
20 25 30	
att gaa tgg tat cag caa cag tca ctc aag cct cct aag tat gtg atg	144
Ile Glu Trp Tyr Gln Gln Gln Ser Leu Lys Pro Pro Lys Tyr Val Met	
35 40 45	
gag gtt aag aaa gat gga agc cac agc aca ggt cat ggg att cct gat	192
Glu Val Lys Lys Asp Gly Ser His Ser Thr Gly His Gly Ile Pro Asp	
50 55 60	
cgc ttc tct gga tcc agt tct ggt gct gat cgc tac ctc agc att tcc	240
Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Ala Asp Arg Tyr Leu Ser Ile Ser	
65 70 75 80	
aac atc cag cct gaa gat gaa gca ata tac atc tgt ggt gtg ggt gat	288
Asn Ile Gln Pro Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Ile Cys Gly Val Gly Asp	
85 90 95	
gca att aag gga caa tct gtg ttt gtt ttc ggc ggt ggc acc aag gtc	336
Ala Ile Lys Gly Gln Ser Val Phe Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val	
100 105 110	
act gtc cta	345
Thr Val Leu	
115	

FIG. 4D

hV_L MAb4

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

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

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

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

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

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

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

FIG. 4E

hV_H MAb8(a)

Glu Val Gln Leu Val Glu 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 Thr Thr Tyr
 20 25 30

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

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

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

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

Ala Thr Gln Gly Asn Tyr Ser Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

FIG. 4F

hV_L MAb8(a)

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

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

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

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

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

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

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

FIG. 4H

hV_L MAb8(b)

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

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

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

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

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

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

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

FIG. 4J

hV_L MAb8(c)

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

FIG. 4K

hV_H MAb13(a)

Glu 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 Ile Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

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

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

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

Ser Ser

FIG. 4M

hV_H MAb13(b)

Glu 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 Ile Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

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

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

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

Ser Ser

FIG. 40

hV_H MAb16(a)

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

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

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

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

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

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

Thr Arg Gly Gly Tyr Tyr Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

FIG. 4P

hV_L MAb16(a)

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

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

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

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

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

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

Thr His Ser Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

FIG. 4U

hV_H MAb19(a)

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Val Asn Tyr Gly Asp Ser Tyr His Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

FIG. 4V

hV_L MAb19(a)

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

Ser Val Lys Leu Thr Cys Thr Leu Ser Ser Gln His Arg Thr Tyr Thr
 20 25 30

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

Lys Val Lys Lys Asp Gly Ser His Ser Lys Gly Asp Gly Ile Pro Asp
 50 55 60

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

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

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

Glu Ile Lys
 115

FIG. 4W

hV_H MAb19(b)

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Val Asn Tyr Gly Asp Ser Tyr His Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

*

FIG. 4X

hV_L MAb19(b)

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

Ser Val Lys Leu Thr Cys Thr Leu Ser Ser Gln His Arg Thr Tyr Thr
 20 25 30

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

Lys Val Lys Lys Asp Gly Ser His Ser Lys Gly Asp Gly Ile Pro Asp
 50 55 60

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

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

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

Glu Ile Lys
 115

FIG. 4Y

hV_H MAb19(c)

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Val Asn Tyr Gly Asp Ser Tyr His Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

