

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 650 224**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07K 14/715 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.08.2008 PCT/US2008/073611**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.02.2009 WO09026303**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.08.2008 E 08798203 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.11.2017 EP 2188313**

54 Título: **Proteínas de unión al antígeno C-FMS humano**

30 Prioridad:

21.08.2007 US 957148 P
29.07.2008 US 84588 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.01.2018

73 Titular/es:

AMGEN, INC. (100.0%)
One Amgen Center Drive, Msc 27-4-a
Thousand Oaks, CA 91320-1799, US

72 Inventor/es:

BRASEL, KENNETH, ALLAN;
FOSTER, STEPHEN;
CERRETTI, DOUGLAS, PAT;
SUN, JILIN;
SMOTHERS, JAMES, F. y
MEHLIN, CHRISTOPHER

74 Agente/Representante:

TEMIÑO CENICEROS, Ignacio

ES 2 650 224 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

Proteínas de unión al antígeno C-FMS humano

Antecedentes

5 Muchas líneas celulares tumorales humanas y de ratón secretan la citoquina CSF-1 (factor estimulante de colonias-1, también conocido como factor estimulante de colonias de macrófagos, M-CSF) que a su vez atrae, promueve la supervivencia y activa las células monocíticas/macrófagos a través del receptor c-fms (Cepa Felina McDonough). Los macrófagos asociados a tumores (TAM) (también conocidos como macrófagos infiltrantes de tumores (TIM)) pueden ser el componente principal del estroma tumoral que comprende tanto como 50% de la masa tumoral celular. Kelly et al., 1988, Br. J. Cancer 57: 174-177; Leek y otros, 1994, J. Leukoc. Biol. 56: 423-435. En las valoraciones de tumores humanos primarios, existe una amplia evidencia de la expresión de ARNm de CSF-1. Además, muchos estudios han demostrado que la CSF-1 en suero, el número de TAM o la presencia de tejido CSF-1 y/o c-fms elevados, se asocian con un mal pronóstico para pacientes con cáncer.

15 Los TAM apoyan el crecimiento tumoral, la metástasis y la supervivencia por diversos medios, incluida la actividad mitogénica directa sobre las células tumorales mediante la secreción de PDGF, TNF- β y EGF y metástasis mediante la producción de enzimas que degradan ECM (revisado en Leek and Harris, 2002, J. Mammary Gland Biol and Neoplasia 7: 177-189 y Lewis and Pollard, 2006, Cancer Res 66: 605-612). Otro medio importante de soporte tumoral por TAM es la contribución a la neovascularización de tumores mediante la producción de diversos factores proangiogénicos tales como COX-2, VEGF, FGF, EGF, óxido nítrico, angiopoyetinas y MMP. Dranoff et al., 2004, Nat. Rev. Cancer 4: 11-22; MacMicking et al., 1997, Annu. Rev. Immunol. 15: 323-350; Mantovani et al., 1992, Immunol. Today 13: 265-270. Además, los macrófagos derivados de CSF-1 pueden ser inmunosupresores a través de la producción de diversos factores tales como prostaglandinas, indolamina 2,3 dioxigenasa, óxido nítrico, IL-10 y TGF β . MacMicking et al., 1997, Annu. Rev. Immunol. 15: 323-350; Bronte et al., 2001, J. Immunother. 24: 431-446.

25 La CSF-1 se expresa como una citoquina unida a la membrana y como una citoquina soluble (Cerretti et al., 1988, Mol. Immunol., 25: 761-770; Dobbin et al., 2005, Bioinformatics 21: 2430-2437; Wong et al., 1987, Biochem. Pharmacol. 36: 4325-4329) y regula la supervivencia, proliferación, quimiotaxis y activación de macrófagos y sus precursores (Bourette et al., 2000, Growth Factors 17: 155-166; Cecchini et al., 1994, Development 120: 1357-1372; Hamilton, 1997, J. Leukoc. Biol. 62: 145-155; Hume, 1985, Sci. Prog. 69: 485-494; Sasmono and Hume, in: The innate immune response to infection (eds. Kaufmann, S., Gordon, S. & Medzhitov, R.) 71-94 (ASM Press, Nueva York, 2004); Ross and Auger, in: The macrophage (eds. Burke, B. & Lewis, C.) (Oxford University Press, Oxford, 2002)).

30 El receptor afín, que es el protooncogén c-fms (también conocido como M-CSFR, CSF-1R o CD115), es una glicoproteína de 165 kD con una actividad de tirosina quinasa asociada y pertenece al receptor de clase III familia de tirosina quinasa que incluye PDGFR- α , PDGFR- β , VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, Flt3 y c-kit. Blume-Jensen and Hunter, 2001, Nature 411: 355-365; Schlessinger and Ullrich, 1992, Neuron 9: 383-391; Sherr et al., 1985 Cell 41: 665-676; van der Geer et al., 1994, Annu. Rev. Cell. Biol. 10: 251-337. La forma oncogénica de c-fms, v-fms, que es portada por la cepa McDonough del virus del sarcoma felino se muta para conferir actividad de proteína quinasa activada constitutivamente (Sherr et al., 1985, Cell 41: 665-676; Roussel and Sherr, 2003, Cell Cycle 2: 5-6). La expresión de c-fms en células normales está restringida a células mielomonocíticas (que incluyen monocitos, macrófagos tisulares, células de Kupffer, células de Langerhans, células microgliales y osteoclastos), precursores hematopoyéticos y trofoblastos. Arai et al., 1999, J. Exp. Medicina. 190: 1741-1754; Dai et al., 2002, Blood 99: 111-120; Pixley and Stanley, 2004, Trends Cell Biol. 14: 628-638. La expresión de c-fms también se ha demostrado en algunas células tumorales (Kirma et al., 2007, Cancer Res 67: 1918-1926). Una variedad de estudios *in vitro* y análisis de ratones mutantes demuestran que CSF-1 es un ligando para c-fms (véase, por ejemplo, Bourette and Rohrschneider, 2000, Growth Factors 17: 155-166; Wiktor-Jedrzejczak et al., 1990 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 4828-4832; Yoshida et al., 1990, Nature 345: 442-444; van Wesenbeeck and van Hul, 2005, Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr. 15: 133-162).

45 La adición de c-fms unidos a la membrana, c-fms solubles o un anticuerpo monoclonal anti-c-fms de rata o de ratón a la línea celular leucémica J6-1 (células de las cuales expresa tanto c-fms como CSF-1) inhibe la proliferación celular y la formación de agrupaciones, pero estimula la adherencia de las células a las placas de cultivo (Zheng et al., 2000, Leukemia Research, 24(5): 375-383). La unión de CSF-1 a c-fms induce la autofosforilación del receptor en sitios particulares que resultan en la activación cadena abajo de vías de señalización que incluyen PI3-K/AKT y Ras/Raf/MEK/MAPK y la diferenciación de macrófagos está mediada principalmente por la actividad de MEK persistente (Gosse et al., 2005, Cellular Signaling 17: 1352-1362). Evidencia muy reciente indica que la interleucina-34 (IL-34) es también un ligando para c-fms (Lin, et al., 2008, Science 320: 807-811).

Resumen

55 Se describen en este documento proteínas de unión a antígeno que se unen a las c-fms, que incluyen las c-fms humanas. Se descubrió que las proteínas de unión al antígeno c-fms humanas inhiben, interfieren o modulan al menos una de las respuestas biológicas relacionadas con c-fms y, como tales, son útiles para mejorar los efectos de las enfermedades o desórdenes relacionados con c-fms. La unión de ciertas proteínas de unión a antígenos a c-fms puede, por lo tanto, tener una o más de las siguientes actividades: inhibir, interferir o modular la unión o señalización

de c-fms-CSF-1, inhibiendo c-fms-IL-34 unión o señalización, reduciendo la migración de monocitos en tumores, y/o reduciendo la acumulación de macrófagos asociados a tumores (TAM).

La invención se define en las reivindicaciones.

5 Se describen sistemas de expresión, que incluyen líneas celulares, para la producción de proteínas de unión al antígeno del receptor c-fms y métodos para diagnosticar y tratar enfermedades relacionadas con c-fms humanas.

10 Algunas de las proteínas de unión a antígeno aisladas que se describen comprenden (A) una o más regiones determinantes complementarias de cadena pesada (CDRH) seleccionadas del grupo que consiste en: (i) una CDRH1 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 136-147; (ii) una CDRH2 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 148-164; (iii) una CDRH3 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 165-190; y (iv) una CDRH de (i), (ii) y (iii) que contiene una o más sustituciones, eliminaciones o inserciones de aminoácidos que totalizan colectivamente no más de cuatro aminoácidos; (B) una o más regiones determinantes complementarias de cadena liviana (CDRL) seleccionadas del grupo que consiste en: (i) una CDRL1 seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 191-210; (ii) una CDRL2 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 211-224; (iii) una CDRL3 seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 225-246; y (iv) una CDRL de (i), (ii) y (iii) que contiene una o más sustituciones, eliminaciones o inserciones de aminoácidos que totalizan colectivamente no más de cuatro aminoácidos; o (C) una o más CDRH de cadena pesada de (A) y una o más CDRL de cadena liviana de (B).

En un aspecto, la proteína de unión a antígeno aislada puede comprender al menos una o dos CDRH de la (A) antes mencionada y al menos una o dos CDRL de la (B) antes mencionada. En otro aspecto más, la proteína de unión a antígeno aislada incluye una CDRH1, una CDRH2, una CDRH3, una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3.

20 En ciertas proteínas de unión a antígeno, la CDRH de la (A) antes mencionada se selecciona adicionalmente del grupo que consiste en: (i) una CDRH1 seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 136-147; (ii) una CDRH2 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 148-164; (iii) una CDRH3 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 165-190; y (iv) una CDRH de (i), (ii) y (iii) que contiene una o más sustituciones, eliminaciones o inserciones de aminoácidos de no más de dos aminoácidos; la CDRL de la (B) antes mencionada se selecciona del grupo que consiste en: (i) una CDRL1 seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 191-210; (ii) una CDRL2 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 211-224; (iii) una secuencia de aminoácidos CDRL3 seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 225-246; y (iv) una CDRL de (i), (ii) y (iii) que contiene una o más sustituciones, eliminaciones o inserciones de aminoácidos de no más de dos aminoácidos; o (C) una o más CDRH de cadena pesada de (A) y una o más CDRL de cadena liviana de (B).

30 En otro aspecto más, la proteína de unión a antígeno aislada puede comprender (A) una CDRH seleccionada del grupo que consiste en (i) una CDRH1 seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 136-147; (ii) una CDRH2 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 148-164; y (iii) una CDRH3 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 165-190; (B) una CDRL seleccionada del grupo que consiste en (i) una CDRL1 seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 191-210; (ii) una CDRL2 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 211-224; y (iii) una CDRL3 seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 225-246; o (C) una o más CDRH de cadena pesada de (A) y una o más CDRL de cadena liviana de (B). En una realización, la proteína de unión a antígeno aislada puede incluir (A) una CDRH1 de SEQ ID NOs: 136-147, una CDRH2 de SEQ ID NOs: 148-164, y una CDRH3 de SEQ ID NOs: 165-190, y (B) una CDRL1 de SEQ ID NOs: 191-210, una CDRL2 de SEQ ID NOs: 211-224, y una CDRL3 de SEQ ID NOs: 225-246. En otra realización, la cadena pesada variable (V_H) tiene al menos un 90% de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 70-101, y/o la cadena liviana variable (V_L) tiene al menos 90% de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 102-135. En una realización adicional, el V_H se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 70-101, y/o el V_L se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 102-135.

45 En otro aspecto, se proporciona una proteína de unión a antígeno aislada que se une específicamente a un epítipo que contiene los subdominios c-fms 1-1 similares a 1-2 similares a Ig de c-fms humana.

En otro aspecto más, se proporciona una proteína de unión a antígeno aislada que se une a c-fms que comprende: (A) una o más CDR de cadena pesada (CDRH) seleccionadas del grupo que consiste en (i) una CDRH1 con al menos 80% de identidad de secuencia con las SEQ ID NOs: 136-147; (ii) una CDRH2 con al menos un 80% de identidad de secuencia con las SEQ ID NOs: 148-164; y (iii) una CDRH3 con al menos un 80% de identidad de secuencia con las SEQ ID NOs: 165-190; (B) una o más CDR de cadena liviana (CDRL) seleccionadas del grupo que consiste en: (i) una CDRL1 con al menos un 80% de identidad de secuencia con las SEQ ID NOs: 191-210; (ii) una CDRL2 con al menos un 80% de identidad de secuencia con las SEQ ID NOs: 211-224; y (iii) una CDRL3 con al menos un 80% de identidad de secuencia con las SEQ ID NOs: 225-246; o (C) una o más CDRH de cadena pesada de (A) y una o más CDRL de cadena liviana de (B). En una realización, la proteína de unión a antígeno aislada incluye (A) uno o más CDRH seleccionados del grupo que consiste en: (i) una CDRH1 con al menos un 90% de identidad de secuencia con las SEQ ID NOs: 136-147; (ii) una CDRH2 con al menos un 90% de identidad de secuencia con las SEQ ID NOs: 148-164; y (iii) una CDRH3 con al menos un 90% de identidad de secuencia con las SEQ ID NOs: 165-190; (B) uno o más CDRL seleccionados del grupo que consiste en: (i) una CDRL1 con al menos un 90% de identidad de secuencia con

las SEQ ID NOs: 191-210; (ii) una CDRL2 con al menos un 90% de identidad de secuencia con las SEQ ID NOs: 211-224; y (iii) una CDRL3 con al menos un 90% de identidad de secuencia con las SEQ ID NOs: 225-246; o (C) una o más CDRH de cadena pesada de (A) y una o más CDRL de cadena liviana de (B).

5 Otro aspecto es una proteína de unión a antígeno aislada que se une a c-fms, incluyendo la proteína de unión a antígeno una o una combinación de CDR que tienen las secuencias consenso descritas a continuación. Los grupos A, B y C se refieren a secuencias derivadas de clones filogenéticamente relacionados. En un aspecto, las CDR de los diversos grupos pueden mezclarse y combinarse. En otro aspecto, la proteína de unión a antígeno comprende dos o más CDRH de uno y el mismo grupo A, B o C. En otro aspecto, la proteína de unión a antígeno comprende dos o más CDRL del mismo grupo A, B o C. De nuevo en otro aspecto, la proteína de unión al antígeno comprende al menos dos o tres CDRH, y/o al menos dos o tres CDRL del mismo grupo A, B o C. Las secuencias consenso para los diferentes grupos son las siguientes:

Grupo A: (a) una CDRH1 de la fórmula genérica GYTX₁TSYGIS (SEQ ID NO: 307), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en F y L; (b) una CDRH2 de la fórmula genérica WISAYNGNX₁NYAQKX₂QG (SEQ ID NO: 308), en la que X₁ se selecciona del grupo que consiste en T y P, y X₂ se selecciona del grupo que consiste en L y F; (c) una CDRH3 de la fórmula genérica X₁X₂X₃X₄X₅FGEX₆X₇X₈X₉FDY (SEQ ID NO: 309), donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en E y D, X₂ se selecciona del grupo que consiste en S y Q, X₃ se selecciona del grupo que consiste en G y sin aminoácido, X₄ se selecciona del grupo que consiste en L y sin aminoácido, X₅ se selecciona del grupo que consiste en W y G, X₆ se selecciona del grupo que consiste en V y L, X₇ se selecciona del grupo que consiste en E y sin aminoácido, X₈ se selecciona del grupo que consiste en G y sin aminoácido, y X₉ se selecciona del grupo que consiste en F y L; (d) una CDRL1 de la fórmula genérica KSSX₁GVLX₂SSX₃NKNX₄LA (SEQ ID NO: 310), donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en Q y S, X₂ se selecciona del grupo que consiste en D e Y, X₃ se selecciona del grupo que consiste de N y D, y X₄ se selecciona del grupo que consiste en F e Y; (e) una CDRL2 de la fórmula genérica WASX₁RES (SEQ ID NO: 311), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en N y T; y (f) una CDRL3 de la fórmula genérica QQYYX₁X₂PX₃T (SEQ ID NO: 312), en la que X₁ se selecciona del grupo que consiste en S y T, X₂ se selecciona del grupo que consiste en D y T, y X₃ se selecciona del grupo compuesto por F y P.

Grupo B: (a) una CDRH1 que tiene la fórmula genérica GFTX₁X₂X₃AWMS (SEQ ID NO: 313), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en F y V, X₂ se selecciona del grupo que consiste en S y N, y se X₃ selecciona del grupo que consiste en N y T; (b) una CDRH2 que tiene la fórmula genérica RIKX₁KTDGX₂TX₃DX₄AAPVKG (SEQ ID NO: 314), donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en S y T, X₂ se selecciona del grupo que consiste en G y W, X₃ se selecciona del grupo que consiste en de T y A, y X₄ se selecciona del grupo que consiste en Y y N; (c) una CDRH3 que tiene la fórmula genérica X₁X₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃YYGX₁₄DV (SEQ ID NO: 315), donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en E, D y G, X₂ se selecciona del grupo que consiste en Y, L y sin aminoácido, X₃ se selecciona del grupo que consiste en Y, R, G y sin aminoácido, X₄ se selecciona del grupo que consiste en H, G, S y sin aminoácido, X₅ se selecciona del grupo que consiste en I, A, L y no aminoácido, X₆ se selecciona del grupo que consiste en L, V, T, P y ningún aminoácido, X₇ se selecciona del grupo que consiste en T, V, Y, G, W y ningún aminoácido, X₈ se selecciona del grupo que consiste en G, V, S y T, X₉ se selecciona del grupo que consiste en S, T, D, N y G, X₁₀ se selecciona del grupo que consiste en G, F, P e Y, X₁₁ se selecciona de el grupo que consiste en G, Y y N, X₁₂ se selecciona del grupo que consiste en V e Y, X₁₃ se selecciona del grupo que consiste en W, S e Y, y X₁₄ se selecciona del grupo que consiste en M, T y V; (d) una CDRL1 que tiene la fórmula genérica QASQDIX₁NYLN (SEQ ID NO: 316), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en S y N; (e) una CDRL2 que tiene la fórmula genérica DX₁SNLEX₂ (SEQ ID NO: 317), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en A y T, y X₂ se selecciona del grupo que consiste en T y P; y (f) una CDRL3 que tiene la fórmula genérica QQYDX₁LX₂T (SEQ ID NO: 318), en la que X₁ se selecciona del grupo que consiste en N y D, y X₂ se selecciona del grupo que consiste en L y I.

Grupo C: (a) una CDRH1 que tiene la fórmula genérica GFTFX₁SYGMH (SEQ ID NO: 319), en el que X₁ se selecciona del grupo que consiste en S e I; (b) una CDRH2 que tiene la fórmula genérica VIWYDGSNX₁YYADSVKG (SEQ ID NO: 320), en la que X₁ se selecciona del grupo que consiste en E y K; (c) una CDRH3 que tiene la fórmula genérica SSX₁X₂X₃YX₄MDV (SEQ ID NO: 321), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en G, S y W, X₂ se selecciona del grupo que consiste en N, D y S, se selecciona X₃ del grupo que consiste en Y y F, y X₄ se selecciona del grupo que consiste en D y G; (d) una CDRL1 que tiene la fórmula genérica QASX₁DIX₂NX₃LN (SEQ ID NO: 322), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en Q y H, X₂ se selecciona del grupo que consiste en S y N, y X₃ se selecciona del grupo que consiste en F e Y; (e) una CDRL2 que tiene la fórmula genérica DASNLEX₁ (SEQ ID NO: 323), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en T e I; y (f) una CDRL3 que tiene la fórmula genérica QX₁YDX₂X₃PX₄T (SEQ ID NO: 324), en la que X₁ se selecciona del grupo que consiste en Q y R, X₂ se selecciona del grupo que consiste en N y D, X₃ se selecciona del grupo que consiste en L y F, y X₄ se selecciona del grupo que consiste en F, L e I.

55 En otro aspecto más, la proteína de unión a antígeno aislada descrita anteriormente en esta memoria comprende una primera secuencia de aminoácidos que comprende al menos una CDRH y una segunda secuencia de aminoácidos que comprende al menos una CDRL. En un aspecto, la primera y la segunda secuencia de aminoácidos están unidas covalentemente entre sí. En un aspecto adicional, la primera secuencia de aminoácidos de la proteína de unión a antígeno aislada incluye la CDRH3 de SEQ ID NOs: 165-190, CDRH2 de SEQ ID NOs: 148-164 y CDRH1 de SEQ ID NOs: 136-147, y la segunda secuencia de aminoácidos de la proteína de unión a antígeno aislada comprende la CDRL3 de SEQ ID NOs: 225-246, CDRL2 de SEQ ID NOs: 211-224 y CDRL1 de SEQ ID NOs: 191-210.

5 En un aspecto, las proteínas de unión a antígeno aisladas proporcionadas aquí pueden ser un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal, un anticuerpo recombinante, un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo multiespecífico o un fragmento de anticuerpo del mismo. En otro aspecto, el fragmento de anticuerpo de las proteínas de unión a antígeno aisladas puede ser un fragmento Fab, un fragmento Fab', un fragmento F(ab')₂, un fragmento Fv, un díacuerpo o una molécula de anticuerpo de cadena sencilla. En una realización adicional, la proteína de unión a antígeno aislada es un anticuerpo humano y puede ser de tipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4.

10 En otro aspecto más, la proteína de unión a antígeno aislada puede competir por la unión a la porción extracelular de c-fms humanas con una proteína de unión a antígeno de una de las proteínas de unión a antígeno aisladas proporcionadas. En una realización, la proteína de unión a antígeno aislada puede reducir la quimiotaxis de monocitos, inhibir la migración de monocitos en tumores, inhibir la acumulación de macrófagos asociados a tumores en un tumor o inhibir la acumulación de macrófagos en un tejido enfermo cuando se administra a un paciente.

15 En un aspecto adicional, también se proporcionan moléculas de ácido nucleico aisladas que codifican las proteínas de unión a antígeno que se unen a c-fms. En algunos casos, las moléculas de ácido nucleico aisladas se unen operativamente a una secuencia de control.

En otro aspecto, también se proporcionan vectores de expresión y células huésped transformadas o transfectadas con los vectores de expresión que comprenden las moléculas de ácido nucleico aisladas mencionadas anteriormente que codifican proteínas de unión a antígeno que pueden unirse a c-fms.

20 En otro aspecto, también se proporcionan métodos para preparar las proteínas de unión a antígeno que incluyen la etapa de preparación de la proteína de unión a antígeno de una célula huésped que secreta la proteína de unión a antígeno.

25 En otro aspecto más, se proporciona una composición farmacéutica que comprende al menos una de las proteínas de unión a antígeno mencionadas anteriormente proporcionadas y un excipiente farmacéuticamente aceptable. En un aspecto, la composición farmacéutica puede comprender un agente activo adicional que se selecciona del grupo que consiste en un radioisótopo, un radionúclido, una toxina, o un grupo terapéutico y un grupo quimioterapéutico.

30 Se describe aquí un método para tratar o prevenir una afección asociada con c-fms en un paciente, que comprende administrar a un paciente una cantidad efectiva de al menos una proteína de unión a antígeno aislada. La condición puede ser cáncer que se selecciona del grupo que consiste en cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer colorrectal, adenocarcinoma endometrial, leucemia, linfoma, melanoma, cáncer escamoso esofágico, cáncer gástrico, cáncer astrocítico, cáncer endometrial, cáncer cervical, cáncer de vejiga, cáncer renal, cáncer de vejiga, cáncer de pulmón y cáncer de ovario.

También se describe un método para inhibir la unión de CSF-1 a la porción extracelular de c-fms en un paciente que comprende administrar una cantidad efectiva de al menos una proteína de unión a antígeno proporcionada en la presente.

35 También se describe aquí un método para inhibir la autofosforilación de c-fms humanas en un paciente que comprende administrar una cantidad efectiva de al menos una proteína de unión a antígeno proporcionada en la presente.

También se describe aquí un método para reducir la quimiotaxis de monocitos en un paciente que comprende administrar una cantidad efectiva de al menos una proteína de unión a antígeno.

40 En un aspecto, se describe aquí un método para inhibir la migración de monocitos a tumores en un paciente que comprende administrar una cantidad efectiva de al menos una proteína de unión a antígeno.

En otro aspecto, también se describe aquí un método para inhibir la acumulación de macrófagos asociados a tumores en un tumor en un paciente que comprende administrar una cantidad efectiva de al menos una proteína de unión a antígenos.

45 Estos y otros aspectos se describirán con mayor detalle en este documento. Cada uno de los aspectos proporcionados puede abarcar diversos aspectos proporcionados en este documento. Por lo tanto, se anticipa que cada uno de los aspectos que involucran un elemento o combinaciones de elementos se puede incluir en cada aspecto descrito. Otras características, objetos y ventajas de lo revelado son evidentes en la descripción detallada que sigue.

Breve descripción de los dibujos

50 La Figura 1A muestra una comparación de secuencias de las regiones variables de la cadena pesada proporcionadas en este documento. La Figura 1B muestra una comparación de secuencias de las regiones variables de la cadena liviana proporcionadas en este documento. Las regiones CDR y marco están indicadas.

La Figura 2 muestra el análisis de linaje para 29 hibridomas anti-c-fms. Las secuencias de aminoácidos correspondientes al dominio variable pesado (V_H) o variable (V_L) de todos los hibridomas clonados se alinearon y se compararon entre sí para resolver la diversidad de anticuerpos. Los dendrogramas que representan estas alineaciones

comparativas se muestran en donde la longitud de rama horizontal corresponde al número relativo de sustituciones (diferencias) entre dos secuencias cualesquiera o clados de secuencia (grupos de secuencias estrechamente relacionadas). Se indican las secuencias agrupadas para la determinación de secuencias consenso.

5 La Figura 3 demuestra la inhibición de la proliferación de AML-5 por los diversos sobrenadantes anti-c-fms de hibridoma. La Figura 3A muestra AML-5 Bioassay con hibridoma anti-c-fms sobrenadantes. La Figura 3B muestra el bioensayo de AML-5 con anticuerpos anti-c-fms recombinantes purificados. Las células AML-5 se incubaron con 10 ng/ml de CSF-1 en presencia de concentraciones decrecientes de anticuerpo. Después de 72 horas, se midió la proliferación celular usando Alamar Blue.

10 La Figura 4 muestra un ensayo CynoBM con titulación de anticuerpos c-fms en CSF-1. Se ilustra la inhibición de la proliferación de células de médula ósea de Cynomolgus enriquecida en CSF-1 por los diversos sobrenadantes anti-c-fms de hibridoma. Se incubaron células de médula ósea de Cynomolgus con 10 ng/ml de CSF-1 en presencia de concentraciones decrecientes de anticuerpo. Después de 72 horas, se midió la proliferación celular usando Alamar Blue.

15 La Figura 5 muestra la inhibición de los pTyr-c-fms inducidos por ligando por los mAbs de IgG₂ (PT, formas parentales). Las células 293T/c-fms se privaron de suero durante 1 hora y se trataron con mAb IgG₂, 1.109, 1.2 o 2.360 (PT) y mAb de control anti-c-fms 3-4A4 (sin bloqueo) y anti-h-CD39. M105 (no específico) en series de titulación (1.0 a 0.0001 µg/ml) o a 1.0 µg/ml (controles). Después, las células se estimularon con 50 ng/ml de CSF-1 durante 5 minutos a 37°C. Los lisados celulares completos se inmunoprecipitaron con anti-c-fms C20 como se describe. Las transferencias Western se probaron con anti-pTyr 4G10 (panel superior) o anti-c-fms C20 (panel inferior) para la detección de pTyr/c-fms y c-fms total, respectivamente.

20

La Figura 6 compara la inhibición de pTyr-c-fms inducida por ligando por mAbs IgG₂ (formas PT frente a SM (curado por mutación somática)). Las células 293T/c-fms se privaron de suero durante 1 hora y se trataron con mAb IgG₂, 1.109, 1.2 o 2.360 (tanto PT o SM) como mAbs control anti-c-fms 3-4A4 (sin bloqueo) a 1,0 y 0.1 µg/ml. Después, las células se estimularon con 50 ng/ml de CSF-1 durante 5 minutos a 37°C y los lisados celulares completos se inmunoprecipitaron con anti-c-fms C20 como se describe. Las transferencias Western se probaron con anti-pTyr 4G10 (panel superior) o anti-c-fms C20 (panel inferior) para la detección de pTyr/c-fms y c-fms total, respectivamente.

25

La Figura 7 muestra una transferencia Western de una inmunoprecipitación de c-fms por mAb IgG₂ (formas PT frente a SM). Los lisados de células completas de células 293T/c-fms no estimuladas se inmunoprecipitaron durante la noche a 4°C usando IgG₂ mAb, 1.109, 1.2 o 2.360 (formas PT o SM) y anti-c-fms C20 a 2.5 µg/ml. La transferencia Western fue probada con anti-c-fms C20 y anti-IgG/HRP de conejo.

30

La Figura 8 muestra la secuencia amino (SEQ ID NO: 1) de la región del dominio extracelular de las c-fms humanas.

La Figura 9 muestra transferencias Western de inmunoprecipitación de SNP c-fms. Los constructos de expresión de los SNP de c-fms indicados se construyeron y expresaron transitoriamente en células 293T/c-fms. Los lisados de células enteras no estimuladas se inmunoprecipitaron luego con cada mAb y se controlaron Abs. Las transferencias Western se sondearon con c-fms H300 y anti-IgG/HRP de conejo.

35

La Figura 10 muestra el diagrama del ECD de c-fms humano (dominio extracelular) y constructos truncadas. La etiqueta de avidina se fusiona en el marco en el extremo N de c-fms. Los primeros y últimos cuatro aminoácidos están indicados para cada constructos c-fms.

La Figura 11 demuestra la unión de anticuerpos anti-avidina marcados con FITC, 1.109, 1.2 y 2.360 c-fms contra ECD de c-fms y proteína de fusión de avidina truncada.

40

La Figura 12 muestra la unión de anti-avidina FITC, anticuerpo de control y anticuerpos anti-c-fms (marcados con FITC) a c-fms de longitud completa y proteína de fusión de bucle similar a Ig2 (solo).

La Figura 13 muestra el ensayo de competición con 20x anticuerpos 1.109, 1.2 y 2.360 c-fms no marcados, seguido de una concentración de 1 µg/ml de FITC marcado con 1.109.

45 La Figura 14 muestra el ensayo de competición con 20X anticuerpos no marcados 1.109, 1.2 y 2.360 c-fms, seguido de una concentración de 1 µg/ml de FITC marcado con 1.2.

La Figura 15 muestra el ensayo de competición con 20X anticuerpos no marcados 1.109, 1.2 y 2.360 c-fms, seguido de una concentración de 1 µg/ml de FTTC marcado con 2.360.

La Figura 16 muestra la inhibición del crecimiento del xenoinjerto de adenocarcinoma de mama MDAMB231 por el anticuerpo c-fms antimurino por medio de la medición del volumen tumoral y el porcentaje de necrosis de cada tumor. El porcentaje de necrosis de cada tumor se calculó a partir de estas mediciones y se muestra en la Figura 16

50

La Figura 17 muestra la inhibición del crecimiento de xenoinjertos de adenocarcinoma de pulmón NCIH1975 establecidos. Se muestran las mediciones del tumor y los días de tratamiento, lo que demuestra que un anticuerpo c-fms antimurino puede inhibir el crecimiento de un xenoinjerto de adenocarcinoma de pulmón NCIH1975 establecido.

Descripción detallada

Los encabezados de sección usados en este documento son solo para fines de organización y no deben interpretarse como limitativos del tema descrito.

5 A menos que se defina lo contrario en el presente documento, los términos científicos y técnicos utilizados en conexión con la presente solicitud tendrán los significados que comúnmente comprenden los expertos en la materia. Además, a menos que el contexto requiera lo contrario, los términos singulares incluirán las pluralidades y los términos en plural incluirán el singular.

10 Generalmente, las nomenclaturas usadas en conexión con, y las técnicas de cultivo de células y tejidos, biología molecular, inmunología, microbiología, genética y química de proteínas y ácidos nucleicos e hibridación descritas en este documento son las bien conocidas y usadas comúnmente en la técnica. Los métodos y técnicas de la presente solicitud se realizan generalmente de acuerdo con métodos convencionales bien conocidos en la técnica y como se describe en diversas referencias generales y más específicas que se citan y discuten a lo largo de el presente documento descriptiva, a menos que se indique lo contrario. Véase, por ejemplo, Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3er ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2001), Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates (1992), and Harlow and Lane *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990). Las reacciones enzimáticas y las técnicas de purificación se realizan de acuerdo con las especificaciones del fabricante, como se realiza comúnmente en la técnica o como se describe en el presente documento. La terminología utilizada en relación con, y los procedimientos y técnicas de laboratorio de, química analítica, química orgánica sintética y química médica y farmacéutica descritos en la presente son los bien conocidos y comúnmente utilizados en la técnica. Pueden usarse técnicas estándar para síntesis químicas, análisis químicos, preparación farmacéutica, formulación y administración, y tratamiento de pacientes.

20 La invención se define mediante las reivindicaciones, y se ilustra mediante metodología, protocolos y reactivos relacionados, etc., descritos en este documento. La terminología utilizada en el presente documento solo tiene el propósito de describir realizaciones particulares.

25 Aparte de lo presentado en los ejemplos operativos, o cuando se indique lo contrario, todos los números que expresan cantidades de ingredientes o condiciones de reacción usados en este documento deben entenderse como modificados en todos los casos por el término "aproximadamente". El término "aproximadamente" cuando se usa en relación con porcentajes puede significar $\pm 1\%$.

30 Definiciones

El término "polinucleótido" o "ácido nucleico" incluye tanto polímeros de nucleótidos monocatenarios como bicatenarios. Los nucleótidos que comprenden el polinucleótido pueden ser ribonucleótidos o desoxirribonucleótidos o una forma modificada de cualquier tipo de nucleótido. Dichas modificaciones incluyen modificaciones de bases tales como derivados de bromouridina e inosina, modificaciones de ribosa tales como 2',3'-didesoxirribosa y modificaciones de enlaces internucleotídicos tales como fosforotioato, fosforoditioato, fosforoselenoato, fosforodiselenoato, fosforoanilotoato, fosforanilato y fosforoamidato.

40 El término "oligonucleótido" significa un polinucleótido que comprende 200 o menos nucleótidos. En algunas realizaciones, los oligonucleótidos tienen una longitud de 10 a 60 bases. En otras realizaciones, los oligonucleótidos tienen 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 a 40 nucleótidos de longitud. Los oligonucleótidos pueden ser monocatenarios o bicatenarios, por ejemplo, para usar en la construcción de un gen mutante. Los oligonucleótidos pueden ser oligonucleótidos sentido o antisentido. Un oligonucleótido puede incluir una etiqueta, que incluye un radiomarcador, un marcador fluorescente, un hapteno o un marcador antigénico, para ensayos de detección. Los oligonucleótidos pueden usarse, por ejemplo, como cebadores de PCR, cebadores de clonación o sondas de hibridación.

45 Una "molécula de ácido nucleico aislada" significa un ADN o ARN de origen genómico, ARNm, ADNc o sintético o alguna combinación de los mismos, que no está asociado con todo o una parte de un polinucleótido en el que el polinucleótido aislado se encuentra en la naturaleza, o enlazado a un polinucleótido al que no está enlazado en la naturaleza. Para los fines de esta descripción, debe entenderse que "una molécula de ácido nucleico que comprende" una secuencia de nucleótidos particular no abarca cromosomas intactos. Las moléculas de ácido nucleico aisladas que comprenden secuencias de ácido nucleico especificadas pueden incluir, además de las secuencias especificadas, 50 secuencias codificadoras para hasta diez o incluso hasta otras veinte proteínas o porciones de las mismas, o pueden incluir secuencias reguladoras operativamente ligadas que controlan la expresión del región codificante de las secuencias de ácido nucleico enumeradas, y/o puede incluir secuencias de vector.

55 A menos que se especifique lo contrario, el extremo izquierdo de cualquier secuencia polinucleotídica monocatenaria discutida en este documento es el extremo 5'; la dirección de la izquierda de las secuencias polinucleotídicas bicatenarias se denomina dirección 5'. La dirección de adición de 5' a 3' de transcritos de ARN nacientes se denomina dirección de transcripción; las regiones de secuencia en la cadena de ADN que tienen la misma secuencia que la transcripción de ARN que están en el extremo 5' al 5' del transcrito de ARN se denominan "secuencias corriente arriba"; las regiones de secuencia en la cadena de ADN que tienen la misma secuencia que la transcripción de ARN

que están en el extremo 3' al extremo 3' del transcrito de ARN se denominan "secuencias corriente abajo".

El término "secuencia de control" se refiere a una secuencia de polinucleótidos que puede afectar la expresión y el procesamiento de las secuencias codificadoras a las que está ligada. La naturaleza de tales secuencias de control puede depender del organismo huésped. En realizaciones particulares, las secuencias de control para procariontes pueden incluir un promotor, un sitio de unión ribosómico y una secuencia de terminación de la transcripción. Por ejemplo, las secuencias de control para eucariotas pueden incluir promotores que comprenden uno o una pluralidad de sitios de reconocimiento para factores de transcripción, secuencias potenciadoras de la transcripción y secuencia de terminación de la transcripción. Las "secuencias de control" pueden incluir secuencias líder y/o secuencias de asociados de fusión.

El término "vector" significa cualquier molécula o entidad (por ejemplo, ácido nucleico, plásmido, bacteriófago o virus) utilizada para transferir información de codificación de proteínas a una célula huésped.

El término "vector de expresión" o "construcción de expresión" se refiere a un vector que es adecuado para la transformación de una célula huésped y contiene secuencias de ácido nucleico que dirigen y/o controlan (en conjunción con la célula huésped) la expresión de uno o más regiones codificadoras heterólogas unidas operativamente a ellas. Una construcción de expresión puede incluir, pero no se limita a, secuencias que afectan o controlan la transcripción, traducción, y, si hay intrones presentes, afectan el empalme de ARN de una región de codificación operativamente unida a la misma.

Tal como se usa en el presente documento, "unido operativamente" significa que los componentes a los que se aplica el término están en una relación que les permite llevar a cabo sus funciones inherentes en condiciones adecuadas. Por ejemplo, una secuencia de control en un vector que está "unida operativamente" a una secuencia codificante de proteína se liga a la misma de modo que la expresión de la secuencia codificante de proteína se logra en condiciones compatibles con la actividad transcripcional de las secuencias de control.

El término "célula huésped" significa una célula que se ha transformado, o es capaz de transformarse, con una secuencia de ácido nucleico y por lo tanto expresa un gen de interés. El término incluye la progenie de la célula parental, independientemente de que la progenie sea idéntica en morfología o en composición genética a la célula parental original, siempre que el gen de interés esté presente.

El término "transducción" significa la transferencia de genes de una bacteria a otra, habitualmente por bacteriófago. La "transducción" también se refiere a la adquisición y transferencia de secuencias celulares eucariotas por retrovirus con replicación defectuosa.

El término "transfección" significa la captación de ADN extraño o exógeno por una célula, y una célula ha sido "transfectada" cuando el ADN exógeno se ha introducido dentro de la membrana celular. Varias técnicas de transfección son bien conocidas en la técnica y se describen en este documento. Véase, por ejemplo, Graham et al., 1973, *Virology* 52: 456; Sambrook et al., 2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, supra; Davis et al., 1986, *Basic Methods in Molecular Biology*, Elsevier; Chu et al., 1981, *Gene* 13: 197. Dichas técnicas pueden usarse para introducir uno o más restos de ADN exógeno en células huésped adecuadas.

El término "transformación" se refiere a un cambio en las características genéticas de una célula, y una célula se ha transformado cuando se ha modificado para que contenga nuevo ADN o ARN. Por ejemplo, una célula se transforma donde está genéticamente modificada de su estado nativo mediante la introducción de nuevo material genético a través de transfección, transducción u otras técnicas. Después de la transfección o transducción, el ADN transformante puede recombinarse con el de la célula integrándose físicamente en un cromosoma de la célula, o puede mantenerse transitoriamente como un elemento episomal sin ser replicado, o puede replicarse independientemente como un plásmido. Se considera que una célula ha sido "transformada establemente" cuando el ADN transformante se replica con la división de la célula.

Los términos "polipéptido" o "proteína" se usan indistintamente en este documento para referirse a un polímero de residuos de aminoácidos. Los términos también se aplican a polímeros de aminoácidos en los que uno o más residuos de aminoácidos es un análogo o mimético de un aminoácido natural correspondiente, así como a polímeros de aminoácidos de origen natural. Los términos también pueden abarcar polímeros de aminoácidos que se han modificado, por ejemplo, mediante la adición de residuos de carbohidratos para formar glicoproteínas, o fosforilados. Los polipéptidos y proteínas pueden producirse mediante una célula natural y no recombinante; o es producido por una célula genéticamente modificada o recombinante, y comprende moléculas que tienen la secuencia de aminoácidos de la proteína nativa, o moléculas que tienen eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de uno o más aminoácidos de la secuencia nativa. Los términos "polipéptido" y "proteína" abarcan específicamente proteínas, anticuerpos o secuencias de unión a antígeno de c-fms que tienen eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de uno o más aminoácidos de una proteína de unión a antígeno. El término "fragmento polipeptídico" se refiere a un polipéptido que tiene una eliminación amino-terminal, una eliminación carboxilo-terminal, y/o una eliminación interna en comparación con la proteína de longitud completa. Dichos fragmentos también pueden contener aminoácidos modificados en comparación con la proteína de longitud completa. En ciertas realizaciones, los fragmentos tienen aproximadamente de cinco a 500 aminoácidos de longitud. Por ejemplo, los fragmentos pueden tener al menos 5, 6, 8, 10, 14, 20, 50,

70, 100, 110, 150, 200, 250, 300, 350, 400 o 450 aminoácidos de longitud. Los fragmentos polipeptídicos útiles incluyen fragmentos de anticuerpos inmunológicamente funcionales, que incluyen dominios de unión. En el caso de un anticuerpo que se une a c-fms, los fragmentos útiles incluyen, pero no se limitan a, una región CDR, un dominio variable de una cadena pesada o liviana, una porción de una cadena de anticuerpo o solo su región variable que incluye dos CDR, y similares.

El término "proteína aislada" referida significa que una proteína sujeto (1) está libre de al menos algunas otras proteínas con las que normalmente se encontraría, (2) está esencialmente libre de otras proteínas de la misma fuente, por ejemplo, de la misma especie, (3) es expresada por una célula de una especie diferente, (4) ha sido separada de al menos alrededor del 50 por ciento de polinucleótidos, lípidos, carbohidratos u otros materiales con los que está asociada en la naturaleza, (5) está operativamente asociada (por interacción covalente o no covalente) con un polipéptido con el que no está asociada en la naturaleza, o (6) no se presenta en la naturaleza. Típicamente, una "proteína aislada" constituye al menos aproximadamente 5%, al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 25%, o al menos aproximadamente 50% de una muestra dada. ADN, ADNc, ARNm u otro ARN genómico, de origen sintético, o cualquier combinación de los mismos, puede codificar dicha proteína aislada. Preferiblemente, la proteína aislada está sustancialmente libre de proteínas o polipéptidos u otros contaminantes que se encuentran en su entorno natural que interferirían con su uso terapéutico, diagnóstico, profiláctico, de investigación u otro.

Una "variante" de un polipéptido (por ejemplo, una proteína de unión a antígeno, o un anticuerpo) comprende una secuencia de aminoácidos en la que uno o más residuos de aminoácidos se insertan, eliminan y/o sustituyen en la secuencia de aminoácidos con respecto a otro polipéptido secuencia. Las variantes incluyen proteínas de fusión.

Un "derivado" de un polipéptido es un polipéptido (por ejemplo, una proteína de unión a antígeno, o un anticuerpo) que se ha modificado químicamente de alguna manera distinta de las variantes de inserción, eliminación o sustitución, por ejemplo, mediante conjugación a otra unidad estructural química.

El término "de origen natural" tal como se usa a lo largo de la especificación en conexión con materiales biológicos tales como polipéptidos, ácidos nucleicos, células huésped, y similares, se refiere a materiales que se encuentran en la naturaleza.

Una "proteína de unión a antígeno" como se usa en el presente documento significa una proteína que se une específicamente a un antígeno diana específico, tal como c-fms o c-fms humanas.

Se dice que una proteína de unión a antígeno se "une específicamente" a su antígeno diana cuando la constante de disociación (K_D) es $\leq 10^{-8}$ M. El anticuerpo se une específicamente al antígeno con "alta afinidad" cuando la K_D es $\leq 5 \times 10^{-9}$ M, y con "muy alta afinidad" cuando la K_D es $\leq 5 \times 10^{-10}$ M. En una realización, el anticuerpo tiene una K_D de $\leq 10^{-9}$ M y una tasa de desactivación de aproximadamente 1×10^{-4} /seg. En una realización, la tasa de desactivación es aproximadamente 1×10^{-5} /seg. En otras realizaciones, los anticuerpos se unirán a c-fms, o c-fms humanas con una K_D de entre aproximadamente 10^{-8} M y 10^{-10} M, y en otra realización más se unirá con una $K_D \leq 2 \times 10^{-10}$.

"Región de unión a antígeno" significa una proteína, o una porción de una proteína, que se une específicamente a un antígeno específico. Por ejemplo, la porción de una proteína de unión a antígeno que contiene los residuos de aminoácidos que interaccionan con un antígeno y confieren a la proteína de unión a antígeno su especificidad y afinidad por el antígeno se denomina "región de unión a antígeno". Una región de unión a antígeno típicamente incluye una o más "regiones de unión complementaria" ("CDR"). Ciertas regiones de unión a antígeno también incluyen una o más regiones "marco". Una "CDR" es una secuencia de aminoácidos que contribuye a la especificidad y afinidad de unión al antígeno. Las regiones "marco" pueden ayudar a mantener la conformación apropiada de las CDR para promover la unión entre la región de unión a antígeno y un antígeno.

En ciertos aspectos, se proporcionan proteínas de unión a antígeno recombinantes que se unen a la proteína c-fms, o c-fms humanas. En este contexto, una "proteína recombinante" es una proteína elaborada usando técnicas recombinantes, es decir, mediante la expresión de un ácido nucleico recombinante como se describe en este documento. Los métodos y técnicas para la producción de proteínas recombinantes son bien conocidos en la técnica.

El término "anticuerpo" se refiere a una inmunoglobulina intacta de cualquier isotipo, o un fragmento del mismo que puede competir con el anticuerpo intacto por la unión específica al antígeno diana, e incluye, por ejemplo, anticuerpos quiméricos, humanizados, completamente humanos, y biespecíficos. Un "anticuerpo" como tal es una especie de una proteína de unión a antígeno. Un anticuerpo intacto generalmente comprenderá al menos dos cadenas pesadas de longitud completa y dos cadenas livianas de longitud completa, pero en algunos casos puede incluir menos cadenas tales como anticuerpos que se producen naturalmente en los camélidos que pueden comprender solo cadenas pesadas. Los anticuerpos pueden derivarse únicamente de una sola fuente, o pueden ser "quiméricos", es decir, diferentes partes del anticuerpo pueden derivarse de dos anticuerpos diferentes como se describe más adelante. Las proteínas de unión a antígeno, anticuerpos o fragmentos de unión se pueden producir en hibridomas, mediante técnicas de ADN recombinante, o mediante escisión enzimática o química de anticuerpos intactos. A menos que se indique lo contrario, el término "anticuerpo" incluye, además de anticuerpos que comprenden dos cadenas pesadas de longitud completa y dos cadenas livianas de longitud completa, derivados, variantes, fragmentos y mutaciones de

los mismos, ejemplos de los cuales se describen a continuación.

El término "cadena liviana" incluye una cadena liviana de longitud completa y fragmentos de la misma que tienen una secuencia de región variable suficiente para conferir especificidad de unión. Una cadena liviana de longitud completa incluye un dominio de región variable, V_L , y un dominio de región constante, C_L . El dominio de la región variable de la cadena liviana está en el extremo amino del polipéptido. Las cadenas livianas incluyen cadenas kappa y cadenas lambda.

El término "cadena pesada" incluye una cadena pesada de longitud completa y fragmentos de la misma que tienen una secuencia de región variable suficiente para conferir especificidad de unión. Una cadena pesada de longitud completa incluye un dominio de región variable, V_H , y tres dominios de región constante, C_{H1} , C_{H2} y C_{H3} . El dominio V_H está en el extremo amino del polipéptido, y los dominios C_H están en el extremo carboxilo, siendo el C_{H3} el más cercano al extremo carboxi del polipéptido. Las cadenas pesadas pueden ser de cualquier isotipo, incluidas las IgG (incluidos los subtipos IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4), IgA (incluidos los subtipos IgA1 e IgA2), IgM e IgE.

El término "fragmento inmunológicamente funcional" (o simplemente "fragmento") de un anticuerpo o cadena de inmunoglobulina (cadena pesada o liviana), como se usa en el presente documento, es una proteína de unión a antígeno que comprende una porción (independientemente de cómo se obtenga o sintetice esa porción) de un anticuerpo que carece al menos de algunos de los aminoácidos presentes en una cadena de longitud completa pero que es capaz de unirse específicamente a un antígeno. Tales fragmentos son biológicamente activos porque se unen específicamente al antígeno diana y pueden competir con otras proteínas de unión a antígeno, que incluyen anticuerpos intactos, para la unión específica a un epítipo dado. En un aspecto, dicho fragmento retendrá al menos una CDR presente en la cadena liviana o pesada de longitud completa, y en algunas realizaciones comprenderá una sola cadena pesada y/o cadena liviana o parte de la misma. Estos fragmentos biológicamente activos se pueden producir por técnicas de ADN recombinante, o se pueden producir por escisión enzimática o química de proteínas de unión a antígeno, incluyendo anticuerpos intactos. Los fragmentos de inmunoglobulina inmunológicamente funcionales incluyen, pero no se limitan a, Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv, anticuerpos de dominio y anticuerpos monocatenarios, y pueden derivarse de cualquier fuente de mamífero, que incluye pero no se limita a humanos, ratón, rata, camélido o conejo. Se contempla además que una porción funcional de las proteínas de unión a antígenos descritas aquí, por ejemplo, una o más CDR, podría unirse covalentemente a una segunda proteína o a una molécula pequeña para crear un agente terapéutico dirigido a un objetivo particular en el cuerpo, que posee propiedades terapéuticas bifuncionales, o que tiene una vida media en suero prolongada.

Un "fragmento Fab" está compuesto por una cadena liviana y las regiones C_{H1} y variable de una cadena pesada. La cadena pesada de una molécula Fab no puede formar un enlace disulfuro con otra molécula de cadena pesada.

Una región "Fc" contiene dos fragmentos de cadena pesada que comprenden los dominios C_{H1} y C_{H2} de un anticuerpo. Los dos fragmentos de cadena pesada se mantienen unidos por dos o más enlaces disulfuro y por interacciones hidrófobas de los dominios C_{H3} .

Un "fragmento Fab'" contiene una cadena liviana y una porción de una cadena pesada que contiene el dominio V_H y el dominio C_{H1} y también la región entre los dominios C_{H1} y C_{H2} , de manera que un enlace disulfuro intercadena se puede formar entre las dos cadenas pesadas de dos fragmentos Fab' para formar una molécula $F(ab')_2$.

Un "fragmento $F(ab')_2$ " contiene dos cadenas livianas y dos cadenas pesadas que contienen una porción de la región constante entre los dominios C_{H1} y C_{H2} , de manera que se forma un enlace disulfuro entre las dos cadenas pesadas. Por lo tanto, un fragmento $F(ab')_2$ está compuesto por dos fragmentos Fab' que se mantienen unidos mediante un enlace disulfuro entre las dos cadenas pesadas.

La "región Fv" comprende las regiones variables de las cadenas pesada y liviana, pero carece de las regiones constantes.

Los "anticuerpos monocatenarios" son moléculas Fv en las que las regiones variables de cadena pesada y liviana se han conectado mediante un enlazador flexible para formar una única cadena polipeptídica, que forma una región de unión a antígeno. Los anticuerpos monocatenarios se discuten en detalle en la Publicación de Solicitud de Patente Internacional No. WO 88/01649 y en las Patentes de los Estados Unidos No. 4,946,778 y No. 5,260,203.

Un "anticuerpo de dominio" es un fragmento de inmunoglobulina inmunológicamente funcional que contiene solo la región variable de una cadena pesada o la región variable de una cadena liviana. En algunos casos, dos o más regiones V_H se unen covalentemente con un enlazador peptídico para crear un anticuerpo de dominio bivalente. Las dos regiones V_H de un anticuerpo de dominio bivalente pueden dirigirse a antígenos iguales o diferentes.

Una "proteína de unión a antígeno bivalente" o "anticuerpo bivalente" comprende dos sitios de unión a antígeno. En algunos casos, los dos sitios de unión tienen las mismas especificidades de antígeno. Las proteínas de unión al antígeno bivalente y los anticuerpos bivalentes pueden ser biespecíficos, véase más adelante.

Una proteína de unión a "antígeno multiespecífica" o "anticuerpo multiespecífico" es una que se dirige a más de un antígeno o epítipo.

Una proteína o anticuerpo de unión a antígeno "bienespecífico", "doble específico" o "bifuncional" es una proteína o anticuerpo de unión a antígeno híbrido, respectivamente, que tiene dos sitios de unión a antígeno diferentes. Las proteínas y anticuerpos de unión a antígenos bienespecíficos son una especie de proteína de unión a antígeno multiespecífica o anticuerpo multiespecífico y se pueden producir mediante una diversidad de métodos que incluyen, pero no se limitan a, fusión de hibridomas o unión de fragmentos Fab'. Véase, por ejemplo, Songsivilai and Lachmann, 1990, Clin. Exp. Immunol. 79: 315-321; Kostelny et al, 1992, J. Immunol. 148: 1547-1553. Los dos sitios de unión de una proteína o anticuerpo de unión al antígeno bienespecífico se unirán a dos epítomos diferentes, que pueden residir en las mismas o diferentes dianas de proteína.

El término "proteína de unión a antígeno neutralizante" o "anticuerpo neutralizante" se refiere a una proteína o anticuerpo de unión a antígeno, que se une a un ligando, impide la unión del ligando a su pareja de unión e interrumpe la respuesta biológica que de otro modo ligando que se une a su pareja de unión. Al evaluar la unión y especificidad de una proteína de unión a antígeno, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento inmunológicamente funcional de la misma, un anticuerpo o fragmento inhibirá sustancialmente la unión de un ligando a su pareja de unión cuando un exceso de anticuerpo reduce la cantidad de unión asociada a el ligando en al menos aproximadamente 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% o más (medido *in vitro* ensayo de unión competitiva). En el caso de una proteína de unión a antígeno c-fms, dicha molécula neutralizante disminuirá la capacidad de c-fms para unirse a CSF-1. En algunas realizaciones, el anticuerpo neutralizante inhibe la capacidad de c-fms para unirse a IL-34. En otras realizaciones, el anticuerpo neutralizante inhibe la capacidad de c-fms para unirse a CSF-1 e IL-34.

El término "competir" cuando se usa en el contexto de proteínas de unión a antígeno (por ejemplo, proteínas de unión a antígeno neutralizantes o anticuerpos neutralizantes) que compiten por el mismo epítomo significa competencia entre proteínas de unión a antígeno mediante un ensayo en el que se une el antígeno proteína (por ejemplo, anticuerpo o fragmento inmunológicamente funcional de la misma) bajo prueba previene o inhibe la unión específica de una proteína de unión al antígeno de referencia (por ejemplo, un ligando, o un anticuerpo de referencia) a un antígeno común (por ejemplo, c-fms o un fragmento del mismo). Se pueden usar numerosos tipos de ensayos de unión competitiva, por ejemplo: radioinmunoensayo directo o indirecto en fase sólida (RIA), inmunoensayo enzimático directo o indirecto en fase sólida (EIA), ensayo de competencia sándwich (véase, por ejemplo, Stahl et al., 1983, Methods in Enzymology 9: 242-253); EIA de biotina avidina en fase sólida (véase, por ejemplo, Kirkland et al., 1986, J. Immunol. 137: 3614-3619) ensayo marcado en fase sólida, ensayo en sándwich de fase sólida etiquetado directamente (véase, por ejemplo, Harlow and Lane, 1988, Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press); RIA de etiqueta directa en fase sólida que usa el marcador I-125 (véase, por ejemplo, Morel et al., 1988, Molec. Immunol., 25: 7-15); el EIA de biotina-avidina directa en fase sólida (véase, por ejemplo, Cheung, et al., 1990, Virology 176: 546-552); y RIA de marcación directa (Moldenhauer et al., 1990, Scand. J. Immunol., 32: 77-82). Típicamente, tal ensayo implica el uso de antígeno purificado unido a una superficie sólida o células que llevan cualquiera de estos, una proteína de unión a antígeno de prueba no marcada y una proteína de unión a antígeno de referencia marcada. La inhibición competitiva se mide determinando la cantidad de marcador unido a la superficie o células sólidas en presencia de la proteína de unión al antígeno de prueba. Por lo general, la proteína de unión al antígeno de prueba está presente en exceso. Las proteínas de unión a antígeno identificadas por ensayo competitivo (proteínas de unión a antígeno) incluyen proteínas de unión a antígeno que se unen al mismo epítomo que las proteínas de unión a antígeno de referencia y proteínas de unión a antígeno que se unen a un epítomo adyacente suficientemente próximo al epítomo unido por la proteína de unión a antígeno de referencia impedimento estérico para ocurrir. Detalles adicionales con respecto a los métodos para determinar la unión competitiva se proporcionan en los ejemplos en este documento. Habitualmente, cuando una proteína de unión al antígeno competidora está presente en exceso, inhibirá la unión específica de una proteína de unión al antígeno de referencia a un antígeno común en al menos un 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% o 75%. En algún caso, la unión se inhibe al menos en un 80%, 85%, 90%, 95% o 97% o más.

El término "antígeno" se refiere a una molécula o una porción de una molécula capaz de unirse mediante un agente de unión selectiva, tal como una proteína de unión a antígeno (que incluye, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento funcional inmunológico de la misma) y adicionalmente capaz de ser utilizado en un animal para producir anticuerpos capaces de unirse a ese antígeno. Un antígeno puede poseer uno o más epítomos que son capaces de interactuar con diferentes proteínas de unión a antígeno, por ejemplo, anticuerpos.

El término "epítomo" es la porción de una molécula que está unida por una proteína de unión a antígeno (por ejemplo, un anticuerpo). El término incluye cualquier determinante capaz de unirse específicamente a una proteína de unión a antígeno, tal como un anticuerpo o a un receptor de célula T. Un epítomo puede ser contiguo o no contiguo (por ejemplo, en un polipéptido, restos de aminoácidos que no son contiguos entre sí en la secuencia polipeptídica pero que dentro del contexto de la molécula están unidos por la proteína de unión al antígeno). En ciertos aspectos, los epítomos pueden ser miméticos ya que comprenden una estructura tridimensional que es similar a un epítomo usado para generar la proteína de unión al antígeno, pero comprenden ninguno o solo algunos de los residuos de aminoácidos encontrados en ese epítomo usado para generar el antígeno proteína de unión. Muy a menudo, los epítomos residen en proteínas, pero en algunos casos pueden residir en otros tipos de moléculas, como ácidos nucleicos. Los determinantes del epítomo pueden incluir agrupaciones superficiales químicamente activas de moléculas tales como aminoácidos, cadenas laterales de azúcar, grupos fosforilo o sulfonilo, y pueden tener características estructurales tridimensionales específicas y/o características de carga específicas. En general, los anticuerpos específicos para un antígeno diana particular reconocerán preferentemente un epítomo en el antígeno diana en una mezcla compleja de proteínas y/o macromoléculas.

El término "identidad" se refiere a una relación entre las secuencias de dos o más moléculas polipeptídicas o dos o más moléculas de ácido nucleico, según se determina alineando y comparando las secuencias. "Identidad porcentual" significa el porcentaje de residuos idénticos entre los aminoácidos o nucleótidos en las moléculas comparadas y se calcula en función del tamaño de la molécula menor comparada. Para estos cálculos, las brechas en las alineaciones (si las hay) deben abordarse mediante un modelo matemático o un programa informático particular (es decir, un "algoritmo"). Los métodos que pueden usarse para calcular la identidad de los ácidos nucleicos alineados o polipéptidos incluyen los descritos en *Computational Molecular Biology*, (Lesk, A. M., ed.), 1988, Nueva York: Oxford University Press; *Biocomputing Informatics and Genome Projects*, (Smith, D. W., ed.), 1993, Nueva York: Academic Press; *Computer Analysis of Sequence Data, Parte I*, (Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds.), 1994, New Jersey: Humana Press; von Heinje, G., 1987, *Sequence Analysis in Molecular Biology*, Nueva York: Academic Press; *Sequence Analysis Primer*, (Gribskov, M. and Devereux, J., eds.), 1991, New York: M. Stockton Press; and Carillo et al., 1988, *SIAM J. Applied Math.* 48:1073.

Al calcular el porcentaje de identidad, las secuencias que se comparan se alinean de una manera que da la mayor coincidencia entre las secuencias. El programa informático utilizado para determinar el porcentaje de identidad es el paquete del programa GCG, que incluye GAP (Devereux et al., 1984, *Nucl. Acid Res.* 12: 387; Genetics Computer Group, Universidad de Wisconsin, Madison, WI). El algoritmo de computadora GAP se usa para alinear los dos polipéptidos o polinucleótidos para los que se debe determinar el porcentaje de identidad de secuencia. Las secuencias están alineadas para una coincidencia óptima de sus respectivos aminoácidos o nucleótidos (el "intervalo combinado", según lo determinado por el algoritmo). Una penalización de apertura de brecha (que se calcula como 3x la diagonal promedio, donde la "diagonal promedio" es el promedio de la diagonal de la matriz de comparación que se usa; la "diagonal" es la puntuación o número asignado a cada combinación perfecta de aminoácidos por la matriz de comparación particular) y una penalización de extensión de brecha (que es usualmente 1/10 veces la penalización de apertura de brecha), así como una matriz de comparación tal como PAM 250 o BLOSUM 62 se usan junto con el algoritmo. En ciertos aspectos, una matriz de comparación estándar (véase, Dayhoff et al., 1978, *Atlas of Protein Sequence y Structure* 5: 345-352 para la matriz de comparación PAM 250; Henikoff et al., 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 10915-10919 para la matriz de comparación BLOSUM 62) también es usado por el algoritmo.

Los parámetros recomendados para determinar el porcentaje de identidad para polipéptidos o secuencias de nucleótidos usando el programa GAP son los siguientes:

Algoritmo: Needleman et al., 1970, *J. Mol. Biol.* 48: 443-453;

Matriz de comparación: BLOSUM 62 de Henikoff et al., 1992, *supra*;

Penalización de brecha: 12 (pero sin penalización por brechas finales)

Penalización por longitud de brecha: 4

Umbral de similitud: 0

Ciertos esquemas de alineación para alinear dos secuencias de aminoácidos pueden dar como resultado la coincidencia de solo una región corta de las dos secuencias, y esta pequeña región alineada puede tener una identidad de secuencia muy alta aunque no haya una relación significativa entre las dos secuencias de longitud completa. En consecuencia, el método de alineamiento seleccionado (programa GAP) se puede ajustar si se desea para dar como resultado una alineación que abarque al menos 50 aminoácidos contiguos del polipéptido diana.

Como se usa en este documento, "sustancialmente puro" significa que la especie de molécula descrita es la especie predominante presente, es decir, sobre una base molar es más abundante que cualquier otra especie individual en la misma mezcla. En ciertas realizaciones, una molécula sustancialmente pura es una composición en la que la especie objeto comprende al menos el 50% (sobre una base molar) de todas las especies macromoleculares presentes. En otras realizaciones, una composición sustancialmente pura comprenderá al menos 80%, 85%, 90%, 95% o 99% de todas las especies macromoleculares presentes en la composición. En otras realizaciones, la especie objeto se purifica a una homogeneidad esencial en la que las especies contaminantes no pueden detectarse en la composición mediante métodos de detección convencionales y, por lo tanto, la composición consiste en una sola especie macromolecular detectable.

El término "tratar" se refiere a cualquier indicio de éxito en el tratamiento o mejora de una lesión, patología o afección, que incluye cualquier parámetro objetivo o subjetivo tal como disminución; remisión; disminución de los síntomas o hacer que la lesión, patología o condición sea más tolerable para el paciente; ralentización en la tasa de degeneración o declive; haciendo que el punto final de degeneración sea menos debilitante; mejorar el bienestar físico o mental de un paciente. El tratamiento o la mejora de los síntomas pueden basarse en parámetros objetivos o subjetivos; incluyendo los resultados de un examen físico, exámenes neuropsiquiátricos y/o una evaluación psiquiátrica. Por ejemplo, ciertos métodos presentados en este documento tratan con éxito el cáncer disminuyendo la incidencia de cáncer, causando la remisión del cáncer y/o mejorando un síntoma asociado con el cáncer o una enfermedad inflamatoria.

Una "cantidad efectiva" generalmente es una cantidad suficiente para reducir la gravedad y/o frecuencia de los síntomas, eliminar los síntomas y/o la causa subyacente, prevenir la aparición de síntomas y/o su causa subyacente, y/o mejorar o remediar el daño que resulta de o está asociado con el cáncer. En algunas realizaciones, la cantidad efectiva es una cantidad terapéuticamente efectiva o una cantidad profilácticamente efectiva. Una "cantidad terapéuticamente efectiva" es una cantidad suficiente para remediar un estado de enfermedad (por ejemplo, cáncer) o síntomas, particularmente un estado o síntomas asociados con el estado de enfermedad, o prevenir, dificultar, retrasar o revertir la progresión del estado de enfermedad o cualquier otro síntoma indeseable asociado con la enfermedad de cualquier manera. Una "cantidad profilácticamente efectiva" es una cantidad de una composición farmacéutica que, cuando se administra a un sujeto, tendrá el efecto profiláctico deseado, por ejemplo, prevenir o retrasar el inicio (o recurrencia) del cáncer, o reducir la probabilidad del inicio (o reaparición) de cáncer o síntomas de cáncer. El efecto terapéutico o profiláctico completo no ocurre necesariamente mediante la administración de una dosis, y puede ocurrir solo después de la administración de una serie de dosis. Por lo tanto, se puede administrar una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva en una o más administraciones.

"Aminoácido" incluye su significado normal en la técnica. Los veinte aminoácidos naturales y sus abreviaturas siguen el uso convencional. Véase, *Immunology-A Synthesis*, 2nd Edition, (E. S. Golub and D. R. Green, eds.), Sinauer Associates: Sunderland, Mass. (1991), incorporada aquí como referencia para cualquier propósito. Los estereoisómeros (por ejemplo, D-aminoácidos) de los veinte aminoácidos convencionales, los aminoácidos no naturales como los aminoácidos [alfa]-sustituidos, los N-alquilaminoácidos y otros aminoácidos no convencionales también pueden ser componentes adecuados para polipéptidos y están incluidos en la frase "aminoácido". Entre los ejemplos de aminoácidos no convencionales se incluyen: 4-hidroxiprolina, [gamma]-carboxiglutamato, [epsilon]-N,N,N-trimetilisina, [epsilon]-N-acetilsina, O-fosfoserina, N-acetilserina, N-formilmetionina, 3-metilhistidina, 5-hidroxilisina, [sigma]-N-metilarginina y otros aminoácidos e iminoácidos similares (por ejemplo, 4-hidroxiprolina). En la notación de polipéptido usada en el presente documento, la dirección de la mano izquierda es la dirección de la terminal amino y la dirección de la derecha es la dirección de la terminal carboxilo, de acuerdo con el uso y la convención estándar.

25 Visión general

En el presente documento se proporcionan proteínas de unión a antígeno que se unen a la proteína c-fms, que incluyen la proteína c-fms humana (hc-fms). Las proteínas de unión a antígeno proporcionadas son polipéptidos en los que una o más regiones determinantes complementarias (CDR), tal como se describen en el presente documento, están integradas y/o unidas. En algunas proteínas de unión a antígeno, las CDR se incrustan en una región "marco", que orienta la(s) CDR(s) de modo que se consiguen las propiedades de unión a antígeno apropiadas de la(s) CDR(s). En general, las proteínas de unión a antígeno que se proporcionan pueden interferir, bloquear, reducir o modular la interacción entre CSF-1 y c-fms.

Ciertas proteínas de unión a antígeno descritas en este documento son anticuerpos o se derivan de anticuerpos. En ciertas realizaciones, la estructura polipeptídica de las proteínas de unión a antígeno se basa en anticuerpos, que incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos monoclonales, anticuerpos biespecíficos, minicuerpos, anticuerpos de dominio, anticuerpos sintéticos (a veces denominados en este documento "miméticos de anticuerpos"), quiméricos anticuerpos, anticuerpos humanizados, anticuerpos humanos, fusiones de anticuerpos (a veces denominados aquí "conjugados de anticuerpos"), y fragmentos de los mismos. Las diversas estructuras se describen con más detalle a continuación.

Se ha demostrado que las proteínas de unión a antígeno proporcionadas en este documento se unen al dominio extracelular de c-fms, en particular c-fms humanas. Como se describe adicionalmente en los ejemplos a continuación, se ensayaron ciertas proteínas de unión a antígeno y se descubrió que se unen a epítomos diferentes de los unidos a una serie de otros anticuerpos anti-c-fms. Las proteínas de unión a antígeno que se proporcionan compiten con CSF-1 y, por lo tanto, evitan que la CSF-1 se una a su receptor. En ciertos aspectos, las proteínas de unión al antígeno inhiben la unión entre IL-34 y c-fms. En otros aspectos, las proteínas de unión al antígeno inhiben la capacidad de c-fms para unirse tanto a CSF-1 como a IL-34. Como consecuencia, las proteínas de unión a antígeno proporcionadas en este documento son capaces de inhibir la actividad de c-fms. En particular, las proteínas de unión a antígeno que se unen a estos epítomos pueden tener una o más de las siguientes actividades: inhibir, entre otras cosas, la autofosforilación c-fms, inducir rutas de transducción de señales c-fms, crecimiento celular inducido c-fms, acumulación de quimiotaxis de monocitos macrófagos asociados a tumores en un tumor o en el estroma de un tumor, producción de factores promotores de tumores y otros efectos fisiológicos inducidos por c-fms tras la unión a CSF-1. Las proteínas de unión a antígeno que se describen en el presente documento tienen una variedad de utilidades. Algunas de las proteínas de unión a antígeno, por ejemplo, son útiles en ensayos de unión específica, purificación por afinidad de c-fms, en particular hc-fms o sus ligandos y en ensayos de cribado para identificar otros antagonistas de la actividad de c-fms. Algunas de las proteínas de unión a antígeno son útiles para inhibir la unión de CSF-1 a c-fms, o inhibir la autofosforilación de c-fms.

Las proteínas de unión a antígeno se pueden usar en una variedad de aplicaciones de tratamiento, como se explica aquí. Por ejemplo, ciertas proteínas de unión a antígeno c-fms son útiles para tratar condiciones asociadas con c-fms, tales como reducir la quimiotaxis de monocitos en un paciente, inhibir la migración de monocitos a tumores, inhibir la acumulación de macrófagos asociados a tumores en un tumor o inhibir la angiogénesis, tal como se describe adicionalmente aquí. En ciertos aspectos, las proteínas de unión al antígeno inhiben la capacidad de los TAM para

promover el crecimiento tumoral, la progresión y/o metástasis. Además, en los casos en que las células tumorales expresan y usan c-fms, la unión del anticuerpo a c-fms podría inhibir su crecimiento/supervivencia. Otros usos para las proteínas de unión a antígeno incluyen, por ejemplo, el diagnóstico de enfermedades o afecciones asociadas con c-fms y ensayos de selección para determinar la presencia o ausencia de c-fms. Algunas de las proteínas de unión a antígeno descritas en este documento son útiles en el tratamiento de las consecuencias, los síntomas y/o la patología asociada con la actividad de c-fms. Estos incluyen, pero no se limitan a, diversos tipos de cáncer y enfermedades inflamatorias y también caquexia por cáncer. En algunos aspectos, las proteínas de unión a antígeno se usan para tratar diversos trastornos óseos.

C-fms

10 El factor 1 estimulador de colonias (CSF-1) promueve la supervivencia, la proliferación y la diferenciación de los linajes de fagocitos mononucleares. La CSF-1 ejerce sus actividades uniéndose al receptor c-fms de la superficie celular, dando como resultado la autofosforilación por el receptor c-fms quinasa y una cascada posterior de señales intracelulares.

15 Los términos "c-fms", "receptor de c-fms", "c-fms humano" y "receptor de c-fms humano" se refieren a un receptor de superficie celular que se une a un ligando, que incluye, pero no se limita a, CSF-1 y como resultado inicia una ruta de transducción de señal dentro de la célula. En algunas realizaciones, el receptor puede unir IL-34 o ambos CSF-1 e IL-34. Las proteínas de unión a antígeno descritas en este documento se unen a c-fms, en particular c-fms humanas. Un dominio extracelular de ejemplo de la secuencia de aminoácidos de c-fms humana se representa en la SEQ ID NO: 1. Como se describe a continuación, las proteínas c-fms también pueden incluir fragmentos. Como se usa en el presente documento, los términos se usan indistintamente para referirse a un receptor, en particular un receptor humano que se une específicamente a CSF-1.

20 El término receptor c-fms humano (h-cfms) como se usa en el presente documento también incluye alelos naturales, que incluyen las mutaciones A245S, V279M y H362R. El término c-fms también incluye modificaciones postraduccionales de la secuencia de aminoácidos c-fms. Por ejemplo, el dominio extracelular (ECD) de las c-fms humanas (residuos 20-512 del receptor) tiene once posibles sitios de glicosilación unidos a N en la secuencia. Por lo tanto, las proteínas de unión a antígeno se pueden unir o generar a partir de proteínas glicosiladas en una o más de las posiciones.

25 La ruta de transducción de señal c-fms está regulada positivamente en una serie de patologías humanas que implican la activación crónica de poblaciones de macrófagos tisulares. Los aumentos en la producción de CSF-1 también están asociados con la acumulación de macrófagos tisulares observada en diversas enfermedades inflamatorias, como la enfermedad inflamatoria intestinal. Además, el crecimiento de varios tipos de tumores está asociado con la sobreexpresión de los receptores CSF-1 y c-fms en células cancerosas y/o estroma tumoral.

Receptor de proteínas de unión al antígeno C-fms

35 Se proporciona una variedad de agentes de unión selectiva útiles para regular la actividad de c-fms. Estos agentes incluyen, por ejemplo, proteínas de unión a antígeno que contienen un dominio de unión a antígeno (por ejemplo, anticuerpos monocatenarios, anticuerpos de dominio, inmunoadherencias y polipéptidos con una región de unión a antígeno) y se unen específicamente a un polipéptido c-fms, en particular c-fms humano. Algunos de los agentes, por ejemplo, son útiles para inhibir la unión de CSF-1 a c-fms y, por lo tanto, pueden usarse para inhibir, interferir o modular una o más actividades asociadas con la señalización c-fms. En ciertos aspectos, las proteínas de unión a antígeno se pueden usar para inhibir la unión entre IL-34 y c-fms. En algunos aspectos, las proteínas de unión al antígeno interfieren con la capacidad de c-fms para unirse tanto a CSF-1 como a IL-34.

40 En general, las proteínas de unión a antígeno que se proporcionan típicamente comprenden una o más CDR como se describe en este documento (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 o 6). En algunos casos, la proteína de unión a antígeno comprende (a) una estructura polipeptídica y (b) una o más CDR que se insertan y/o unen a la estructura polipeptídica. La estructura polipeptídica puede tomar una variedad de formas diferentes. Por ejemplo, puede ser, o comprender, el marco de un anticuerpo de origen natural, o fragmento o variante del mismo, o puede ser de naturaleza completamente sintética. Los ejemplos de diversas estructuras polipeptídicas se describen adicionalmente a continuación.

45 En ciertos aspectos de la divulgación, la estructura polipeptídica de las proteínas de unión a antígeno es un anticuerpo o se deriva de un anticuerpo, que incluye, pero no se limita a, anticuerpos monoclonales, anticuerpos biespecíficos, minicuerpos, anticuerpos de dominio, anticuerpos sintéticos (a veces denominados en este documento "miméticos de anticuerpos"), anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, fusiones de anticuerpos (a veces denominados "conjugados de anticuerpos"), y porciones o fragmentos de cada uno, respectivamente. En algunos casos, la proteína de unión a antígeno es un fragmento inmunológico de un anticuerpo (por ejemplo, un Fab, un Fab', un F(ab')₂ o un scFv). Las diversas estructuras se describen y definen adicionalmente en este documento.

55 Ciertas de las proteínas de unión a antígeno como se proporcionan aquí se unen específicamente a c-fms humanas. En una realización específica, la proteína de unión a antígeno se une específicamente a la proteína c-fms humana que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1.

En aspectos en los que la proteína de unión a antígeno se usa para aplicaciones terapéuticas, una proteína de unión a antígeno puede inhibir, interferir o modular una o más actividades biológicas de c-fms. En este caso, una proteína de unión a antígeno se une específicamente y/o inhibe sustancialmente la unión de c-fms humanas a CSF-1 cuando un exceso de anticuerpo reduce la cantidad de c-fms humanos unidos a CSF-1, o viceversa, mediante al menos aproximadamente 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% o más (por ejemplo midiendo la unión en una competencia *in vitro* ensayo de unión). C-fms tiene muchos efectos biológicos distintos, que se pueden medir en muchos ensayos diferentes en diferentes tipos de células; ejemplos de tales ensayos se proporcionan en este documento.

Estructura del anticuerpo de origen natural

10 Algunas de las proteínas de unión a antígeno que se proporcionan tienen la estructura típicamente asociada con anticuerpos naturales. Las unidades estructurales de estos anticuerpos comprenden típicamente uno o más tetrámeros, cada uno compuesto por dos pareados idénticos de cadenas polipeptídicas, aunque algunas especies de mamíferos también producen anticuerpos que tienen solo una única cadena pesada. En un anticuerpo típico, cada par o dupla incluye una cadena "liviana" de longitud completa (en ciertas realizaciones, aproximadamente 25 kDa) y una
 15 cadena "pesada" de longitud completa (en ciertas realizaciones, aproximadamente 50-70 kDa). Cada cadena de inmunoglobulina individual está compuesta de varios "dominios de inmunoglobulina", cada uno de los cuales consta de aproximadamente 90 a 110 aminoácidos y expresa un patrón de plegamiento característico. Estos dominios son las unidades básicas de las que se componen los polipéptidos de anticuerpos. La porción amino terminal de cada cadena incluye típicamente un dominio variable que es responsable del reconocimiento del antígeno. La porción
 20 carboxi-terminal está más conservada evolutivamente que el otro extremo de la cadena y se denomina "región constante" o "región C". Las cadenas livianas humanas generalmente se clasifican como cadenas livianas kappa y lambda, y cada una de ellas contiene un dominio variable y un dominio constante. Las cadenas pesadas se clasifican típicamente como cadenas mu, delta, gamma, alfa o épsilon, y éstas definen el isotipo del anticuerpo como IgM, IgD, IgG, IgA e IgE, respectivamente. IgG tiene varios subtipos, que incluyen, pero no se limitan a, IgG1, IgG2, IgG3 e
 25 IgG4. Los subtipos de IgM incluyen IgM1 e IgM2. Los subtipos de IgA incluyen IgA1 e IgA2. En humanos, los isotipos IgA e IgD contienen cuatro cadenas pesadas y cuatro cadenas livianas; los isotipos IgG e IgE contienen dos cadenas pesadas y dos cadenas livianas; y el isotipo IgM contiene cinco cadenas pesadas y cinco cadenas livianas. La región C de la cadena pesada típicamente comprende uno o más dominios que pueden ser responsables de la función efectora. El número de dominios de la región constante de la cadena pesada dependerá del isotipo. Las cadenas
 30 pesadas de IgG, por ejemplo, contienen cada una tres dominios de la región C conocidos como C_{H1}, C_{H2} y C_{H3}. Los anticuerpos que se proporcionan pueden tener cualquiera de estos isotipos y subtipos. En ciertas realizaciones, el anticuerpo c-fms es del subtipo IgG1, IgG2 o IgG4.

En las cadenas livianas y pesadas de longitud completa, las regiones variables y constantes están unidas por una
 35 región "J" de aproximadamente doce o más aminoácidos, incluyendo también la cadena pesada una región "D" de aproximadamente diez aminoácidos más. Véase, por ejemplo, Fundamental Immunology, 2nd ed., Ch. 7 (Paul, W., ed.) 1989, Nueva York: Raven Press. Las regiones variables de cada par de cadena liviana/pesada típicamente forman el sitio de unión al antígeno.

Un ejemplo de un dominio constante pesado de IgG2 de un anticuerpo monoclonal c-fms de ejemplo tiene la secuencia de aminoácidos:

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTF
 PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVKCCVECPAPPVAGPS
 VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVV
 SVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC
 LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
 40 ALHNHYTQKSLSLSPGK* (SEQ. ID NO:2; el asterisco corresponde al codón de parada).

Un ejemplo de un dominio constante ligera kappa de un anticuerpo monoclonal c-fms de ejemplo tiene la secuencia de aminoácidos:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID
 NO:3; el asterisco corresponde al codón de parada).

5 Las regiones variables de las cadenas de inmunoglobulina generalmente muestran la misma estructura general, que comprende regiones marco conservadas (FR) relativamente conservadas unidas por tres regiones hipervariables, más a menudo llamadas "regiones determinantes de complementariedad" o CDR. Las CDR de las dos cadenas de cada par de cadena pesada/cadena liviana mencionadas anteriormente típicamente están alineadas por las regiones marco para formar una estructura que se une específicamente con un epítipo específico en la proteína diana (por ejemplo, c-fms). Desde N-terminal hasta C-terminal, las regiones variables de cadena liviana y pesada de origen natural se ajustan típicamente con el siguiente orden de estos elementos: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. Se ha diseñado un sistema de numeración para asignar números a los aminoácidos que ocupan posiciones en cada uno de estos dominios. Este sistema de numeración se define en Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest 10 (1987 and 1991, NIH, Bethesda, MD), o Chothia & Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196: 901-917; Chothia et al., 1989, Nature 342: 878-883.

15 Las diversas regiones variables de cadena pesada y liviana proporcionadas en este documento se representan en la Tabla 2. Cada una de estas regiones variables puede unirse a las regiones constantes de cadena pesada y liviana anteriores para formar una cadena pesada y liviana de anticuerpo completa, respectivamente. Además, cada una de las secuencias de cadena pesada y liviana así generadas se puede combinar para formar una estructura de anticuerpo completa. Debe entenderse que las regiones variables de la cadena pesada y de la cadena liviana proporcionadas en el presente documento también se pueden unir a otros dominios constantes que tienen secuencias diferentes de las secuencias ilustrativas enumeradas anteriormente.

20 Ejemplos específicos de algunas de las cadenas livianas y pesadas de longitud completa de los anticuerpos que se proporcionan y sus secuencias de aminoácidos correspondientes se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1: Cadenas pesadas y livianas de ejemplo

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|-----------------|-------------|------------|--|
| H1 109 1N1G1 | H1 | 4 | <p>QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCKASGYFTAYMHWVRQAPGQGLE WMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRRLSDDTAV YYCARGGYSYDLGYYYGMDVWGQGTITVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCA PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGL LPAPIEKTKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> |
| H1 13 1N1G1 | H2 | 5 | <p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSVSSGGYYWSWIRQPPGKGL EWIGYIYSGSTNYPNPSLRSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYC AAGIAATGTLFDCWGQGLTVVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPVAGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTKTK KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK</p> |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|-----------------|-------------|------------|--|
| H1 131 1N1G1 | H3 | 6 | <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYIHWVRQAPGQGLEW MGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYY CARDRGQLWLWYYYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP APIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> |
| H1 134 1N1G1 | H4 | 7 | <p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAWIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCASSWSYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV VPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> |
| H1 143 1N1G1 | H5 | 8 | <p>EVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFTVSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDNAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTA VYYCTTGGSLTWTGPNYYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|-----------------|-------------|------------|--|
| H1 144 1N1G1 | H6 | 9 | EVQLVESGGGLV ^K PGGSLRLS ^{CA} ASGFTFS ^{NA} WMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMN ^{SL} KTEDTA VYYCTTEYYGSGGVWYYGMDVWGQGT ^{TV} VSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT ^{SV} WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSV ^{TV} PSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDK ^{TV} ERKCCVECP ^{PC} PA PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV ^{VS} LVTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK ^{GL} LPAPIEK ^{TISK} TGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYK ^{TT} PPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| H1 16 1N1G1 | H7 | 10 | EVQLVESGGGLV ^K PGGSLRLS ^{CA} ASGFTFS ^{NA} WMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGWT ^{TD} YAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMN ^{SL} KTEDTA VYYCTDLRITG ^{TTTT} YYYYYYGM ^{DV} WGQGT ^{TV} VSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT ^{SV} WNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSV ^{TV} PSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDK ^{TV} ERKCCVECP ^{PC} PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV ^{VS} LVTVVHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPAPIEK ^{TISK} TGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS SDIAVEWESNGQPENNYK ^{TT} PPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| H1 21N1G1 | H8 | 11 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKV ^{SC} KASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEW MGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY YCARESWFGEVFFDYWGQGLV ^{TV} VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVT ^{SV} WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDK ^{TV} ERKCCVECP ^{PC} PAPPVAGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVH AKTKPREEQFNSTFRV ^{VS} LVTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK TISK ^{TG} QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYK ^{TT} PPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|-------------|-------------|------------|---|
| H1 26 1N1G1 | H9 | 12 | EVQLVESGGGLVHPGGSRLRSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTA VYYCTTEYYGSGGVWYYGMDVWGQGTITVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPVAVLQSSGLY SLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPKCPA PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSIVLVHQQDWLNGKEYKCKVSNKGL LPAPIEKTIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| H1 27 1N1G1 | H10 | 13 | EVQLVESGGGLVHPGGSRLRSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTA VYYCTTDGATVVTPGYYYYGTDVWGQGTITVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPVAVLQSSGL YSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPKCP APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSIVLVHQQDWLNGKEYKCKVSNKGL LPAPIEKTIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| H1 30 1N1G1 | H11 | 14 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEW MGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY YCARESWFGGEVFFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPVAVLQSSGLYSLSSV TVPSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPKCPAPPVAGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTFRVVSIVLVHQQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK TIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|------------------|-------------|------------|---|
| H1 33-1 1N1G1 | H12 | 15 | <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHWRQAPGQGLE WMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRRLSDDTAF YYCARDSNWHNWFDPWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSE STAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPVAG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIE KTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK</p> |
| H1 33 1N1G1 | H13 | 16 | <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHWRQAPGQGLE WMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRRLSDDTAF YYCARDSNWHNWFDPWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSE STAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPVAG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIE KTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK</p> |
| H1 34 1N1G1 | H14 | 17 | <p>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSSWRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTA VYYCTTDGATVTPGYYYYGTDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPP APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|-------------|-------------|------------|--|
| H1 39 1N1G1 | H15 | 18 | EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTADYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTA VYYCTTEGPYSDYGYYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGL YSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCP APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSFLTQVHVDWLNQKEYKCKVSNK GLPAPIEKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| H142 1N1G1 | H16 | 19 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEW MGWISAYNGNTNYAQKLGGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY YCARESWFGEVFFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPVAGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTFRVVSFLTQVHVDWLNQKEYKCKVSNKGLPAPIEK TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK |
| H164 1N1G1 | H17 | 20 | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMHWVRQATGKGLE WWSGIGTAGDTYYPGSVKGRFNISRENAKNSLYLQMNSLRAGDTAVYY CAREGSWYGFYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTFRVVSFLTQVHVDWLNQKEYKCKVSNKGLPAPIEKTK TKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|--------------|-------------|------------|---|
| H1 66 1N1G1 | H18 | 21 | <p>QVQLVESGGGVWQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WWAVIWDGDSNEYADSVKGRFTISRDNKSTLYLQMNSLRAEDTAVY YCAHSSGNYYDMDVWGQGTITVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPVAVLQSSGLYSLSVVT VPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPVAGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK</p> |
| H1 72 1N1G1 | H19 | 22 | <p>EVQLVESGGGLVEPGGSLRLSCAASGFTFSTAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKNEDTA VYYCTTEGPYSNYGYYYGVDVWGQGTITVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPVAVLQSSGL YLSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPP APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> |
| H2 103 1N1G2 | H20 | 23 | <p>EVQLVESGGGLVKPGGSLTSCAASGFTFNNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTA VYYCTTEYYHILTGsfYYSYGMVWGQGTITVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPVAVLQSS GLYSLSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECP CPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|-----------------|-------------|------------|--|
| H1 90 1N1G1 | H21 | 24 | <p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WWAVIWDGSKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCASSSNFYDMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPVAGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK</p> |
| H2131 1N1G2 | H22 | 25 | <p>QVQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSISNYYSWIRQSAGKGLEWI GRIYTSGSTHYNPSLKSRIIMSVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARD RVFYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSNFG TQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPVAGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK</p> |
| H2 291 1N1G2 | H23 | 26 | <p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WWAVIWDGSKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCAREGDYSDYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSE STAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPVAGP PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIE KTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK</p> |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|--------------------|-------------|------------|---|
| H2 360 1N1G2 | H24 | 27 | <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYLTTELSMHWVRQAPGKGLE WMGGFDPEDGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDVYMESSLRSEDVAV YYCATGVMITFGGVIVGHSYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPP CPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVVS NKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK</p> |
| H2 360 1N1G2 SM | H25 | 28 | <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYLTTELSMHWVRQAPGKGLE WMGGFDPEDGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDVYMESSLRSEDVAV YYCATGVMITFGGVIVGHSYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPP CPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVVS NKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK</p> |
| H2 369 1N1G2 | H26 | 29 | <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYLTTELSMHWVRQAPGKGLE WMGGFDPEDGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDVYMESSLRSEDVAV YYCATRAGTTLAYYYYAMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR STSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPP VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP APIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMREALHNHYTQKSLSLSPGK</p> |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|-----------------|-------------|------------|--|
| H2 380 1N1G2 | H27 | 30 | <p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWI GYIYYSGNTNYNPSLKSRTLSIDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCACI ATRPFDYWGGTLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSNFGT QTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPGPCAPPVAGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ FNSTFRVVSIVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK</p> |
| H2475 1N1G2 | H28 | 31 | <p>QVQLVESGGGVQPGRSLRLSCAASGFTFISYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWDGSKNYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCADSSGDYGMVWGGTTLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV VPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPGPCAPPVAGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTFRVVSIVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK</p> |
| H2 508 1N1G2 | H29 | 32 | <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLTELSMHWVRQAPGKGLE WMGGFDPEDETIYAQKFGQGRVMTEDTSTDTAYMELSSLRSEDTAV YYCATAGLEIRWFDPWGGTLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV VPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPGPCAPPVAGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTFRVVSIVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK</p> |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|-----------------|-------------|------------|---|
| H2 534 1N1G2 | H30 | 33 | <p>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGL EWIGYISYSGDTYYNPSLKSRLTISVDTSKHQFSLRLSSVTSADTAVYYC ASLDLYGDYFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPVAVLQSSGLYSLSSVTVPS SNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK</p> |
| H2 550 1N1G2 | H31 | 34 | <p>QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSKASGYTLTSYGISWWRQAPGGGLEW MGWISAYNGNPYAQKFKGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY YCARDQGLLGFGELEGLFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPVAVLQSSGLYSL SSVTVPSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPP VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP APIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> |
| H2 65 1N1G2 | H32 | 35 | <p>EVQLVESGGGLVKGPGSLRSLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKTKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSQNTLYLQMNSLKTEDTA VYYCTTEYYGIVTGSFYFYYGMDVWGGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPVAVLQSS GLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPP CPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p> |
| H1 109 1N1K | L1 | 36 | <p>DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCQASQNIISNFLDWYQQKPKAPNLLIY DASDLDPGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQQYVSLPLTF GGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p> |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|----------------|-------------|------------|--|
| H1 109 1N1K SM | L2 | 37 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDISNFLDWYQQKPGKAPKLLIY DASDLDPGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYYCQQYVSLPLTF GGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H1 131 1N1K | L3 | 38 | DNVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLHSDGKTYLYWYLQKPGQP PQLLIYEASNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQSI QLPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEEKH VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H1 134 1N1K | L4 | 39 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDINNYLNWYQQKPGKAPKLLIY DASNLEIGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYYCQQYDNFPFTFG GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H1 143 1N1K | L5 | 40 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDINNYLNWYQQKPGKAPKLLIY DTSNLEPGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYYCQQYDNLLTFG QGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H1 144 1N1K | L6 | 41 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDISNYLNWYQHKPGKAPKLLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYYCQQYDNLLTFG GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H1 161N1K | L7 | 42 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKFLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYYCQQYDNLLTFG QGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|----------------|-------------|------------|---|
| H1 21N1K | L8 | 43 | DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLDSSDNKNYLAWYQQKPGQ PPKLLIYWASNRESGVPDRFSGSGSGTDFSLTISSLQAEDVAVYYCQQ YYSDPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H1 21N1K 3M | L9 | 44 | DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLDSSDNKNYLAWYQQKPGQ PPKLLIYWASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQY YSDPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H1 271N1K | L10 | 45 | DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLFTFG GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H1 301N1K | L11 | 46 | DIVMTQSPDSLAVSLGERATIDCKSSQGVLDSSNNKNFLAWYQQKPGQ PPKLLIYWASNRESGVPVRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVALYYCQQY YSDPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H133-1 1N1K | L12 | 47 | DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQISDYLNWYQQKPGKAPNLLIY AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQTYSDFPFTF GPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H1341N1K | L13 | 48 | DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLFTFG GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|------------|-------------|------------|---|
| H1 391N1K | L14 | 49 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLITFG GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLTKADYEEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H1 42 1N1K | L15 | 50 | DIVMTQSPDSLAVSLGERATIDCKSSQSVLDSSNNKNFLAWYQQKPGQ PPKLLIYWASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQY YSDPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLTKADYEEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H1 64 1N1K | L16 | 51 | EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSGYLAYLAWYQQKPGQAP RLLIYGASSTATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSS PITFGQGRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLTKADYEEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H1 66 1N1K | L17 | 52 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDISNFLNWYQQRPGKAPKLLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLPTFF GPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLTKADYEEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H1 72 1N1K | L18 | 53 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDFATYYCQQYDNLITFG GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLTKADYEEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H1 90 1N1K | L19 | 54 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQRYYDLPTFG QGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLTKADYEEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|-------------------|-------------|------------|--|
| H2103 1N1K | L20 | 55 | DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQRPGKAPKLLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDVATYYCQYDNLLTFG GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H2131 1N1K | L21 | 56 | DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGFSNYLAWYQQKPGKVPKLLIY AASLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQKYNAPLTF GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H2 360 1N1K | L22 | 57 | DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGINNYLAWYQQKPGKVPQLLIY VASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQKYNAGPFTF GPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H2 360 1N1K SM | L23 | 58 | DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGINNYLAWYQQKPGKVPKLLIY VASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQKYNAGPFTF GPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H2 369 1N1K | L24 | 59 | DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISRYLNWYQQKPGKAPNLLIH AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYITPPSF GQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H2 380 1N1K | L25 | 60 | DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIRNDLDWYQQKPGKAPKRLIY AASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTINSLQPEDFATYYCLQYNSYPITF GQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|-------------|-------------|------------|--|
| H2 475 1N1K | L26 | 61 | DIQMIQSPSSLSASVGDRVTITCQASHDISNYLNWYQQKPGKAPKFLISD ASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLPLTFG GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H2 508 1N1K | L27 | 62 | DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQS PQFLIYLGSIASGVDPDRFSGSGSGTDFALTISRVEAEDVGVYYCMQAL QTPRTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHK KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H2 534 1N1K | L28 | 63 | EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQYIGSSLHWYQQTPDQSPKLLINY VSQSFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHQSSSLPFTFG PGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H2 550 1N1K | L29 | 64 | DIVMTQSPDSLAVSLGARATISCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISTLQAEDVAVYYCQQY YTPPTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHK KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H2 65 1N1K | L30 | 65 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDINNYLNWYQQKPGKAPKLLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLPLTFG GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H1 131N1K | L31 | 66 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQQFDNLPPFTFG GGTKVESKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC |

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|-----------------------|-------------|------------|--|
| H1 261N1K | L32 | 67 | DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQHKGPKAPKLLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTTISSLQPEDIATYYCQQYDNLLTFG GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H1 13H1 13 1NVK2KK | L33 | 68 | DVWMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGNTYLNWFQQRPGQ SPRRLIYKVSNWDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ GTHWPRGLFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| H1 26H1 26 1NVK2KK | L34 | 69 | DVWMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGNTYLNWFQQRPGQ SPRRLIYKVSNWDSGVPDRFNGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ GTHWPITFGQGTGLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |

De nuevo, cada una de las cadenas pesadas ilustrativas (H1, H2, H3, etc.) enumeradas en la Tabla 1 se puede combinar con cualquiera de las cadenas livianas ilustrativas que se muestran en la Tabla 1 para formar un anticuerpo. Los ejemplos de tales combinaciones incluyen H1 combinado con cualquiera de L1 a L34; H2 combinado con cualquiera de L1 a L34; H3 combinado con cualquiera de L1 a L34, y así sucesivamente. En algunos casos, los anticuerpos incluyen al menos una cadena pesada y una cadena liviana de las enumeradas en la Tabla 1. En algunos casos, los anticuerpos comprenden dos cadenas pesadas diferentes y dos cadenas livianas diferentes enumeradas en la Tabla 1. En otros casos, los anticuerpos contienen dos cadenas livianas idénticas y dos cadenas pesadas idénticas. Como ejemplo, un anticuerpo o fragmento inmunológicamente funcional puede incluir dos cadenas pesadas H1 y dos cadenas livianas L1, o dos cadenas pesadas H2 y dos cadenas livianas L2, o dos cadenas pesadas H3 y dos cadenas livianas L3 y otras combinaciones similares de pares de cadenas livianas y pares de cadenas pesadas como se detalla en la Tabla 1.

Otras proteínas de unión a antígeno que se proporcionan son variantes de anticuerpos formados por combinación de las cadenas pesada y liviana mostradas en la TABLA 1 y comprenden cadenas livianas y/o pesadas que tienen al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97% o 99% de identidad con las secuencias de aminoácidos de estas cadenas. En algunos casos, tales anticuerpos incluyen al menos una cadena pesada y una cadena liviana, mientras que en otros casos las formas variantes contienen dos cadenas livianas idénticas y dos cadenas pesadas idénticas.

Dominios Variables de Anticuerpos

También se proporcionan proteínas de unión a antígeno que contienen una región variable de cadena pesada de anticuerpo seleccionada del grupo que consiste en V_{H1}, V_{H2}, V_{H3}, V_{H4}, V_{H5}, V_{H6}, V_{H7}, V_{H8}, V_{H9}, V_{H10}, V_{H11}, V_{H12}, V_{H13}, V_{H14}, V_{H15}, V_{H16}, V_{H17}, V_{H18}, V_{H19}, V_{H20}, V_{H21}, V_{H22}, V_{H23}, V_{H24}, V_{H25}, V_{H26}, V_{H27}, V_{H28}, V_{H29}, V_{H30}, V_{H31}, y V_{H32}, y/o una región variable de cadena liviana de anticuerpo seleccionada de la grupo compuesto por V_{L1}, V_{L2}, V_{L3}, V_{L4}, V_{L5}, V_{L6}, V_{L7}, V_{L8}, V_{L9}, V_{L10}, V_{L11}, V_{L12}, V_{L13}, V_{L14}, V_{L15}, V_{L16}, V_{L17}, V_{L18}, V_{L19}, V_{L20}, V_{L21}, V_{L22}, V_{L23}, V_{L24}, V_{L25}, V_{L26}, V_{L27}, V_{L28}, V_{L29}, V_{L30}, V_{L31}, V_{L32}, V_{L33}, y V_{L34}, como se muestra en la Tabla 2 a continuación, y fragmentos, derivados, muteínas y variantes inmunológicamente funcionales de estas regiones variables de cadena liviana y cadena pesada.

Se proporcionan alineaciones de secuencia de las diversas regiones variables de cadena pesada y liviana, respectivamente, en las Figuras 1A y 1B.

ES 2 650 224 T3

Las proteínas de unión a antígeno de este tipo generalmente se pueden designar con la fórmula "V_{Hx}/V_{Ly}", donde "x" corresponde al número de regiones variables de cadena pesada e "y" corresponde al número de regiones variables de cadena liviana (en general, x e y son cada uno 1 o 2) como se detalla en la Tabla 2:

Tabla 2: Cadenas V_H y V_L de ejemplo

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|-----------------|-----------------|------------|---|
| H1 109 1N1G1 | V _{H1} | 70 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTAYMHWVRQAPGQGLE WMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLSDDTAV YYCARGGYSYDLGYYYGMDVWGQGTITVTVSS |
| H113 1N1G1 | V _{H2} | 71 | QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGGYYWSWIRQPPGKGL EWIGYIYSGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYC AAGIAATGTLFDCWGGQGLTVTVSS |
| H1 131 1N1G1 | V _{H3} | 72 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYIHWVRQAPGQGLEW MGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLSDDTAVYY CARDRGQLWLWYYYYYGMVWGQGTITVTVSS |
| H1 134 1N1G1 | V _{H4} | 73 | QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWDGNSKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCASSWSYSGMDVWGQGTITVTVSS |
| H1 143 1N1G1 | V _{H5} | 74 | EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTVSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDNAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAV YYCTTGGSLLTGPNYYYYYGMVWGQGTITVTVSS |
| H1 144 1N1G1 | V _{H6} | 75 | EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAV YYCTTEYYGSGGVWYGMVWGQGTITVTVSS |
| H1 16 1N1G1 | V _{H7} | 76 | EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGWTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTA VYYCTDLRITGTYYYYYYGMVWGQGTITVTVSS |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|---------------|-------------------|------------|--|
| H1 2 1N1G1 | V _H 8 | 77 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEW MGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYY CARESWFGEVFFDYWGQGLTVTVSS |
| H1 26 1N1G1 | V _H 9 | 78 | EVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAV YYCTTEYYGSGGVWYYGMDVWGQGTTVTVSS |
| H127 1N1G1 | V _H 10 | 79 | EVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAV YYCTTDGATVTPGYYYYGTDVWGQGTTVTVSS |
| H1 30 1N1G1 | V _H 11 | 80 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEW MGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYY CARESWFGEVFFDYWGQGLTVTVSS |
| H1 33-1 1N1G1 | V _H 12 | 81 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHVWRQAPGQGLE WMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELRSLRSDDTAF YYCARDSNWWYHNWFDWPWGQGLTVTVSS |
| H1 33 1N1G1 | V _H 13 | 82 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHVWRQAPGQGLE WMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELRSLRSDDTAF YYCARDSNWWYHNWFDWPWGQGLTVTVSS |
| H134 1N1G1 | V _H 14 | 83 | EVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAV YYCTTDGATVTPGYYYYGTDVWGQGTTVTVSS |
| H1 39 1N1G1 | V _H 15 | 84 | EVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTADYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAV YYCTTEGPYSDYGYYYYGMDVWGQGTTVTVSS |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|-------------|-----------------------|------------|---|
| H142 1N1G1 | V _H 16 | 85 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEW MGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYY CARESWFGEVFFDYWGQGLTVTVSS |
| H164 1N1G1 | V _H 17 | 86 | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMHWVRQATGKGLEW VSGIGTAGDTYYPGSVKGRFNISRENAKNSLYLQMNSLRAGDTAVYYC AREGSWYGFYWGQGLTVTVSS |
| H166 1N1G1 | V _H 18 | 87 | QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWDGDSNEYYADSVKGRFTISRDNKSTLYLQMNSLRAEDTAVY YCAHSSGNYYDMDVWGQGTITVTVSS |
| H1 1N1G1 | 72 V _H 19 | 88 | EVQLVESGGGLVEPPGSLRLSCAASGFTFSTAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKNEDTAV YYCTTEGPYSNYGYYYYGVDVWGQGTITVTVSS |
| H2103 1N1G2 | V _H 20 | 89 | EVQLVESGGGLVKPPGSLRLSCAASGFTFNNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAV YYCTTEYYHILTGsfYYSYGMVWGQGTITVTVSS |
| H1 1N1G1 | 90 V _H 21 | 90 | QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWDGDSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCASSSNFYDMDVWGQGTITVTVSS |
| H2131 1N1G2 | V _H 22 | 91 | QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISNYYWSWIRQSAGKGLEWI GRIYTSGSTHYNPSLKSRIIMSVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARD RVFYGMVWGQGTITVTVSS |
| H2 1N1G2 | 291 V _H 23 | 92 | QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWDGDSYKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCAREGDYSDYYGMDVWGQGTITVTVSS |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|--------------------|-------------------|------------|--|
| H2 360 1N1G2 | V _H 24 | 93 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLTELSMHWVRQAPGKGLEW MGGFDPEDGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDVYMELSSLRSEDVAVYY CATGVMITFGGVIVGHSYYGMDVWGQGTTVTVSS |
| H2 360 1N1G2 SM | V _H 25 | 94 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLTELSMHWVRQAPGKGLEW MGGFDPEDGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDVYMELSSLRSEDVAVYY CATGVMITFGGVIVGHSYYGMDVWGQGTTVTVSS |
| H2 369 1N1G2 | V _H 26 | 95 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLTELSMHWVRQAPGKGLEW MGGFDPEDGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDVYMELSSLRSEDVAVYY CATRAGTTLAYYYYAMDVWGQGTTVTVSS |
| H2 380 1N1G2 | V _H 27 | 96 | QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWI GYIYSGNTNYPNPSLKSRLTSLDTSKNQFSLRSLSSVTAADTAVYYCACI ATRPFDYWGQGLTVTVSS |
| H2475 1N1G2 | V _H 28 | 97 | QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFISYGMHWVRQAPGKGLEW VAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ADSSGDYYGMDVWGQGTTVTVSS |
| H2 508 1N1G2 | V _H 29 | 98 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLTELSMHWVRQAPGKGLEW MGGFDPEDGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDVYMELSSLRSEDVAVYY CATAGLEIRWFDPWGQGLTVTVSS |
| H2 534 1N1G2 | V _H 30 | 99 | QVQLQESGPGLVKPSQTLTSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLE WIGYISYSGDTYYNPSLKSRLTISVDTSKHQFSLRSLSSVTSADTAVYYCA SLDLYGDYFDYWGQGLTVTVSS |
| H2 550 1N1G2 | V _H 31 | 100 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTLTSYGISWVRQAPGQGLEW MGWISAYNGNPNYAQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYY CARDQGLLGFGELEGLFDYWGQGLTVTVSS |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|-------------------|-------------------|------------|--|
| H2 65 1N1G2 | V _H 32 | 101 | EVQLVESGGGLV _K PGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLE WVGRIKTKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSQNTLYLQMNSLKTEDTAV YYCTTEYYGIVTGSFY _Y Y _Y Y _Y Y _Y Y _Y GMDVWVGQGT _T VTVSS |
| H1 109 1N1K | V _L 1 | 102 | DIQMTQSPSSLSASV _G DRVTITCQASQ _N ISN _F LDWYQ _Q KPGKAP _N LLIY DASDLDPGVPSRFSGSGSGTDFTFTIS _S LQ _P EDIATYYCQ _Q YV _S LPLTF GGG _T KVEIK |
| H1 109 1N1K SM | V _L 2 | 103 | DIQMTQSPSSLSASV _G DRVTITCQASQ _D ISN _F LDWYQ _Q KPGKAP _K LLIY DASDLDPGVPSRFSGSGSGTDFTFTIS _S LQ _P EDIATYYCQ _Q YV _S LPLTF GGG _T KVEIK |
| H1 131 1N1K | V _L 3 | 104 | DNVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQ _S LLHSDGKTYLYWYLQKPGQP PQLLIYEASNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTL _K ISRVEAEDVGVYYCMQSI QLPLTFGGG _T KVEIK |
| H1 134 1N1K | V _L 4 | 105 | DIQMTQSPSSLSASV _G DRVTITCQASQ _D IN _N YLNWYQ _Q KPGKAP _K LLIY DASNLEIGVPSRFSGSGSGTDFTF _I TIS _S LQ _P EDIATYYCQ _Q YDN _F PF _T FG GG _T KVEIK |
| H1 143 1N1K | V _L 5 | 106 | DIQMTQSPSSLSASV _G DRVTITCQASQ _D IN _N YLNWYQ _Q KPGKAP _K LLIY DTSNLEPGVPSRFSGSGSGTDFTF _I TIS _S LQ _P EDIATYYCQ _Q YDN _L LTFG QG _T RLEIK |
| H1 144 1N1K | V _L 6 | 107 | DIQMTQSPSSLSASV _G DRVTITCQASQ _D IS _N YLNWYQ _H KPGKAP _K LLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTF _I TIS _S LQ _P EDIATYYCQ _Q YDN _L LTFG GG _T KVEIK |
| H1 16 1N1K | V _L 7 | 108 | DIQMTQSPSSLSASV _G DRVTITCQASQ _D IS _N YLNWYQ _Q KPGKAP _K FLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTF _I TIS _S LQ _P EDIATYYCQ _Q YDN _L LITFG G _T RLEIK |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|-----------------|-------------------|------------|---|
| H1 21N1K | V _L 8 | 109 | DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLDSSDNKNYLAWYQQKPGQ PPKLLIYWASNRESGVPDRFSGSGSGTDFSLTISSLQAEDVAVYYCQQY YSDPFTFGPGTKVDIK |
| H121N1K SM | V _L 9 | 110 | DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLDSSDNKNYLAWYQQKPGQ PPKLLIYWASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQY YSDPFTFGPGTKVDIK |
| H1 27 1N1K | V _L 10 | 111 | DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLITFG GGTKVEIK |
| H1 30 1N1K | V _L 11 | 112 | DIVMTQSPDSLAVSLGERATIDCKSSQGVLDSSNNKNFLAWYQQKPGQ PPKLLIYWASNRESGVPVRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVALYYCQQY YSDPFTFGPGTKVDIK |
| H1 33-1 1N1K | V _L 12 | 113 | DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQISDYLNWYQQKPGKAPNLLIY AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQTYSDPFTF GPGTKVDIK |
| H1341N1K | V _L 13 | 114 | DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLITFG GGTKVEIK |
| H1 391N1K | V _L 14 | 115 | DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLII DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLITFG GGTKVEIK |
| H1 42 1N1K | V _L 15 | 116 | DIVMTQSPDSLAVSLGERATIDCKSSQSVLDSSNNKNFLAWYQQKPGQ PPKLLIYWASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQY YSDPFTFGPGTKVDIK |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|-------------------|-------------------|------------|--|
| H1641N1K | V _L 16 | 117 | EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSGYLAYLAWYQQKPGQAP RLLIYGASSTATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSS PITFGQGTRLEIK |
| H1 66 1N1K | V _L 17 | 118 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDISNFLNHWYQQRPGKAPKLLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLPTF GPGTKVDIK |
| H1 72 1N1K | V _L 18 | 119 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDISNYLNHWYQQKPGKAPKLLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDFATYYCQQYDNLFTG GGTKVEIK |
| H1 90 1N1K | V _L 19 | 120 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDISNYLNHWYQQKPGKAPKLLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQRYDDLPTFG QGTRLEIK |
| H2103 1N1K | V _L 20 | 121 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDISNYLNHWYQQRPGKAPKLLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLFTG GGTKVEIK |
| H2131 1N1K | V _L 21 | 122 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGFSNYLAWYQQKPGKVPKLLIY AASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDVATYYCQKYNSAPLTF GGGTKVEIK |
| H2 360 1N1K | V _L 22 | 123 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGINNYLAWYQQKPGKVPQLLIY VASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDVATYYCQKYNSGPFTF GPGTKVDIK |
| H2 360 1N1K SM | V _L 23 | 124 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGINNYLAWYQQKPGKVPKLLIY VASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDVATYYCQKYNSGPFTF GPGTKVDIK |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|-------------|-------------------|------------|---|
| H2 369 1N1K | V _L 24 | 125 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQISRYLNWYQQKPGKAPNLLIH AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQSYITPPSF GQGTKLEIK |
| H2 380 1N1K | V _L 25 | 126 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGIRNDLDWYQQKPGKAPKRLIY AASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTINSLQPEDFATYYCLQYNSYPITFG QGTRLEIK |
| H2 475 1N1K | V _L 26 | 127 | DIQMIQSPSSLSASVGDRVITICQASHDISNYLNWYQQKPGKAPKFLISD ASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLPLTFG GGTKVEIK |
| H2 508 1N1K | V _L 27 | 128 | DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSP QFLIYLGSIASGVPSRFSGSGSGTDFALTISRVEAEDVGVYYCMQALQ TPRTFGQGTKVEIK |
| H2 534 1N1K | V _L 28 | 129 | EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQYIGSSLHWYQQTPDQSPKLLINY VSQSFSGVPSRFSGSGSGTDFLTINSLEAEDAATYYCHQSSSLPFTFG PGTKVDIK |
| H2 550 1N1K | V _L 29 | 130 | DIVMTQSPDSLAVSLGARATISCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFLTISTLQAEDVAVYYCQQY YTPPTFGQGTKVEIK |
| H2 65 1N1K | V _L 30 | 131 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICQASQDINNYLNWYQQKPGKAPKLLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLPLTFG GGTKVEIK |
| H1 131N1K | V _L 31 | 132 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTIISLQPEDFATYYCQQFDNLPTFG GGTKVESK |

| Referencia | Designación | SEQ ID NO. | Secuencia de aminoácidos |
|-----------------------|-------------------|------------|--|
| H1 261N1K | V _L 32 | 133 | DIQMTQSPSSLSASVGVDRVITTCQASQDISNYLNWYQHKPGKAPKLLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLITFG GGTKVEIK |
| H1 13H1 13 1NVK2KK | V _L 33 | 134 | DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGNTYLNWFQQRPGQS PRRLIYKVSNWDSGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQG THWPRGLFTFGPGTKVDIK |
| H1 26H1 26 1NVK2KK | V _L 34 | 135 | DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGNTYLNWFQQRPGQS PRRLIYKVSNWDSGVPDRFNGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQG THWPITFGQGTGLEIK |

Cada una de las regiones variables de cadena pesada listadas en la Tabla 2 puede combinarse con cualquiera de las regiones variables de cadena liviana mostradas en la Tabla 2 para formar una proteína de unión a antígeno. Ejemplos de tales combinaciones incluyen V_H1 combinado con cualquiera de V_L1, V_L2, V_L3, V_L4, V_L5, V_L6, V_L7, V_L8, V_L9, V_L10, V_L11, V_L12, V_L13, V_L14, V_L15, V_L16, V_L17, V_L18, V_L19, V_L20, V_L21, V_L22, V_L23, V_L24, V_L25, V_L26, V_L27, V_L28, V_L29, V_L30, V_L31, V_L32, V_L33, o V_L34; V_H2 combinado con cualquiera de V_L1, V_L2, V_L3, V_L4, V_L5, V_L6, V_L7, V_L8, V_L9, V_L10, V_L11, V_L12, V_L13, V_L14, V_L15, V_L16, V_L17, V_L18, V_L19, V_L20, V_L21, V_L22, V_L23, V_L24, V_L25, V_L26, V_L27, V_L28, V_L29, o V_L30, o V_H3 combinados con cualquiera de V_L1, V_L2, V_L3, V_L4, V_L5, V_L6, V_L7, V_L8, V_L9, V_L10, V_L11, V_L12, V_L13, V_L14, V_L15, V_L16, V_L17, V_L18, V_L19, V_L20, V_L21, V_L22, V_L23, V_L24, V_L25, V_L26, V_L27, V_L28, V_L29, V_L30, V_L31, V_L32, V_L33, o V_L34, y así sucesivamente.

En algunos casos, la proteína de unión a antígeno incluye al menos una región variable de cadena pesada y/o una región variable de cadena liviana de las enumeradas en la Tabla 2. En algunos casos, la proteína de unión a antígeno incluye al menos dos variables de cadena pesada diferentes regiones variables y/o de cadena liviana de las enumeradas en la Tabla 2. Un ejemplo de dicha proteína de unión a antígeno comprende (a) un V_H1, y (b) uno de V_H2, V_H3, V_H4, V_H5, V_H6, V_H7, V_H8, V_H9, V_H10, V_H11, V_H12, V_H13, V_H14, V_H15, V_H16, V_H17, V_H18, V_H19, V_H20, V_H21, V_H22, V_H23, V_H24, V_H25, V_H26, V_H27, V_H28, V_H29, V_H30, V_H31, o V_H32. Otro ejemplo comprende (a) un V_H2 y (b) uno de V_H1, V_H3, V_H4, V_H5, V_H6, V_H7, V_H8, V_H9, V_H10, V_H11, V_H12, V_H13, V_H14, V_H15, V_H16, V_H17, V_H18, V_H19, V_H20, V_H21, V_H22, V_H23, V_H24, V_H25, V_H26, V_H27, V_H28, V_H29, V_H30, V_H31, o V_H32. De nuevo otro ejemplo comprende (a) un V_H3, y (b) uno de V_H1, V_H2, V_H4, V_H5, V_H6, V_H7, V_H8, V_H9, V_H10, V_H11, V_H12, V_H13, V_H14, V_H15, V_H16, V_H17, V_H18, V_H19, V_H20, V_H21, V_H22, V_H23, V_H24, V_H25, V_H26, V_H27, V_H28, V_H29, V_H30, V_H31, o V_H32 etc.

De nuevo, otro ejemplo de dicha proteína de unión a antígeno comprende (a) un V_L1 y (b) uno de V_L2, V_L3, V_L4, V_L5, V_L6, V_L7, V_L8, V_L9, V_L10, V_L11, V_L12, V_L13, V_L14, V_L15, V_L16, V_L17, V_L18, V_L19, V_L20, V_L21, V_L22, V_L23, V_L24, V_L25, V_L26, V_L27, V_L28, V_L29, V_L30, V_L31, V_L32, V_L33, o V_L34. De nuevo, otro ejemplo de dicha proteína de unión a antígeno comprende (a) un V_L2 y (b) uno de V_L1, V_L3, V_L4, V_L5, V_L6, V_L7, V_L8, V_L9, V_L10, V_L11, V_L12, V_L13, V_L14, V_L15, V_L16, V_L17, V_L18, V_L19, V_L20, V_L21, V_L22, V_L23, V_L24, V_L25, V_L26, V_L27, V_L28, V_L29, V_L30, V_L31, V_L32, V_L33, y V_L34. De nuevo, otro ejemplo de dicha proteína de unión a antígeno comprende (a) un V_L3 y (b) uno de V_L1, V_L2, V_L4, V_L5, V_L6, V_L7, V_L8, V_L9, V_L10, V_L11, V_L12, V_L13, V_L14, V_L15, V_L16, V_L17, V_L18, V_L19, V_L20, V_L21, V_L22, V_L23, V_L24, V_L25, V_L26, V_L27, V_L28, V_L29, V_L30, V_L31, V_L32, V_L33, o V_L34, etc.

Las diversas combinaciones de regiones variables de cadena pesada se pueden combinar con cualquiera de las diversas combinaciones de regiones variables de cadena liviana.

En otros casos, la proteína de unión a antígeno contiene dos regiones variables de cadena liviana idénticas y/o dos regiones variables de cadena pesada idénticas. Como ejemplo, la proteína de unión a antígeno puede ser un anticuerpo o fragmento inmunológicamente funcional que incluye dos regiones variables de cadena liviana y dos regiones variables de cadena pesada en combinaciones de pares de regiones variables de cadena liviana y pares de regiones variables de cadena pesada enumeradas en la Tabla 2.

5 Algunas proteínas de unión a antígeno que se proporcionan comprenden un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la secuencia de un dominio variable de cadena pesada seleccionado de V_{H1}, V_{H2}, V_{H3}, V_{H4}, V_{H5}, V_{H6}, V_{H7}, V_{H8}, V_{H9}, V_{H10}, V_{H11}, V_{H12}, V_{H13}, V_{H14}, V_{H15}, V_{H16}, V_{H17}, V_{H18}, V_{H19}, V_{H20}, V_{H21}, V_{H22}, V_{H23}, V_{H24}, V_{H25}, V_{H26}, V_{H27}, V_{H28}, V_{H29}, V_{H30}, V_{H31}, y V_{H32} a solo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 residuos de aminoácidos, en donde cada una de tales diferencias de secuencia es independientemente una eliminación, inserción o sustitución de un aminoácido, con eliminaciones, inserciones y/o sustituciones que dan como resultado no más de 15 cambios de aminoácidos con respecto a las secuencias de dominio variable anteriores. La región variable de la cadena pesada en algunas proteínas de unión a antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97% o 99% de identidad de secuencia con las secuencias de aminoácidos de la región variable de cadena pesada de V_{H1}, V_{H2}, V_{H3}, V_{H4}, V_{H5}, V_{H6}, V_{H7}, V_{H8}, V_{H9}, V_{H10}, V_{H11}, V_{H12}, V_{H13}, V_{H14}, V_{H15}, V_{H16}, V_{H17}, V_{H18}, V_{H19}, V_{H20}, V_{H21}, V_{H22}, V_{H23}, V_{H24}, V_{H25}, V_{H26}, V_{H27}, V_{H28}, V_{H29}, V_{H30}, V_{H31}, y V_{H32}.

15 Ciertas proteínas de unión a antígeno comprenden un dominio variable de cadena liviana que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la secuencia de un dominio variable de cadena liviana seleccionado de V_{L1}, V_{L2}, V_{L3}, V_{L4}, V_{L5}, V_{L6}, V_{L7}, V_{L8}, V_{L9}, V_{L10}, V_{L11}, V_{L12}, V_{L13}, V_{L14}, V_{L15}, V_{L16}, V_{L17}, V_{L18}, V_{L19}, V_{L20}, V_{L21}, V_{L22}, V_{L23}, V_{L24}, V_{L25}, V_{L26}, V_{L27}, V_{L28}, V_{L29}, V_{L30}, V_{L31}, V_{L32}, V_{L33}, o V_{L34} en solo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 residuos de aminoácidos, en donde cada una de tales diferencias de secuencia es independientemente una eliminación, inserción o sustitución de un aminoácido, con las eliminaciones, inserciones y/o sustituciones que dan como resultado no más de 15 cambios de aminoácidos con respecto a las secuencias de dominio variable anteriores. La región variable de la cadena liviana en algunas proteínas de unión a antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97% o 99% de identidad de secuencia con las secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena liviana de V_{L1}, V_{L2}, V_{L3}, V_{L4}, V_{L5}, V_{L6}, V_{L7}, V_{L8}, V_{L9}, V_{L10}, V_{L11}, V_{L12}, V_{L13}, V_{L14}, V_{L15}, V_{L16}, V_{L17}, V_{L18}, V_{L19}, V_{L20}, V_{L21}, V_{L22}, V_{L23}, V_{L24}, V_{L25}, V_{L26}, V_{L27}, V_{L28}, V_{L29}, V_{L30}, V_{L31}, V_{L32}, V_{L33}, o V_{L34}.

25 Todavía otras proteínas de unión a antígeno, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos inmunológicamente funcionales, incluyen formas variantes de una cadena pesada variante y una cadena liviana variante como se acaba de describir.

CDR

30 Las proteínas de unión a antígeno descritas en este documento son polipéptidos en los que se injertan, insertan y/o unen una o más CDR. Una proteína de unión a antígeno puede tener 1, 2, 3, 4, 5 o 6 CDR. Una proteína de unión a antígeno puede tener, por ejemplo, una CDR1 de cadena pesada ("CDRH1") y/o una CDR2 de cadena pesada ("CDRH2"), y/o una CDR3 de cadena pesada ("CDRH3"), y/o una CDR1 de cadena liviana ("CDRL1"), y/o una CDR2 de cadena liviana ("CDRL2"), y/o una CDR3 de cadena liviana ("CDRL3"). Algunas proteínas de unión a antígeno incluyen tanto una CDRH3 como una CDRL3. Las CDR de cadena pesada y liviana específicas se identifican en las Tablas 3A y 3B, respectivamente.

40 Las regiones determinantes de la complementariedad (CDR) y las regiones marco (FR) de un anticuerpo dado pueden identificarse usando el sistema descrito por Kabat et al., en Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos, PHS, NIH, NIH Publication no. 91-3242, 1991. Ciertos anticuerpos que se describen en la presente comprenden una o más secuencias de aminoácidos que son idénticas o tienen una identidad de secuencia sustancial con las secuencias de aminoácidos de una o más de las CDR presentadas en la Tabla 3A (CDRH) y la Tabla 3B (CDRL).

Tabla 3A: Secuencias de CDRH de ejemplo

| Contenido en referencia | Designación | Secuencia de aminoácidos/SEQ ID NO. |
|---|-------------|-------------------------------------|
| H1131N1G1; H2 5341NG2 | CDRH 1-1 | SGGYWS [SEQ ID NO:136] |
| H1 26 1N1G1; H1 143 1N1G1; H1 144 1N1G1; H1 391N1G1; H2 103 1N1G2; H2 65 1N1G2; H1 16 1N1G1; H1 34 1N1G1; H1 27 1N1G1 | CDRH 1-2 | NAWMS [SEQ ID NO:137] |
| H1 72 1N1G1 | CDRH 1-3 | TAWMS [SEQ ID NO:138] |
| H1 33 1N1G1; H1 331 1N1G1 | CDRH 1-4 | GYMH [SEQ ID NO:139] |
| H1 109 1N1G1 | CDRH 1-5 | AYYMH [SEQ ID NO:140] |

ES 2 650 224 T3

| Contenido en referencia | Designación | Secuencia de aminoácidos/SEQ ID NO. |
|--|-------------|-------------------------------------|
| H1 4 1N1G1 | CDRH 1-6 | SYDMH [SEQ ID NO:141] |
| H2 369 1N1G2; H2 508 1N1G2; H2 360 1N1G2 | CDRH 1-7 | ELSMH [SEQ ID NO:142] |
| H2 475 1N1G2; H1 66 1N1G1; H1 90 1N1G1; H1 134 1N1G1; H2 291 1N1G2 | CDRH 1-8 | SYGMH [SEQ ID NO:143] |
| H2 380 1n1g2 | CDRH 1-9 | SYYWS [SEQ ID NO:144] |
| H2 131 1N1G2 | CDRH 1-10 | NYYSWS [SEQ ID NO:145] |
| H1 131 1N1G1 | CDRH 1-11 | GYIYH [SEQ ID NO:146] |
| H2 550 1N1G2; H1 21N1G1; H1 30 1N1G1; H1 42 1N1G1 | CDRH 1-12 | SYGIS [SEQ ID NO:147] |
| H1 13 1N1G1 | CDRH 2-1 | YIYYSGSTNYNPSLKS [SEQ ID NO:148] |
| H2 534 1N1G2 | CDRH 2-2 | YISYSGDTYYNPSLKS [SEQ ID NO:149] |
| H1 26 1N1G1; H1 144 1N1G1; H2 103 1N1G2; H1 72 1N1G1; H1 34 1N1G1; H1 27 1N1G1 | CDRH 2-3 | RIKSKTDGGTTDYAAPVKG [SEQ ID NO:150] |
| H1 143 1N1G1 | CDRH 2-4 | RIKSKTDGGTTDNAAPVKG [SEQ ID NO:151] |
| H1 39 1N1G1 | CDRH 2-5 | RIKSKTDGGTADYAAPVKG [SEQ ID NO:152] |
| H2 65 1N1G2 | CDRH 2-6 | RIKTKTDGGTTDYAAPVKG [SEQ ID NO:153] |
| H1 16 1N1G1 | CDRH 2-7 | RIKSKTDGWTTDYAAPVKG [SEQ ID NO:154] |
| H1 33 1N1G1; H1 33 1 1N1G1; H1 109 1N1G1; H1 131 1N1G1 | CDRH 2-8 | WINPNSGGTNYAQKFQG [SEQ ID NO:155] |
| H1 4 1N1G1 | CDRH 2-9 | GIGTAGDTYYPGSVKG [SEQ ID NO:156] |
| H2 369 1N1G2; H2 508 1N1G2; H2 360 1N1G2 | CDRH 2-10 | GFDPEDGETIYAQKFQG [SEQ ID NO:157] |
| H2 475 1N1G2; H1 90 1N1G1; H1 134 1N1G1 | CDRH 2-11 | VIWYDGSNKYYADSVKG [SEQ ID NO:158] |
| H2 380 1N1G2 | CDRH 2-12 | YIYYSGNTNYNPSLKS [SEQ ID NO:159] |

ES 2 650 224 T3

| Contenido en referencia | Designación | Secuencia de aminoácidos/SEQ ID NO. |
|--------------------------------------|-------------|-------------------------------------|
| H1 66 1N1G1 | CDRH 2-13 | VIWYDGSNEYADSVKG [SEQ ID NO:160] |
| H2 131 1N1G2 | CDRH 2-14 | RIYTSGSTHYNPSLKS [SEQ ID NO:161] |
| H2 291 1N1G2 | CDRH 2-15 | VIWYDGSYKYYADSVKG [SEQ ID NO:162] |
| H1 2 1N1G1; H1 30 1N1G1; H1 42 1N1G1 | CDRH 2-16 | WISAYNGNTNYAQLQG [SEQ ID NO:163] |
| H2 550 1N1G2 | CDRH 2-17 | WISAYNGNPNYAQKFQG [SEQ ID NO:164] |
| H1 13 1N1G1 | CDRH 3-1 | GIAATGTLFDC [SEQ ID NO:165] |
| H1 26 1N1G1; H1 144 1N1G1 | CDRH 3-2 | EYYGSGGVWYYGMDV [SEQ ID NO:166] |
| H1 143 1N1G1 | CDRH 3-3 | GGSLWTGPNYYYYGMDV [SEQ ID NO:167] |
| H1 33 1N1G1; H1 331 1N1G1 | CDRH 3-4 | DSNWHNWFDP [SEQ ID NO:168] |
| H1 10 91N1G1 | CDRH 3-5 | GGYSGYDLGYYYGMDV [SEQ ID NO:169] |
| H1 39 1N1G1 | CDRH 3-6 | EGPYSDYGYYYYGMDV [SEQ ID NO:170] |
| H1 534 1N1G1 | CDRH 3-7 | LDLYGDYFDY [SEQ ID NO:171] |
| H1 4 1N1G1 | CDRH 3-8 | EGSWYGFY [SEQ ID NO:172] |
| H1 103 1N1G1 | CDRH 3-9 | EYYHILTGsfYYSYYGMDV [SEQ ID NO:173] |
| H2 65 1N1G2 | CDRH 3-10 | EYYGIVTGSfYYYYYGMDV [SEQ ID NO:174] |
| H2 369 1N1G2 | CDRH 3-11 | RAGTTLAYYYYAMDV [SEQ ID NO:175] |
| H2 508 1N1G2 | CDRH 3-12 | AGLEIRWFDP [SEQ ID NO:176] |
| H2 475 1N1G2 | CDRH 3-13 | SSGDYYGMDV [SEQ ID NO:177] |
| H2 380 1N1 G2 | CDRH 3-14 | IATRPFDY [SEQ ID NO:178] |

ES 2 650 224 T3

| Contenido en referencia | Designación | Secuencia de aminoácidos/SEQ ID NO. |
|--------------------------------------|-------------|--------------------------------------|
| H2 131 1N1G2 | CDRH 3-15 | DRVFYGMDV [SEQ ID NO:179] |
| H2 291 1N1G2 | CDRH 3-16 | EGDYSDYYGMDV [SEQ ID NO:180] |
| H1 131 1N1G1 | CDRH 3-17 | DRGQLWLWYYYYYGMDV [SEQ ID NO:181] |
| H1 66 1N1G1 | CDRH 3-18 | SSGNYYDMDV [SEQ ID NO:182] |
| H1 90 1N1G1 | CDRH 3-19 | SSSNFYDMDV [SEQ ID NO:183] |
| H1 16 1N1G1 | CDRH 3-20 | DLRITGTTYYYYYYGMDV [SEQ ID NO:184] |
| H2 550 1N1G2 | CDRH 3-21 | DQQLLGFGELEGLFDY [SEQ ID NO:185] |
| H1 2 1N1G1; H1 30 1N1G1; H1 42 1N1G1 | CDRH 3-22 | ESWFGVEFFDY [SEQ ID NO:186] |
| H2 360 1N1G2 | CDRH 3-23 | GVMITFGGVIVGHSYYGMDV [SEQ ID NO:187] |
| H1 72 1N1G1 | CDRH 3-24 | EGPYSNYGYYYYGVDV [SEQ ID NO:188] |
| H1 34 1N1G1; H1 27 1N1G1 | CDRH 3-25 | DGATVVTPGYYYYYGTDV [SEQ ID NO:189] |
| H1 1341N1G1 | CDRH 3-26 | SSWSYYGMDV [SEQ ID NO:190] |

TABLA 3B: Secuencias de CDRL de ejemplo

| Contenido en referencia | Designación | Secuencia de aminoácidos/SEQ ID NO. |
|---------------------------------------|-------------|-------------------------------------|
| H1 26H1 26 1VK2KK; H1 13H1 13 1NVK2KK | CDRL1-1 | RSSQSLVYSDGNTYLN [SEQ ID NO:191] |
| H1 331 1N1K | CDRL1-2 | RASQISDYLN [SEQ ID NO:192] |
| H1 2 1N1K | CDRL1-3 | KSSQSVLDSSDNKNYLA [SEQ ID NO:193] |
| H1 42 1N1K | CDRL1-0 | KSSQSVLDSSNNKNFLA [SEQ ID NO:194] |

ES 2 650 224 T3

| Contenido en referencia | Designación | Secuencia de aminoácidos/SEQ ID NO. |
|--|-------------|-------------------------------------|
| H1 30 1N1K | CDRL1-5 | KSSQGVLDSSNNKNFLA [SEQ ID NO:195] |
| H2 369 1N1K | CDRL1-6 | RASQISRYLN [SEQ ID NO:196] |
| H1 131 1N1K | CDRL1-7 | KSSQLLSDGKTYLY [SEQ ID NO:197] |
| H1 16 1N1K; H1 90 1N1K; H1 34 1N1K; H1 72 1N1K; H2 103 1N1K; H1 271N1K; H1 144 1N1K; H1 39 1N1K; H1 131N1K; H1 26 1N1K | CDRL1-8 | QASQDISNYLN [SEQ ID NO:198] |
| H1 143 1N1K; H2651N1K; H1 134 1N1K | CDRL1-9 | QASQDINNYLN [SEQ ID NO:199] |
| H2 475 1N1K | CDRL1-10 | QASHDISNYLN [SEQ ID NO:200] |
| H1 109 1N1K | CDRL1-11 | QASQNISNFLD [SEQ ID NO:201] |
| H1 109 1N1K SM | CDRL1-12 | QASQDISNFLD [SEQ ID NO:202] |
| H1 661N1K | CDRL1-13 | QASQDISNFLN [SEQ ID NO:203] |
| H2 550 1N1K | CDRL1-14 | KSSQSVLYSSNNKNYLA [SEQ ID NO:204] |
| H2131 1N1K | CDRL1-15 | RASQGFSNYLA [SEQ ID NO:205] |
| H2 360 1N1K | CDRL1-16 | RASQGGINNYLA [SEQ ID NO:206] |
| H2 508 1N1K | CDRL1-17 | RSSQLLHSGNYLD [SEQ ID NO:207] |
| H2 534 1N1K | CDRL1-18 | RASQYIGSSLH [SEQ ID NO:208] |
| H1 64 1N1K | CDRL1-19 | RASQSVSSGYLAYLA [SEQ ID NO:209] |
| H2 380 1N1K | CDRL1-20 | RASQGIRNDLD [SEQ ID NO:210] |
| H1 26H1 26 1NVK2KK; H1 13H1 13 1NVK2KK | CDRL2-1 | KVSNWDS [SEQ ID NO:211] |
| H1 331 1N1K; H2 369 1N1K; H2 380 1N1K | CDRL2-2 | AASSLQS [SEQ ID NO:212] |

ES 2 650 224 T3

| Contenido en referencia | Designación | Secuencia de aminoácidos/SEQ ID NO. |
|--|-------------|-------------------------------------|
| H2 550 1N1K | CDRL2-3 | WASTRES [SEQ ID NO:213] |
| H1 2 1N1K; H1 42 1N1K; H1 30 1N1K | CDRL2-4 | WASNRES [SEQ ID NO:214] |
| H1 131 1N1K | CDRL2-5 | EASNRFS [SEQ ID NO:215] |
| H1 16 1N1K; H1 90 1N1K; H1 34 1N1K; H2 65 1N1K; H1 72 1N1K; H2 475 1N1K; H2103 1N1K; H1 27 1N1K; H1 144 1N1K; H1 39 1N1K; H1 131N1K; H1 26 1N1K; H1 661N1K | CDRL2-6 | DASNLET [SEQ ID NO:216] |
| H1 143 1N1K | CDRL2-7 | DTSNLEP [SEQ ID NO:217] |
| H1 109 1N1K | CDRL2-8 | DASDLDP [SEQ ID NO:218] |
| H1 134 1N1K | CDRL2-9 | DASNLEI [SEQ ID NO:219] |
| H2 131 1N1K | CDRL2-10 | AASTLQS [SEQ ID NO:220] |
| H2 360 1N1K | CDRL2-11 | VASTLQS [SEQ ID NO:221] |
| H2 534 1N1K | CDRL2-12 | YVSQSFS [SEQ ID NO:222] |
| H1 64 1N1K | CDRL2-13 | GASSTAT [SEQ ID NO:223] |
| h2 508 1NIK | CDRL2-14 | LGSIRAS [SEQ ID NO:224] |
| H1 26H1 26 1NVK2KK | CDRL3-1 | MQGTHWPIT [SEQ ID NO:225] |
| H1 13H1 13 1NVK2KK | CDRL3-2 | MQGTHWPRGLFT [SEQ ID NO:226] |
| H1 331 1N1K | CDRL3-3 | QQTYSDFPT [SEQ ID NO:227] |
| H1 21N1K; H1 42 1N1K; H1 30 1N1K | CDRL3-4 | QQYSDPFT [SEQ ID NO:228] |
| H2 369 1N1K | CDRL3-5 | QQSYITPPS [SEQ ID NO:229] |
| H1 131 1N1K | CDRL3-6 | MQSIOLPLT [SEQ ID NO:230] |
| H1 16 1N1K | CDRL3-7 | QQYDNLIT [SEQ ID NO:231] |
| H1 90 1N1K | CDRL3-8 | QRYDDLPT [SEQ ID NO:232] |
| H1 143 1N1K; H1 34 1N1K; H1 72 1N1K; H2 103 1N1K; H1 27 1N1K; H1 144 1N1K; H1 39 1N1K; H1 26 1N1K | CDRL3-9 | QQYDNLIT [SEQ ID NO:233] |
| H2 65 1N1K | CDRL3-10 | QQYDNLIT [(SEQ ID NO:234] |
| H2 475 1N1K | CDRL3-11 | QQYDNLPLT [SEQ ID NO:235] |

| Contenido en referencia | Designación | Secuencia de aminoácidos/SEQ ID NO. |
|-------------------------|-------------|-------------------------------------|
| H2 109 1N1K | CDRL3-12 | QQYVSLPLT [SEQ ID NO:236] |
| H1 134 1N1K | CDRL3-13 | QQYDNFPFT [SEQ ID NO:237] |
| H1 13 1N1K | CDRL3-14 | QQFDNLPPT [SEQ ID NO:238] |
| H2 550 1N1K | CDRL3-15 | QQYYTTPPT [SEQ ID NO:239] |
| H1 66 1N1K | CDRL3-16 | QQYDNLFPFT [SEQ ID NO:240] |
| H2 131 1N1K | CDRL3-17 | QKYNAPLPT [SEQ ID NO:241] |
| H2 360 1N1K | CDRL3-18 | QKYNNGPFT [SEQ ID NO:242] |
| H2 508 1N1K | CDRL3-19 | MQALQTPRT [SEQ ID NO:243] |
| H2 534 1N1K | CDRL3-20 | HQSSSLPFT [SEQ ID NO:244] |
| H1 64 1N1K | CDRL3-21 | QQYGSSPIT [SEQ ID NO:245] |
| H2 380 1N1K | CDRL3-22 | LQYNSYPIT [SEQ ID NO:246] |

La estructura y propiedades de las CDR dentro de un anticuerpo natural se han descrito, supra. Brevemente, en un anticuerpo tradicional, las CDR están incluidas dentro de un marco en la región variable de la cadena pesada y liviana donde constituyen las regiones responsables de la unión y el reconocimiento del antígeno. Una región variable comprende al menos tres CDR de cadena pesada o liviana, véase, supra (Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Public Health Service N.I.H., Bethesda, MD; véase también Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196: 901-917; Chothia et al., 1989, Nature 342: 877-883), dentro de una región marco (designadas regiones marco 1-4, FR1, FR2, FR3 y FR4, por Kabat et al., 1991, supra; véase también Chothia and Lesk, 1987, supra). Sin embargo, las CDR proporcionadas en el presente documento pueden usarse no solo para definir el dominio de unión a antígeno de una estructura de anticuerpo tradicional, sino que pueden estar incluidas en una variedad de otras estructuras polipeptídicas, como se describe en este documento.

En un aspecto, las CDR proporcionadas son (a) una CDRH seleccionada del grupo que consiste en (i) una CDRH1 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 136-147; (ii) una CDRH2 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 148-164; (iii) una CDRH3 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 165-190; y (iv) una CDRH de (i), (ii) y (iii) que contiene una o más sustituciones, eliminaciones o inserciones de aminoácidos de no más de cinco, cuatro, tres, dos o un aminoácido; (B) una CDRL seleccionado del grupo que consiste en (i) una CDRL1 seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 191-210; (ii) una CDRL2 seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 211-224; (iii) una CDRL3 seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 225-246; y (iv) una CDRL de (i), (ii) y (iii) que contiene una o más sustituciones, eliminaciones o inserciones de aminoácidos de no más de cinco, cuatro, tres, dos o un aminoácidos.

En otro aspecto, una proteína de unión a antígeno incluye formas variantes 1, 2, 3, 4, 5 o 6 de las CDR enumeradas en las Tablas 3A y 3B, cada una con al menos 80%, 85%, 90% o 95% de identidad de secuencia a una secuencia de CDR enumerada en las Tablas 3A y 3B. Algunas proteínas de unión a antígenos incluyen 1, 2, 3, 4, 5 o 6 de las CDR enumeradas en las Tablas 3A y 3B, cada una de las cuales difiere en no más de 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos de las CDR enumeradas en estas tablas.

En otro aspecto más, las CDR descritas en este documento incluyen secuencias consenso derivadas de grupos de anticuerpos monoclonales relacionados. Como se describe en el presente documento, una "secuencia consenso" se refiere a secuencias de aminoácidos que tienen aminoácidos conservados comunes entre varias secuencias y aminoácidos variables que varían dentro de una secuencia de aminoácidos dada. Las secuencias consenso de CDR proporcionadas incluyen CDR correspondientes a cada uno de CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3.

Las secuencias consenso se determinaron usando análisis filogenéticos estándar de las CDR correspondientes a V_H y V_L de anticuerpos anti-c-fms. Las secuencias consenso se determinaron manteniendo las CDR contiguas dentro de la misma secuencia correspondiente a una V_H o V_L . En resumen, las secuencias de aminoácidos correspondientes a los dominios variables completos de V_H o V_L se convirtieron a formato FASTA para facilitar el procesamiento de alineamientos comparativos y deducir filogenias. A continuación, las regiones estructurales de estas secuencias se reemplazaron con una secuencia de enlace artificial ("GGGAAAGGGAAA" (SEQ ID NO: 325)) de modo que el examen de las CDR solo podría realizarse sin introducir ningún sesgo de ponderación de posición de aminoácidos debido a eventos coincidentes (por ejemplo, como los anticuerpos no relacionados que comparten fortuitamente un patrimonio común de la línea germinal) mientras se mantienen las CDR contiguas dentro de la misma secuencia correspondiente a una V_H o V_L . Las secuencias V_H o V_L de este formato se sometieron entonces a interrogación de alineación de similitud de secuencia usando un programa que emplea un algoritmo estándar similar a ClustalW (véase, Thompson et al., 1994, Nucleic Acids Res. 22: 4673-4680). Se empleó una penalización de creación de brecha de 8.0 junto con una penalización de extensión de brecha de 2.0. Este programa también generó filogramas (ilustraciones de árboles filogenéticos) basados en alineamientos de similitud de secuencias usando UPGMA (método de grupo de pares no ponderados usando promedios aritméticos) o métodos de unión de vecinos (véase, Saitou and Nei, 1987, Molecular Biology and Evolution 4: 406-425) para construir e ilustrar la similitud y la distinción de grupos de secuencias a través de la comparación de longitud de rama y agrupamiento. Ambos métodos produjeron resultados similares, pero los árboles derivados de UPGMA se utilizaron en última instancia, ya que el método emplea un conjunto de suposiciones más simples y más conservadoras. Los árboles derivados de UPGMA se muestran en la Figura 2 donde se definieron grupos similares de secuencias que tenían menos de 15 sustituciones por 100 residuos (véase leyenda en ilustraciones de árbol para la escala) entre secuencias individuales dentro del grupo y se usaron para definir colecciones de secuencias consenso.

Como se ilustra en la Figura 2, el análisis de linaje de una variedad de las proteínas de unión a antígeno proporcionadas en este documento dio como resultado tres grupos de clones filogenéticamente relacionados estrechamente, designados como Grupos A, B y C.

Las secuencias consenso de las diversas regiones CDR del Grupo A son:

- a. una CDRH1 de la fórmula genérica GYTX₁TSYGIS (SEQ ID NO: 307), en la que X₁ se selecciona del grupo que consiste en F y L;
- b. una CDRH2 de la fórmula genérica WISAYNGNX₁NYAQKX₂QG (SEQ ID NO: 308), en la que X₁ se selecciona del grupo que consiste en T y P, y X₂ se selecciona del grupo que consiste en L y F;
- c. una CDRH3 de la fórmula genérica X₁X₂X₃X₄X₅FGEX₆X₇X₈X₉FDY (SEQ ID NO: 309), en la que X₁ se selecciona del grupo que consiste en E y D, X₂ se selecciona del grupo que consiste en S y Q, X₃ se selecciona del grupo que consiste en G y ningún aminoácido, X₄ se selecciona del grupo que consiste en L y ningún aminoácido, X₅ se selecciona del grupo que consiste en W y G, X₆ se selecciona del grupo que consiste en V y L, X₇ se selecciona del grupo que consiste en E y sin aminoácido, X₈ se selecciona del grupo que consiste en G y sin aminoácido, y X₉ se selecciona del grupo que consiste en F y L;
- d. una CDRL1 de la fórmula genérica KSSX₁GVLX₂SSX₃NKNX₄LA (SEQ ID NO: 310), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en Q y S, X₂ se selecciona del grupo que consiste en D e Y, X₃ se selecciona del grupo que consiste en N y D, y X₄ se selecciona del grupo que consiste en F e Y;
- e. una CDRL2 de la fórmula genérica WASX₁RES (SEQ ID NO: 311), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en N y T; y
- f. una CDRL3 de la fórmula genérica QQYYX₁X₂PX₃T (SEQ ID NO: 312), en la que X₁ se selecciona del grupo que consiste en S y T, X₂ se selecciona del grupo que consiste en D y T, y X₃ se selecciona del grupo que consiste en F y P.

Las secuencias consenso de las diversas regiones CDR del Grupo B son:

- a. una CDRH1 que tiene la fórmula genérica GFTX₁X₂X₃AWMS (SEQ ID NO: 313), en la que X₁ se selecciona del grupo que consiste en F y V, X₂ se selecciona del grupo que consiste en S y N, y X₃ se selecciona del grupo que consiste en N y T;
- b. una CDRH2 que tiene la fórmula genérica RIKX₁KTDGX₂TX₃DX₄AAPVKG (SEQ ID NO: 314), en la que X₁ se selecciona del grupo que consiste en S y T, X₂ se selecciona del grupo que consiste en G y W, X₃ se selecciona del grupo que consiste en T y A, y X₄ se selecciona del grupo que consiste en Y y N;
- c. una CDRH3 que tiene la fórmula genérica X₁X₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃YYGX₁₄DV (SEQ ID NO: 315), en la que X₁ se selecciona del grupo que consiste en E, D y G, X₂ se selecciona del grupo que consiste en Y, L y sin aminoácido, X₃ se selecciona de el grupo que consiste en Y, R, G y sin aminoácido, X₄ se selecciona del grupo que consiste en H, G, S y sin aminoácido, X₅ se selecciona del grupo que consiste en I, A, L y ningún aminoácido, X₆ se selecciona del grupo que consiste en L, V, T, P y ningún aminoácido, X₇ se selecciona del grupo que consiste en T,

V, Y, G, W y ningún aminoácido, X_8 se selecciona del grupo que consiste en G, V, S y T, X_9 se selecciona del grupo que consiste en S, T, D, N y G, X_{10} se selecciona del grupo que consiste en G, F, P e Y, X_{11} se selecciona del grupo que consiste en de G, Y y N, X_{12} se selecciona del grupo que consiste en V e Y, X_{13} se selecciona del grupo que consiste en W, S e Y, y X_{14} se selecciona del grupo que consiste en M, T y V;

5 d. una CDRL1 que tiene la fórmula genérica QASQDIX₁NYLN (SEQ ID NO: 316), en el que X_1 se selecciona del grupo que consiste en S y N;

e. una CDRL2 que tiene la fórmula genérica DX₁SNLEX₂ (SEQ ID NO: 317), en el que X_1 se selecciona del grupo que consiste en A y T, y X_2 se selecciona del grupo que consiste en T y P; y

10 f. una CDRL3 que tiene la fórmula genérica QQYDX₁LX₂T (SEQ ID NO: 318), en la que X_1 se selecciona del grupo que consiste en N y D, y X_2 se selecciona del grupo que consiste en L y I.

Las secuencias consenso de las diversas regiones CDR del Grupo C son:

a. una CDRH1 que tiene la fórmula genérica GFTFX₁SYGMH (SEQ ID NO: 319), en la que X_1 se selecciona del grupo que consiste en S e I;

15 b. una CDRH2 que tiene la fórmula genérica VIWYDGSNX₁YYADSVKG (SEQ ID NO: 320), en la que X_1 se selecciona del grupo que consiste en E y K;

c. una CDRH3 que tiene la fórmula genérica SSX₁X₂X₃YX₄MDV (SEQ ID NO: 321), en la que X_1 se selecciona del grupo que consiste en G, S y W, X_2 se selecciona del grupo que consiste en N, D y S, X_3 se selecciona del grupo que consiste en Y y F, y X_4 se selecciona del grupo que consiste en D y G;

20 d. una CDRL1 que tiene la fórmula genérica QASX₁DIX₂NX₃LN (SEQ ID NO: 322), en el que X_1 se selecciona del grupo que consiste en Q y H, X_2 se selecciona del grupo que consiste en S y N, y X_3 se selecciona del grupo que consiste en F e Y;

e. una CDRL2 que tiene la fórmula genérica DASNLEX, (SEQ ID NO: 323), en donde X_1 se selecciona del grupo que consiste en T e I; y

25 f. una CDRL3 que tiene la fórmula genérica QX₁YDX₂X₃PX₄T (SEQ ID NO: 324), en la que X_1 se selecciona del grupo que consiste en Q y R, X_2 se selecciona del grupo que consiste en N y D, X_3 se selecciona del grupo que consiste en L y F, y X_4 se selecciona del grupo que consiste en F, L e I.

En algunos casos, la proteína de unión a antígeno comprende al menos una CDRH1, CDRH2 o CDRH3 que tiene una de las secuencias consenso anteriores. En algunos casos, la proteína de unión al antígeno comprende al menos una CDRL1, CDRL2 o CDRL3 que tiene una de las secuencias consenso anteriores. En otros casos, la proteína de unión a antígeno comprende al menos dos CDRH de acuerdo con las secuencias consenso anteriores, y/o al menos dos CDRL de acuerdo con las secuencias consenso anteriores. En un aspecto, las CDRH y/o CDRL derivan de diferentes grupos A, B y C. En otros casos, la proteína de unión al antígeno comprende al menos dos CDRH del mismo grupo A, B o C, y/o a al menos dos CDRL del mismo grupo A, B o C. En otros aspectos, la proteína de unión al antígeno comprende una secuencia CDRH1, CDRH2 y CDRH3 del mismo de los grupos A, B o C anteriores, y/o una CDRL1, CDRL2 y secuencia CDRL3 del mismo de los grupos A, B o C anteriores.

Por lo tanto, algunas proteínas de unión a antígeno que se proporcionan incluyen 1, 2, 3, 4, 5 o todas las 6 de las CDR de las secuencias consenso del Grupo A. Por tanto, ciertas proteínas de unión a antígeno, por ejemplo, incluyen una CDRH1, una CDRH2, una CDRH3, una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3 de las secuencias consenso del Grupo A expuestas anteriormente. Otras proteínas de unión a antígeno que se proporcionan incluyen 1, 2, 3, 4, 5 o las 6 de las CDR de las secuencias consenso del Grupo B. Así, ciertas proteínas de unión a antígeno incluyen, por ejemplo, una CDRH1, una CDRH2, una CDRH3, una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3 de las secuencias consenso del Grupo B expuestas anteriormente. Todavía otras proteínas de unión a antígeno que se proporcionan incluyen 1, 2, 3, 4, 5 o las 6 de las CDR de las secuencias consenso del Grupo C. Así, ciertas proteínas de unión a antígeno incluyen, por ejemplo, una CDRH1, una CDRH2, una CDRH3, una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3 de las secuencias consenso del Grupo A expuestas anteriormente.

Proteínas de unión a antígeno de ejemplo

Según un aspecto, se proporciona una proteína de unión a antígeno aislada que se une a c-fms que comprende (A) una o más regiones determinantes complementarias de cadena pesada (CDRH) seleccionadas del grupo que consiste en: (i) una CDRH1 seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO: 136-147; (ii) una CDRH2 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 148-164; (iii) una CDRH3 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 165-190; y (iv) una CDRH de (i), (ii) y (iii) que contiene una o más sustituciones, eliminaciones o inserciones de aminoácidos de no más de cinco, cuatro, tres, cuatro, dos o un aminoácido; (B) una o más regiones determinantes complementarias de cadena liviana (CDRL) seleccionadas del grupo que consiste en: (i) una CDRL1 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 191-210; (ii) una CDRL2 seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 211-

224; (iii) una CDRL3 seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 225-246; y (iv) una CDRL de (i), (ii) y (iii) que contiene una o más sustituciones, eliminaciones o inserciones de aminoácidos de no más de cinco, cuatro, tres, cuatro, dos o un aminoácido; o (C) una o más CDRH de cadena pesada de (A) y una o más CDRL de cadena liviana de (B).

- 5 En otro aspecto más, la proteína de unión a antígeno aislada puede comprender (A) una CDRH seleccionada del grupo que consiste en (i) una CDRH1 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 136-147; (ii) una CDRH2 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 148-164; y (iii) una CDRH3 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 165-190; (B) una CDRL seleccionado del grupo que consiste en (i) una CDRL1 seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 191-210; (ii) una CDRL2 seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 211-224; y (iii) una CDRL3 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 225-246; o (C) una o más CDRH de cadena pesada de (A) y una o más CDRL de cadena liviana de (B). En un aspecto, la proteína de unión a antígeno aislada puede incluir (A) una CDRH1 de SEQ ID NO: 136-147, una CDRH2 de SEQ ID NO: 148-164, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 165-190, y (B) una CDRL1 de SEQ ID NO: 191-210, una CDRL2 de SEQ ID NO: 211-224, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 225-246.
- 10
- 15 En otro aspecto, la cadena pesada variable (VH) tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97% o 99% de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 70-101, y/o la cadena liviana variable (VL) tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97% o 99% de identidad de secuencia con un aminoácido secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 102-135. En un aspecto adicional, el VH se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO: 70-101, y/o el VL se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO: 102-135.
- 20

En otro aspecto, también se proporciona una proteína de unión a antígeno aislada que se une específicamente a un epítipo que contiene los subdominios c-fms 1-similar a Ig1 y c-fms 1-similar a Ig2.

- En un aspecto adicional, hay una provisión de una proteína de unión a antígeno aislada que se une a c-fms, la proteína de unión a antígeno que incluye una CDRH3 seleccionada del grupo que consiste en (1) una CDRH3 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 165-190, (2) una CDRH3 que difiere en la secuencia de aminoácidos de la CDRH3 de (i) por una adición, eliminación o sustitución de aminoácidos de no más de dos aminoácidos; y (3) una secuencia de aminoácidos CDRH3 seleccionada del grupo que consiste en (a) $X_1X_2X_3X_4X_5FGEX_7X_8X_9FDY$ (SEQ ID NO: 309), en donde X_1 se selecciona del grupo que consiste en E y D, X_2 se selecciona del grupo que consiste en S y Q, X_3 se selecciona del grupo que consiste en G y sin aminoácido, X_4 se selecciona del grupo que consiste en L y ningún aminoácido, X_5 se selecciona del grupo que consiste en W y G, X_6 se selecciona del grupo que consiste en V y L, X_7 se seleccionan del grupo que consiste en E y sin aminoácido, X_8 se selecciona del grupo que consiste en G y ningún aminoácido, y X_9 se selecciona del grupo que consiste en F y L (secuencia de consenso CDRH3 derivada de el grupo filogenético descrito anteriormente A); (b) $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}YYGX_{14}DV$ (SEQ ID NO: 315), donde X_1 se selecciona del grupo que consiste en E, D y G, X_2 se selecciona del grupo que consiste en Y, L y sin aminoácido, X_3 se selecciona del grupo que consiste de Y, R, G y sin aminoácido, X_4 se selecciona del grupo que consiste en H, G, S y sin aminoácido, X_5 se selecciona del grupo que consiste en I, A, L y sin aminoácido, se selecciona X_6 del grupo que consiste en L, V, T, P y sin aminoácidos, X_7 se selecciona del grupo que consiste en T, V, Y, G, W y sin aminoácidos, X_8 se selecciona del grupo que consiste en G, V, S y T, X_9 se selecciona del grupo que consiste en S, T, D, N y G, X_{10} se selecciona del grupo que consiste en G, F, P e Y, X_{11} se selecciona del grupo que consiste en G, Y y N, X_{12} se selecciona del grupo que consiste en V e Y, X_{13} se selecciona del grupo que consiste en W, S e Y, y X_{14} se selecciona del grupo que consiste en M, T y V (secuencia de consenso CDRH3 derivada del grupo filogenético B descrito anteriormente); y (c) $SSX_1X_2X_3YX_4MDV$ (SEQ ID NO: 321), en donde X_1 se selecciona del grupo que consiste en G, S y W, X_2 se selecciona del grupo que consiste en N, D y S, X_3 se selecciona del grupo que consiste en Y y F, y X_4 se selecciona del grupo que consiste en D y G (secuencia de consenso CDRH3 derivada del grupo filogenético C descrito anteriormente); o (B) una región de determinación complementaria de cadena liviana (CDRL) seleccionada del grupo que consiste en (1) una CDRL3 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 225-246, (2) una CDRL3 que difiere en la secuencia de aminoácidos de la CDRL3 de (i) mediante una adición, eliminación o sustitución de aminoácidos de no más de dos aminoácidos; y (3) una secuencia de aminoácidos CDRL3 seleccionada del grupo que consiste en (a) $QQYYX_1X_2PX_3T$ (SEQ ID NO: 312), en donde X_1 se selecciona del grupo que consiste en S y T, X_2 se selecciona del grupo que consiste en D y T, y X_3 se selecciona del grupo que consiste en F y P (secuencia consenso CDRL3 derivada del Grupo A filogenético descrito anteriormente); (b) $QQYDX_1LX_2T$ (SEQ ID NO: 318), en donde X_1 se selecciona del grupo que consiste en N y D, y X_2 se selecciona del grupo que consiste en L e I (secuencia consenso CDRL3 derivada del Grupo B filogenético descrito anteriormente); y (c) $QX_1YDX_2X_3PX_4T$ (SEQ ID NO: 324), en donde X_1 se selecciona del grupo que consiste en Q y R, X_2 se selecciona del grupo que consiste en N y D, X_3 se selecciona del grupo que consiste en L y F, y X_4 se selecciona del grupo que consiste en F, L e I (secuencia consenso CDRL3 derivada del grupo filogenético C descrito anteriormente).
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55

En un aspecto, la proteína de unión al antígeno que se une a c-fms comprende una CDRH3 según una secuencia consenso de los grupos A, B o C, y/o una CDRL3 según una secuencia consenso de los grupos A, B o C, y una CDRH1 y/o CDRH2 de cualquiera de los grupos anteriores, y/o una CDRL1 y/o una CDRL2 de cualquiera de los grupos anteriores.

60

En un aspecto, la proteína de unión a antígeno aislada que se une a c-fms comprende una CDRH3 y/o una CDRL3

del Grupo A, véase, supra, y una CDR seleccionada del grupo que consiste en:

(1) una CDRH1 seleccionada del grupo que consiste en (a) una CDRH1 de SEQ ID NOs: 136-147; (b) una CDRH1 que difiere en la secuencia de aminoácidos de la CDRH1 de (a) mediante una adición, eliminación o sustitución de aminoácidos de no más de dos aminoácidos; y (c) una secuencia de aminoácidos de CDRH1 seleccionada del grupo que consiste en GYTX₁TSYGIS (SEQ ID NO: 307), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en F y L;

(2) CDRH2 seleccionado del grupo que consiste en (a) una CDRH2 de SEQ ID NOs: 148-164; (b) una CDRH2 que difiere en la secuencia de aminoácidos de la CDRH2 de (a) mediante una adición, eliminación o sustitución de aminoácidos de no más de dos aminoácidos; y (c) una secuencia de aminoácidos CDRH2 seleccionada del grupo que consiste en WISAYNGNX₁NYAQKX₂QG (SEQ ID NO: 308), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en T y P, y X₂ se selecciona del grupo que consiste en L y F;

(3) una CDRL1 seleccionado del grupo que consiste en (a) una CDRL1 de SEQ ID NOs: 191-210; (b) una CDRL1 que difiere en la secuencia de aminoácidos de la CDRL1 de (a) mediante una adición, eliminación o sustitución de aminoácidos de no más de dos aminoácidos; y (c) una secuencia de aminoácidos CDRL1 seleccionada del grupo que consiste en KSSX₁GVLX₂SSX₃NKNX₄LA (SEQ ID NO: 310), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en Q y S, X₂ se selecciona del grupo que consiste en D e Y, X₃ se selecciona del grupo que consiste en N y D, y X₄ se selecciona del grupo que consiste en F e Y;

(4) una CDRL2 seleccionado del grupo que consiste en: (a) una CDRL2 de SEQ ID NOs: 211-224; (b) una CDRL2 que difiere en la secuencia de aminoácidos de la CDRL2 de (a) mediante una adición, eliminación o sustitución de aminoácidos de no más de dos aminoácidos; y (c) una secuencia de aminoácidos CDRL2 seleccionada del grupo que consiste en WASX₁RES (SEQ ID NO: 311), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en N y T.

En un aspecto, la proteína de unión a antígeno aislada que se une a c-fms comprende una CDRH3 y/o una CDRL3 del Grupo B, véase, supra, y una CDR seleccionada del grupo que consiste en:

(1) una CDRH1 seleccionada del grupo que consiste en (a) una CDRH1 de SEQ ID NOs: 136-147; (b) una CDRH1 que difiere en la secuencia de aminoácidos de la CDRH1 de (a) mediante una adición, eliminación o sustitución de aminoácidos de no más de dos aminoácidos; y (c) una secuencia de aminoácidos CDRH1 seleccionada del grupo que consiste en GFTX₁X₂X₃A WMS (SEQ ID NO: 313), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en F y V, X₂ se selecciona del grupo que consiste en S y N, y X₃ se selecciona del grupo que consiste en N y T;

(2) una CDRH2 seleccionada del grupo que consiste en (a) una CDRH2 de SEQ ID NOs: 148-164; (b) una CDRH2 que difiere en la secuencia de aminoácidos de la CDRH2 de (a) mediante una adición, eliminación o sustitución de aminoácidos de no más de dos aminoácidos; y (c) una secuencia de aminoácidos CDRH2 seleccionada del grupo que consiste en RIKX₁KTDGX₂TX₃DX₄AAPVKG (SEQ ID NO: 314), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en S y T, X₂ se selecciona del grupo que consiste en G y W, X₃ se selecciona del grupo que consiste en T y A, y X₄ se selecciona del grupo que consiste en Y y N;

(3) una CDRL1 seleccionado del grupo que consiste en (a) una CDRL1 de SEQ ID NOs: 191-210; (b) una CDRL1 que difiere en la secuencia de aminoácidos de la CDRL1 de (a) mediante una adición, eliminación o sustitución de aminoácidos de no más de dos aminoácidos; y (c) una secuencia de aminoácidos CDRL1 seleccionada del grupo que consiste en QASQDIX₁NYLN (SEQ ID NO: 316), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en S y N;

(4) una CDRL2 seleccionado del grupo que consiste en (a) una CDRL2 de SEQ ID NOs: 211-224; (b) una CDRL2 que difiere en la secuencia de aminoácidos de la CDRL2 de (a) mediante una adición, eliminación o sustitución de aminoácidos de no más de dos aminoácidos; y (c) una secuencia de aminoácidos CDRL2 seleccionada del grupo que consiste en DX₁SNLEX₂ (SEQ ID NO: 317), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en A y T, y X₂ se selecciona del grupo que consiste en T y P.

En un aspecto, la proteína de unión a antígeno aislada que se une a c-fms comprende una CDRH3 y una CDRL3 del Grupo C, véase, supra, y una CDR seleccionada del grupo que consiste en

(1) una CDRH1 seleccionada del grupo que consiste en (a) una CDRH1 de SEQ ID NOs: 136-147; (b) una CDRH1 que difiere en la secuencia de aminoácidos de la CDRH1 de (a) mediante una adición, eliminación o sustitución de aminoácidos de no más de dos aminoácidos; y (c) una secuencia de aminoácidos CDRH1 seleccionada del grupo que consiste en GFTFX₁SYGMH (SEQ ID NO: 319), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en S e I;

(2) una CDRH2 seleccionada del grupo que consiste en (a) una CDRH2 de SEQ ID NOs: 148-164; (b) una CDRH2 que difiere en la secuencia de aminoácidos de la CDRH2 de (a) mediante una adición, eliminación o sustitución de aminoácidos de no más de dos aminoácidos; y (c) una secuencia de aminoácidos CDRH2 seleccionada del grupo que consiste en VIWYDGSNX₁YYADSVK (SEQ ID NO: 320), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en E y K;

(3) una CDRL1 seleccionado del grupo que consiste en (a) una CDRL1 de SEQ ID NOs: 191-210; (b) una CDRL1 que difiere en la secuencia de aminoácidos de la CDRL1 de (a) mediante una adición, eliminación o sustitución de

aminoácidos de no más de dos aminoácidos; y (c) una secuencia de aminoácidos CDRL1 seleccionada del grupo que consiste en QASX₁DIX₂NX₃LN (SEQ ID NO: 322), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en Q y H, X₂ se selecciona del grupo que consiste en S y N, y X₃ se selecciona del grupo que consiste en F e Y;

- 5 4) una CDRL2 seleccionado del grupo que consiste en (a) una CDRL2 de SEQ ID NOs: 211-224; (b) una CDRL2 que difiere en la secuencia de aminoácidos de la CDRL2 de (a) mediante una adición, eliminación o sustitución de aminoácidos de no más de dos aminoácidos; y (c) una secuencia de aminoácidos de CDRL2 seleccionada del grupo que consiste en DASNLEX₁ (SEQ ID NO: 323), en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en T y I.

10 En otro aspecto más, la proteína de unión a antígeno aislada descrita anteriormente comprende una primera secuencia de aminoácidos que comprende al menos una de las secuencias consenso CDRH anteriores, y una segunda secuencia de aminoácidos que comprende al menos una de las secuencias consenso CDRL anteriores. En un aspecto, la primera secuencia de aminoácidos comprende al menos dos de las secuencias consenso de CDRH anteriores, y/o la segunda secuencia de aminoácidos comprende al menos dos de las secuencias consenso anteriores. De nuevo en otro aspecto, la primera secuencia de aminoácidos comprende al menos dos CDRH del mismo de los grupos A, B o C anteriores, y/o la segunda secuencia de aminoácidos comprende al menos dos CDRL del mismo de los grupos anteriores A, B o C. En otros aspectos más, la primera y la segunda secuencia de aminoácidos comprenden al menos una CDRH y una CDRL, respectivamente, del mismo de los grupos A, B o C anteriores. En otro aspecto más, el primera secuencia de aminoácidos comprende una CDRH1, una CDRH2, y una CDRH3 de la misma de los grupos anteriores a, B, o C, y/o la segunda secuencia de aminoácidos comprende una CDRL1, una CDRL2, y una CDRL3 de la misma de los grupos anteriores A, B o C.

20 En cierto aspecto, la primera y la segunda secuencia de aminoácidos están unidas covalentemente entre sí.

En un aspecto adicional, la primera secuencia de aminoácidos de la proteína de unión a antígeno aislado incluye la CDRH3 de SEQ ID NO: 165-190, CDRH2 de SEQ ID NO: 148-164, y CDRH1 de SEQ ID NO: 136 -147, y/o la segunda secuencia de aminoácidos de la proteína de unión a antígeno aislado comprende la CDRL3 de SEQ ID NO: 225-246, CDRL2 de SEQ ID NO: 211-224, y CDRL1 de la SEQ NO: 191-210.

25 En un aspecto adicional, la proteína de unión a antígeno comprende al menos dos secuencias de CDRH de secuencias de cadena pesada H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, H16, H17, H18, H19, H20, H21, H22, H23, H24, H25, H26, H27, H28, H29, H30, H31 o H32, como se muestra en la Tabla 4A. De nuevo un aspecto adicional, la proteína de unión a antígeno comprende al menos dos secuencias CDRL de secuencias de cadena liviana L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7, L8, L9, L10, L11, L12, L13, L14, L15, L16, L17, L18, L19, L20, L21, L22, L23, L24, L25, L26, L27, L28, L29, L30, L31, L32, L33 o L34, como se muestra en la Tabla 4B. De nuevo un aspecto adicional, la proteína de unión a antígeno comprende al menos dos secuencias de CDRH de secuencias de cadena pesada H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, H16, H17, H18, H19, H20, H21, H22, H23, H24, H25, H26, H27, H28, H29, H30, H31 o H32, como se muestra en la Tabla 4A, y al menos dos CDRL de secuencias de cadena liviana L1, L2, L3, L4, L5, L6, L8, L9, L10, L11, L12, L13, L14, L15, L16, L17, L18, L19, L20, L21, L22, L23, L24, L25, L26, L27, L28, L29, L30, L31, L32, L33 o L34, como se muestra en la Tabla 4B.

35 En otro aspecto, la proteína de unión a antígeno comprende las secuencias CDRH1, CDRH2 y CDRH3 de secuencias de cadena pesada H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, H16, H17, H18, H19, H20, H21, H22, H23, H24, H25, H26, H27, H28, H29, H30, H31 o H32, como se muestra en la Tabla 4A. En otro aspecto más, la proteína de unión a antígeno comprende las secuencias CDRL1, CDRL2 y CDRL3 de secuencias de cadena liviana L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7, L8, L9, L10, L11, L12, L13, L14, L15, L16, L17, L18, L19, L20, L21, L22, L23, L24, L25, L26, L27, L28, L29, L30, L31, L32, L33 o L34, como se muestra en la Tabla 4B.

40 En otro aspecto más, la proteína de unión a antígeno comprende las seis CDR de H1 y L1, o H1 y L2, o H2 y L31, o H2 y L33, o H3 y L3, o H4 y L4, o H5 y L5, o H6 y L6, o H7 y L7, o H8 y L8, o H8 y L9, o H9 y L32, o H9 y L34, o H10 y L10, o H11 y L11, o H12 y L12, o H13 y L12, o H14 y L13, o H15 y L14, o H16 y L15, o H17 y L16, o H18 y L17, o H19 y L18, o H20 y L20, o H21 y L19, o H22 y L21, o H24 y L22, o H25 y L23, o H26 y L24, o H27 y L25, o H28 y L26, o H29 y L27, o H30 y L28, o H31 y L29, o H32 y L30, como se muestra en las Tablas 4A y 4B.

45 La información de secuencia para anticuerpos específicos preparados e identificados como se describe en los Ejemplos a continuación se resume en la Tabla 4C. Para facilitar la referencia, en algunos casos se usa aquí una forma abreviada del número de referencia en la que se descarta el último número de la referencia. Por lo tanto, por ejemplo, 1.109.1 alguna vez se denomina simplemente 1.109; 1.109.1 SM se conoce como 1.109 SM; 1.2.1 se conoce como 1.2; 1.2.1 SM se conoce como 1.2 SM; 2.360.1 se conoce como 2.360, 2.360.1 SM se conoce como 2.360 SM; etc.

50

ES 2 650 224 T3

Tabla 4A

| Referencia | Pesada Completa (H#) | Pesada Completa SEQ ID NO | Pesada Variable (VH#) | Pesada Variable SEQ ID NO | CDRH1 (CDRH1-#) | CDRH1 SEQ ID NO | CDRH2 (CDRH2-#) | CDRH2 SEQ ID NO | CDRH3 (CDRH3-#) | CDRH3 SEQ ID NO |
|---------------|----------------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| H1 109 1N1G1 | H1 | 4 | V _H 1 | 70 | CDRH 1-5 | 140 | CDRH 2-8 | 155 | CDRH 3-5 | 169 |
| H1 13 1N1G1 | H2 | 5 | V _H 2 | 71 | CDRH 1-1 | 136 | CDRH 2-1 | 148 | CDRH 3-1 | 165 |
| H1 131 1N1G1 | H3 | 6 | V _H 3 | 72 | CDRH 1-11 | 146 | CDRH 2-8 | 155 | CDRH 3-17 | 181 |
| H1 134 1N1G1 | H4 | 7 | V _H 4 | 73 | CDRH 1-8 | 143 | CDRH 2-11 | 158 | CDRH 3-26 | 190 |
| H1 143 1N1G1 | H5 | 8 | V _H 5 | 74 | CDRH 1-2 | 137 | CDRH 2-4 | 151 | CDRH 3-3 | 167 |
| H1 144 1N1G1 | H6 | 9 | V _H 6 | 75 | CDRH 1-2 | 137 | CDRH 2-3 | 150 | CDRH 3-2 | 166 |
| H1 16 1N1G1 | H7 | 10 | V _H 7 | 76 | CDRH 1-2 | 137 | CDRH 2-7 | 154 | CDRH 3-20 | 184 |
| H1 2 1N1G1 | H8 | 11 | V _H 8 | 77 | CDRH 1-12 | 147 | CDRH 2-16 | 163 | CDRH 3-22 | 186 |
| H1 26 1N1G1 | H9 | 12 | V _H 9 | 78 | CDRH 1-2 | 137 | CDRH 2-3 | 150 | CDRH 3-2 | 166 |
| H1 27 1N1G1 | H10 | 13 | V _H 10 | 79 | CDRH 1-2 | 137 | CDRH 2-3 | 150 | CDRH 3-25 | 189 |
| H1 30 1N1G1 | H11 | 14 | V _H 11 | 80 | CDRH 1-12 | 147 | CDRH 2-16 | 163 | CDRH 3-22 | 186 |
| H1 33-1 1N1G1 | H12 | 15 | V _H 12 | 81 | CDRH 1-4 | 139 | CDRH 2-8 | 155 | CDRH 3-4 | 168 |
| H1 33 1N1G1 | H13 | 16 | V _H 13 | 82 | CDRH 1-4 | 139 | CDRH 2-8 | 155 | CDRH 3-4 | 168 |
| H1 34 1N1G1 | H14 | 17 | V _H 14 | 83 | CDRH 1-2 | 137 | CDRH 2-3 | 150 | CDRH 3-25 | 189 |
| H1 39 1N1G1 | H15 | 18 | V _H 15 | 84 | CDRH 1-2 | 137 | CDRH 2-5 | 152 | CDRH 3-6 | 170 |
| H1 42 1N1G1 | H16 | 19 | V _H 16 | 85 | CDRH 1-12 | 147 | CDRH 2-16 | 163 | CDRH 3-22 | 186 |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Pesada Completa (H#) | Pesada Completa SEQ ID NO | Pesada Variable (VH#) | Pesada Variable SEQ ID NO | CDRH1 (CDRH1-#) | CDRH1 SEQ ID NO | CDRH2 (CDRH2-#) | CDRH2 SEQ ID NO | CDRH3 (CDRH3-#) | CDRH3 SEQ ID NO |
|----------------|----------------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| H1 64 1N1G1 | H17 | 20 | V _H 17 | 86 | CDRH 1-6 | 141 | CDRH 2-9 | 156 | CDRH 3-8 | 172 |
| H1 66 1N1G1 | H18 | 21 | V _H 18 | 87 | CDRH 1-8 | 143 | CDRH 2-13 | 160 | CDRH 3-18 | 182 |
| H1 72 1N1G1 | H19 | 22 | V _H 19 | 88 | CDRH 1-3 | 138 | CDRH 2-3 | 150 | CDRH 3-24 | 188 |
| H2 103 1N1G2 | H20 | 23 | V _H 20 | 89 | CDRH 1-2 | 137 | CDRH 2-3 | 150 | CDRH 3-9 | 173 |
| H1 90 1N1G1 | H21 | 24 | V _H 21 | 90 | CDRH 1-8 | 143 | CDRH 2-11 | 158 | CDRH 3-19 | 183 |
| H2 131 1N1G2 | H22 | 25 | V _H 22 | 91 | CDRH 1-10 | 145 | CDRH 2-14 | 161 | CDRH 3-15 | 179 |
| H2 291 1N1G2 | H23 | 26 | V _H 23 | 92 | CDRH 1-8 | 143 | CDRH 2-15 | 162 | CDRH 3-16 | 180 |
| H2 360 1N1G2 | H24 | 27 | V _H 24 | 93 | CDRH 1-7 | 142 | CDRH 2-10 | 157 | CDRH 3-23 | 187 |
| H2 360 1N1G2SM | H25 | 28 | V _H 25 | 94 | CDRH 1-7 | 142 | CDRH 2-10 | 157 | CDRH 3-23 | 187 |
| H2 369 1N1G2 | H26 | 29 | V _H 26 | 95 | CDRH 1-7 | 142 | CDRH 2-10 | 157 | CDRH 3-11 | 175 |
| H2 380 1N1G2 | H27 | 30 | V _H 27 | 96 | CDRH 1-9 | 144 | CDRH 2-12 | 159 | CDRH 3-14 | 178 |
| H2 475 1N1G2 | H28 | 31 | V _H 28 | 97 | CDRH 1-8 | 143 | CDRH 2-11 | 158 | CDRH 3-13 | 177 |
| H2 508 1N1G2 | H29 | 32 | V _H 29 | 98 | CDRH 1-7 | 142 | CDRH 2-10 | 157 | CDRH 3-12 | 176 |
| H2 534 1N1G2 | H30 | 33 | V _H 30 | 99 | CDRH 1-1 | 136 | CDRH 2-2 | 149 | CDRH 3-7 | 171 |
| H2 550 1N1G2 | H31 | 34 | V _H 31 | 100 | CDRH 1-12 | 147 | CDRH 2-17 | 164 | CDRH 3-21 | 185 |
| H2 65 1N1G2 | H32 | 35 | V _H 32 | 101 | CDRH 1-2 | 137 | CDRH 2-6 | 153 | CDRH 3-10 | 174 |

Tabla 4B

| Referencia | Ligera Completa (L#) | Ligera Completa SEQ ID NO | Ligera Variable (VL#) | Ligera Variable SEQ ID NO | CDRL1 (CDRL1-#) | CDRL1 SEQ ID NO | CDRL2 (CDRL2-#) | CDRL2 SEQ ID NO | CDRL3 (CDRL3-#) | CDRL3 SEQ ID NO |
|----------------|----------------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| H1 109 1N1K | L1 | 36 | V _{L1} | 102 | CDRL 1-12 | 202 | CDRL 2-8 | 218 | CDRL3-12 | 236 |
| H1 109 1N1K SM | L2 | 37 | V _{L2} | 103 | CDRL 1-11 | 201 | CDRL 2-8 | 218 | CDRL3-12 | 236 |
| H1 131 1N1K | L3 | 38 | V _{L3} | 104 | CDRL 1-7 | 197 | CDRL 2-5 | 215 | CDRL3-6 | 230 |
| H1 134 1N1K | L4 | 39 | V _{L4} | 105 | CDRL 1-9 | 199 | CDRL 2-9 | 219 | CDRL3-13 | 237 |
| H1 143 1N1K | L5 | 40 | V _{L5} | 106 | CDRL 1-9 | 199 | CDRL 2-7 | 217 | CDRL3-9 | 233 |
| H1 144 1N1K | L6 | 41 | V _{L6} | 107 | CDRL 1-8 | 198 | CDRL 2-6 | 216 | CDRL3-9 | 233 |
| H1 16 1N1K | L7 | 42 | V _{L7} | 108 | CDRL 1-8 | 198 | CDRL 2-6 | 216 | CDRL3-7 | 231 |
| H1 2 1N1K | L8 | 43 | V _{L8} | 109 | CDRL 1-3 | 193 | CDRL 2-4 | 214 | CDRL3-4 | 228 |
| H1 2 1N1K SM | L9 | 44 | V _{L9} | 110 | CDRL 1-3 | 193 | CDRL 2-4 | 214 | CDRL3-4 | 228 |
| H1 27 1N1K | L10 | 45 | V _{L10} | 111 | CDRL 1-8 | 198 | CDRL 2-6 | 216 | CDRL3-9 | 233 |
| H1 30 1N1K | L11 | 46 | V _{L11} | 112 | CDRL 1-5 | 195 | CDRL 2-4 | 214 | CDRL3-4 | 228 |
| H1 33-1 1N1K | L12 | 47 | V _{L12} | 113 | CDRL 1-2 | 192 | CDRL 2-2 | 212 | CDRL3-3 | 227 |
| H1 34 1N1K | L13 | 48 | V _{L13} | 114 | CDRL 1-8 | 198 | CDRL 2-6 | 216 | CDRL3-9 | 233 |
| H1 39 1N1K | L14 | 49 | V _{L14} | 115 | CDRL 1-8 | 198 | CDRL 2-6 | 216 | CDRL3-9 | 233 |
| H1 42 1N1K | L15 | 50 | V _{L15} | 116 | CDRL 1-4 | 194 | CDRL 2-4 | 214 | CDRL3-4 | 228 |
| H1 64 1N1K | L16 | 51 | V _{L16} | 117 | CDRL 1-19 | 209 | CDRL 2-13 | 223 | CDRL3-21 | 245 |
| H1 66 1N1K | L17 | 52 | V _{L17} | 118 | CDRL 1-13 | 203 | CDRL 2-6 | 216 | CDRL3-16 | 240 |
| H1 72 1N1K | L18 | 53 | V _{L18} | 119 | CDRL 1-8 | 198 | CDRL 2-6 | 216 | CDRL3-9 | 233 |
| H1 90 1N1K | L19 | 54 | V _{L19} | 120 | CDRL 1-8 | 198 | CDRL 2-6 | 216 | CDRL3-8 | 232 |
| H2 103 1N1K | L20 | 55 | V _{L20} | 121 | CDRL 1-8 | 198 | CDRL 2-6 | 216 | CDRL3-9 | 233 |
| H2 131 1N1K | L21 | 56 | V _{L21} | 122 | CDRL 1-15 | 205 | CDRL 2-10 | 220 | CDRL3-17 | 241 |
| H2 360 1N1K | L22 | 57 | V _{L22} | 123 | CDRL 1-16 | 206 | CDRL 2-11 | 221 | CDRL3-18 | 242 |
| H2 360 1N1K SM | L23 | 58 | V _{L23} | 124 | CDRL 1-16 | 206 | CDRL 2-11 | 221 | CDRL3-18 | 242 |

| Referencia | Ligera Completa (L#) | Ligera Completa SEQ ID NO | Ligera Variable (VL#) | Ligera Variable SEQ ID NO | CDRL1 (CDRL1-#) | CDRL1 SEQ ID NO | CDRL2 (CDRL2-#) | CDRL2 SEQ ID NO | CDRL3 (CDRL3-#) | CDRL3 SEQ ID NO |
|--------------------|----------------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| H2 369 1N1K | L24 | 59 | V _L 24 | 125 | CDRL 1-6 | 196 | CDRL 2-2 | 212 | CDRL3-5 | 229 |
| H2 380 1N1K | L25 | 60 | V _L 25 | 126 | CDRL 1-20 | 210 | CDRL 2-2 | 212 | CDRL3-22 | 246 |
| H2 475 1N1K | L26 | 61 | V _L 26 | 127 | CDRL 1-10 | 200 | CDRL 2-6 | 216 | CDRL3-11 | 235 |
| H2 508 1N1K | L27 | 62 | V _L 27 | 128 | CDRL 1-17 | 207 | CDRL 2-14 | 224 | CDRL3-19 | 243 |
| H2 534 1N1K | L28 | 63 | V _L 28 | 129 | CDRL 1-18 | 208 | CDRL 2-12 | 222 | CDRL3-20 | 244 |
| H2 550 1N1K | L29 | 64 | V _L 29 | 130 | CDRL 1-14 | 204 | CDRL 2-3 | 213 | CDRL3-15 | 239 |
| H2 65 1N1K | L30 | 65 | V _L 30 | 131 | CDRL 1-9 | 199 | CDRL 2-6 | 216 | CDRL3-10 | 234 |
| H1 13 1N1K | L31 | 66 | V _L 31 | 132 | CDRL 1-8 | 198 | CDRL 2-6 | 216 | CDRL3-14 | 238 |
| H1 26 1N1K | L32 | 67 | V _L 32 | 133 | CDRL 1-8 | 198 | CDRL 2-6 | 216 | CDRL3-9 | 233 |
| H1 13H1 13 1NVK2KK | L33 | 68 | V _L 33 | 134 | CDRL 1-1 | 191 | CDRL 2-1 | 211 | CDRL3-2 | 226 |
| H1 26H1 26 1NVK2KK | L34 | 69 | V _L 34 | 135 | CDRL 1-1 | 191 | CDRL 2-1 | 211 | CDRL3-1 | 225 |

Tabla 4C

| Ref. No. | Pesada Completa SEQ ID NO | Ligera Completa SEQ ID NO | Pesada Variable SEQ ID NO | Ligera Variable SEQ ID NO | CDRH1 SEQ ID NO | CDRH2 SEQ ID NO | CDRH3 SEQ ID NO | CDRL1 SEQ ID NO | CDRL2 SEQ ID NO | CDRL3 SEQ ID NO |
|------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 1.109.1 | 4 | 36 | 70 | 102 | 140 | 155 | 169 | 202 | 218 | 236 |
| 1.109.1 SM | 4 | 37 | 70 | 103 | 140 | 155 | 169 | 201 | 218 | 236 |
| 1.13.1 | 5 | 66 | 71 | 132 | 136 | 148 | 165 | 198 | 216 | 238 |
| 1.13.13.1 | 5 | 68 | 71 | 134 | 136 | 148 | 165 | 191 | 211 | 226 |
| 1.131.1 | 6 | 38 | 72 | 104 | 146 | 155 | 181 | 197 | 215 | 230 |
| 1.134.1 | 7 | 39 | 73 | 105 | 143 | 158 | 190 | 199 | 219 | 237 |
| 1.143.1 | 8 | 40 | 74 | 106 | 137 | 151 | 167 | 199 | 217 | 233 |
| 1.144.1 | 9 | 41 | 75 | 107 | 137 | 150 | 166 | 198 | 216 | 233 |

| Ref. No. | Pesada Completa SEQ ID NO | Ligera Completa SEQ ID NO | Pesada Variable SEQ ID NO | Ligera Variable SEQ ID NO | CDRH1 SEQ ID NO | CDRH2 SEQ ID NO | CDRH3 SEQ ID NO | CDRL1 SEQ ID NO | CDRL2 SEQ ID NO | CDRL3 SEQ ID NO |
|------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 1.16.1 | 10 | 42 | 76 | 108 | 137 | 154 | 184 | 198 | 216 | 231 |
| 1.2.1 | 11 | 43 | 77 | 109 | 147 | 163 | 186 | 193 | 214 | 228 |
| 1.2.1 SM | 11 | 44 | 77 | 110 | 147 | 163 | 186 | 193 | 214 | 228 |
| 1.26.1 | 12 | 67 | 78 | 133 | 137 | 150 | 166 | 198 | 216 | 233 |
| 1.26.26.1 | 12 | 69 | 78 | 135 | 137 | 150 | 166 | 191 | 211 | 225 |
| 1.27.1 | 13 | 45 | 79 | 111 | 137 | 150 | 189 | 198 | 216 | 233 |
| 1.30.1 | 14 | 46 | 80 | 112 | 147 | 163 | 186 | 195 | 214 | 228 |
| 1.33-1.1 | 15 | 47 | 81 | 113 | 139 | 155 | 168 | 192 | 212 | 227 |
| 1.33.1 | 16 | 47 | 82 | 113 | 139 | 155 | 168 | 192 | 212 | 227 |
| 1.34.1 | 17 | 48 | 83 | 114 | 137 | 150 | 189 | 198 | 216 | 233 |
| 1.39.1 | 18 | 49 | 84 | 115 | 137 | 152 | 170 | 198 | 216 | 233 |
| 1.42.1 | 19 | 50 | 85 | 116 | 147 | 163 | 186 | 194 | 214 | 228 |
| 1.64.1 | 20 | 51 | 86 | 117 | 141 | 156 | 172 | 209 | 223 | 245 |
| 1.66.1 | 21 | 52 | 87 | 118 | 143 | 160 | 182 | 203 | 216 | 240 |
| 1.72.1 | 22 | 53 | 88 | 119 | 138 | 150 | 188 | 198 | 216 | 233 |
| 2.103.1 | 23 | 55 | 89 | 121 | 137 | 150 | 173 | 198 | 216 | 233 |
| 1.90.1 | 24 | 54 | 90 | 120 | 143 | 158 | 183 | 198 | 216 | 232 |
| 2.131.1 | 25 | 56 | 91 | 122 | 145 | 161 | 179 | 205 | 220 | 241 |
| 2.291.1 | 26 | | 92 | | 143 | 162 | 180 | | | |
| 2.360.1 | 27 | 57 | 93 | 123 | 142 | 157 | 187 | 206 | 221 | 242 |
| 2.360.1 SM | 28 | 58 | 94 | 124 | 142 | 157 | 187 | 206 | 221 | 242 |
| 2.369.1 | 29 | 59 | 95 | 125 | 142 | 157 | 175 | 196 | 212 | 229 |
| 2.380.1 | 30 | 60 | 96 | 126 | 144 | 159 | 178 | 210 | 212 | 246 |
| 2.475.1 | 31 | 61 | 97 | 127 | 143 | 158 | 177 | 200 | 216 | 235 |
| 2.508.1 | 32 | 62 | 98 | 128 | 142 | 157 | 176 | 207 | 224 | 243 |
| 2.534.1 | 33 | 63 | 99 | 129 | 136 | 149 | 171 | 208 | 222 | 244 |
| 2.550.1 | 34 | 64 | 100 | 130 | 147 | 164 | 185 | 204 | 213 | 239 |
| 2.65.1 | 35 | 65 | 101 | 131 | 137 | 153 | 174 | 199 | 216 | 234 |

En un aspecto, las proteínas de unión a antígeno aisladas proporcionadas aquí pueden ser un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal, un anticuerpo recombinante, un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo multiespecífico o un fragmento de anticuerpo del mismo.

- 5 En otra realización, el fragmento de anticuerpo de los anticuerpos aislados de la invención puede ser un fragmento Fab, un fragmento Fab', un fragmento F(ab')₂, un fragmento Fv, un diacuerpo o una molécula de anticuerpo de cadena simple.

En una realización adicional, la proteína de unión a antígeno aislada proporcionada aquí es un anticuerpo humano y puede ser de tipo IgG1-, IgG2-, IgG3- o IgG4-.

- 10 En un aspecto divulgado en este documento, la proteína de unión a antígeno consiste en solo un polipéptido de cadena liviana o pesada como se expone en las Tablas 4A-4C. En algunos aspectos descritos en este documento, la proteína de unión a antígeno consiste simplemente en un dominio variable ligero o variable pesado tal como los enumerados en las Tablas 4A-4C. Dichas proteínas de unión a antígeno se pueden pegar con una o más moléculas de PEG.

En otro aspecto más, la proteína de unión a antígeno aislada proporcionada en la presente puede acoplarse a un grupo de marcación y puede competir por la unión a la porción extracelular de c-fms humanas con una proteína de unión a antígeno de una de las uniones de antígeno aisladas proteínas proporcionadas aquí. En un aspecto, la proteína de unión a antígeno aislada proporcionada aquí puede reducir la quimiotaxis de monocitos, inhibir la migración de monocitos en tumores o inhibir la acumulación y la función de macrófagos asociados a tumores en un tumor cuando se administra a un paciente.

Como apreciarán los expertos en la técnica, para cualquier proteína de unión a antígeno con más de una CDR de las secuencias representadas, es útil cualquier combinación de CDR independientemente seleccionadas de las secuencias representadas. De este modo, pueden generarse proteínas de unión a antígeno con una, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR seleccionadas independientemente. Sin embargo, como apreciarán los expertos en la técnica, los aspectos específicos generalmente utilizan combinaciones de CDR que no son repetitivas, por ejemplo, las proteínas de unión a antígeno generalmente no están hechas con dos regiones CDRH2, etc.

Algunas de las proteínas de unión a antígeno proporcionadas se analizan con más detalle a continuación.

Proteínas de unión al antígeno y epítomos de unión y dominios de unión

Cuando se dice que una proteína de unión a antígeno se une a un epítomo dentro de residuos específicos, como c-fms, o el dominio extracelular de c-fms, por ejemplo, lo que se quiere decir es que la proteína de unión a antígeno se une específicamente a una especificada porción de c-fms. En algunos aspectos, la proteína de unión al antígeno se une específicamente a un polipéptido que consiste en los residuos especificados (por ejemplo, un segmento específico de c-fms). Dicha proteína de unión a antígeno normalmente no contacta con cada residuo dentro de c-fms, o el dominio extracelular de c-fms. Tampoco todas las sustituciones o eliminaciones de aminoácidos dentro de c-fms, o el dominio extracelular de c-fms, necesariamente afectan significativamente a la afinidad de unión.

La especificidad de epítomo y el dominio o dominios de unión de una proteína de unión a antígeno pueden determinarse por una variedad de métodos. Algunos métodos, por ejemplo, pueden usar porciones truncadas de un antígeno. Otros métodos utilizan antígeno mutado en uno o más residuos específicos.

Con respecto a los métodos que usan porciones truncadas de un antígeno, en una metodología de ejemplo, se puede usar una colección de péptidos solapantes. Los péptidos solapantes consisten en aproximadamente 15 aminoácidos que abarcan la secuencia del antígeno y que difieren en incrementos de un número pequeño de aminoácidos (por ejemplo, tres aminoácidos). Los péptidos se inmovilizan dentro de los pozos de un plato de microtitulación o en diferentes lugares de una membrana. La inmovilización puede efectuarse biotinilando un extremo de los péptidos. Opcionalmente, diferentes muestras del mismo péptido pueden biotinilarse en el extremo amino y el extremo carboxi e inmovilizarse en pozos separados con fines de comparación. Esto es útil para identificar proteínas de unión al antígeno específicas del extremo. Opcionalmente, se pueden incluir péptidos adicionales que terminan en un aminoácido particular de interés. Este enfoque es útil para identificar proteínas de unión a antígeno específicas del extremo a fragmentos internos de c-fms (o el dominio extracelular de c-fms). Una proteína de unión a antígeno o un fragmento inmunológicamente funcional se criba para la unión específica a cada uno de los diversos péptidos. El epítomo se define como que ocurre con un segmento de aminoácidos que es común a todos los péptidos a los que la proteína de unión al antígeno muestra unión específica. Los detalles con respecto a un enfoque específico para definir un epítomo se exponen en el Ejemplo 12.

Como se demuestra en el Ejemplo 12, las proteínas de unión a antígeno proporcionadas en la presente son capaces de unirse a un polipéptido que incluye el dominio 1 de tipo Ig y el dominio 2 de tipo Ig en combinación; sin embargo, no se unen a un polipéptido que contiene principalmente el dominio 1 de tipo Ig o principalmente el dominio 2 de tipo Ig solo. Los epítomos de unión de tales proteínas de unión a antígeno están así compuestos tridimensionalmente de los dominios 1 de tipo Ig y similares a Ig en combinación. Como se destaca en la Figura 8, estos dos dominios comprenden los aminoácidos 20 a 223 del dominio extracelular c-fms, que tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

IPVIEPSVPELVVKPGATVTLRCVGNLSVEWDGPPSPHWTLVSDGSSSILSTN
 NATFQNTGTYRCTEPGDPLGGSAIHLVVKDARPWNVLAQEVVVFEDQDALLPCLLTDPVLEA
 GVSLVRVRGRPLMRHTNYSFSPWHGFTIHRAKFIQSQDYQCSALMGGRKVMISISIRLKVQKVIPG
 PPALTLVPALVRIRGEAAQIV. (SEQ ID NO:326)

La secuencia de aminoácidos utilizada en el Ejemplo 12 para representar el dominio 1 de tipo Ig corresponde a los aminoácidos 20-126 de la secuencia representada en la FIG. 8 (es decir, aminoácidos 20-126 de SEQ ID NO: 1, concretamente IPVIEPSVPELVVKPGATVTLRCVGNLSVEWDGPPSPHWTLVSDGSSSILSTNNATFQNTGTYRCTEPGDPLGGSAIHLVVKDARPWNVLAQEVVVFEDQDALLP). La secuencia de aminoácidos utilizada para representar el dominio similar a Ig2 solo correspondió a los aminoácidos 85-223 de la secuencia representada en la Figura 8 (es decir, aminoácidos 85-223 de SEQ ID NO: 1, concretamente

TEPGDPLGGSAAIHLYVKDPPARPNVLAQEVVVFEDQDALLPCLLTDPVLEAGVSLVVRGRPL
MRHTNYSFSPWHGFTIHRAKFIQSQDYQCSALMGGKVMKISIRLKVQKVIPGPPALTLVPALVRI RGEAAQIV).

Así, una proteína de unión a antígeno puede unirse o unirse específicamente a una región dentro de una proteína c-fms (por ejemplo, la proteína de longitud completa madura), donde la región tiene la secuencia de aminoácidos especificada en SEQ ID NO: 326. En algunos aspectos, la proteína de unión a antígeno se une o se une específicamente a un polipéptido que consiste esencialmente en o que consiste en los residuos de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 326.

En otros aspectos, la proteína de unión a antígeno puede unirse o unirse específicamente a un polipéptido que consiste en la SEQ ID NO: 326 pero no a un polipéptido que consiste en los aminoácidos 20-126 de la secuencia representada en la Figura 8 (es decir, aminoácidos 20-126 de SEQ ID NO: 1). En otro aspecto, la proteína de unión a antígeno se puede unir o unirse específicamente a un polipéptido que consiste en la SEQ ID NO: 326 pero no a un polipéptido que consiste en los aminoácidos 85-223 de la secuencia representada en la Figura 8 (es decir, aminoácidos 85-223 de SEQ ID NO: 1). En aún otros aspectos, la proteína de unión al antígeno puede unirse o unirse específicamente a un polipéptido que consiste en la SEQ ID NO: 326 pero no a un polipéptido que consiste en los aminoácidos 20-126 de la secuencia representada en la Figura 8 (es decir, los aminoácidos 20-126 de SEQ ID NO: 1) o a un polipéptido que consiste en los aminoácidos 85-223 de la secuencia representada en la Figura 8 (es decir, aminoácidos 85-223 de SEQ ID NO: 1).

En otro enfoque, los dominios/regiones que contienen residuos que están en contacto con o están ocultos por un anticuerpo se pueden identificar mutando residuos específicos en un antígeno (por ejemplo, un antígeno de tipo salvaje) y determinando si el antígeno de unión a la proteína puede unirse a la proteína mutada. Al realizar una serie de mutaciones individuales, pueden identificarse los residuos que juegan un papel directo en la unión o que están lo suficientemente próximos al anticuerpo de manera que una mutación puede afectar la unión entre la proteína de unión al antígeno y el antígeno. A partir del conocimiento de estos aminoácidos, se pueden elucidar los dominios o las regiones del antígeno que contienen residuos en contacto con la proteína de unión al antígeno o que están cubiertos por el anticuerpo. Tal dominio típicamente incluye el epítipo de unión de una proteína de unión a antígeno. Un ejemplo específico de este enfoque general utiliza un protocolo de exploración de arginina/ácido glutámico (véase, por ejemplo, Nanevitz, T., et al., 1995, J. Biol. Chem., 270: 37, 21619-21625 and Zupnick, A. et al., 2006, J. Biol. Chem., 281: 29, 20464-20473). En general, los ácidos arginina y glutámico están sustituidos (típicamente de forma individual) por un aminoácido en el polipéptido de tipo salvaje porque estos aminoácidos están cargados y son voluminosos y tienen el potencial de interrumpir la unión entre una proteína de unión a antígeno y un antígeno en la región del antígeno donde se introduce la mutación. Las argininas y lisinas que existen en el antígeno de tipo salvaje se reemplazan con ácido glutámico. Se obtiene una variedad de tales mutantes individuales y se analizan los resultados de unión recolectados para determinar qué residuos afectan a la unión.

El Ejemplo 14 describe la exploración de arginina/ácido glutámico de c-fms humanas para proteínas de unión a c-fms proporcionadas en este documento. Se creó una serie de 95 antígenos c-fms humanos mutantes, teniendo cada antígeno mutante una sola mutación. La unión de cada antígeno c-fms mutante con las proteínas de unión a antígeno c-fms proporcionadas aquí se midió y se comparó con la capacidad de estas proteínas de unión seleccionadas para unirse al antígeno c-fms de tipo silvestre (SEQ ID NO: 1). Una reducción en la unión entre una proteína de unión a antígeno y un antígeno c-fms mutante como se usa aquí significa que hay una reducción en la afinidad de unión (por ejemplo, medida por métodos conocidos tales como prueba de Biacore como se describe en los ejemplos) y/o reducción en la capacidad de unión total de la proteína de unión al antígeno (por ejemplo, como se evidencia por una disminución en Bmax en un gráfico de la concentración de proteína de unión al antígeno frente a la concentración de antígeno). Una reducción significativa en la unión indica que el residuo mutado está directamente implicado en la unión a la proteína de unión al antígeno o está muy cerca de la proteína de unión cuando la proteína de unión está unida al antígeno.

En algunas realizaciones, una reducción significativa en la unión significa que la afinidad y/o capacidad de unión entre un anticuerpo y un antígeno c-fms mutante se reduce en más del 50%, más del 55%, más del 60%, más del 65%, más del 70%, mayor que 75%, mayor que 80%, mayor que 85%, mayor que 90% o mayor que 95% con respecto a la unión entre la proteína de unión y un antígeno c-fms de tipo silvestre (por ejemplo, el extracelular dominio que se muestra en SEQ ID NO: 1). En ciertas realizaciones, la unión se reduce por debajo de los límites detectables. En algunas realizaciones, se evidencia una reducción significativa en la unión cuando la unión es inferior al 50% (por ejemplo, menos del 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15% o 10%) de la unión observado entre la proteína de unión al antígeno y un antígeno c-fms de tipo silvestre (por ejemplo, el dominio extracelular que se muestra en la SEQ ID NO: 1). Dichas mediciones de unión se pueden realizar usando una variedad de ensayos de unión conocidos en la técnica. Un ejemplo específico de uno de tales ensayos se describe en el Ejemplo 14.

En algunos aspectos, se proporcionan proteínas de unión a antígeno que muestran una unión significativamente menor para un antígeno c-fms mutante en el que un residuo en un antígeno c-fms de tipo salvaje (por ejemplo, SEQ ID NO: 1) se sustituye por arginina o ácido glutámico. En uno de estos aspectos, la unión de una proteína de unión a antígeno se reduce significativamente para un antígeno c-fms mutante que tiene uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3 o 4) de las siguientes mutaciones: E29R, Q121R, T152R y K185E en comparación con un c-fms de tipo salvaje (por ejemplo, SEQ ID NO: 1). En la notación abreviada utilizada aquí, el formato es: Residuo de tipo salvaje: posición en el

polipéptido: residuo mutante, con la numeración de los residuos como se indica en la SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, la unión de una proteína de unión a antígeno se reduce significativamente para un antígeno c-fms mutante que tiene uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o 5) de las siguientes mutaciones: E29R, Q121R, S172R, G274R e Y276R en comparación con un c-fms de tipo salvaje (por ejemplo, SEQ ID NO: 1). En otro aspecto, una proteína de unión a antígeno muestra una unión significativamente menor para un antígeno c-fms mutante que contiene uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 etc. hasta 23) de las siguientes mutaciones: R106E, H151R, T152R, Y154R, S155R, W159R, Q171R, S172R, Q173R, G183R, R184E, K185E, E218R, A220R, S228R, H239R, N240R, K259E, G274R, N275R, Y276R, S277R y N282R en comparación con un tipo salvaje c-fms (por ejemplo, SEQ ID NO: 1). En aún más aspectos, la unión de una proteína de unión a antígeno se reduce significativamente para un antígeno c-fms mutante que contiene uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o 5) de las siguientes mutaciones: K102E, R144E, R146E, D174R y A226R en comparación con la unión a un c-fms de tipo salvaje (por ejemplo, SEQ ID NO: 1). En otros aspectos más, una proteína de unión a antígeno muestra una unión significativamente reducida para un antígeno c-fms mutante que contiene uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8) de las siguientes mutaciones: W50R, A74R, Y100R, D122R, T130R, G161R, Y175R y A179R en comparación con un c-fms de tipo salvaje (por ejemplo, SEQ ID NO: 1).

Aunque las formas mutantes que se acaban de enumerar se referencian con respecto a la secuencia del dominio extracelular de tipo salvaje que se muestra en SEQ ID NO: 1, se apreciará que en una variante alélica de c-fms, el aminoácido en la posición indicada podría diferir. También se contemplan proteínas de unión a antígeno que muestran una unión significativamente menor para tales formas alélicas de c-fms. Por consiguiente, en un aspecto, una proteína de unión a antígeno tiene una unión significativamente reducida para un antígeno c-fms alélica en comparación con c-fms de tipo salvaje (por ejemplo, SEQ ID NO: 1) donde uno o más de los siguientes residuos (por ejemplo, 1, 2, 3 o 4) del antígeno alélico se reemplazan con arginina o ácido glutámico como se indica: 29R, 121R, 152R y 185E (posición en el polipéptido: residuo mutante, con la numeración de los residuos como se indica en la SEQ ID NO: 1). En algunos aspectos, una proteína de unión a antígeno presenta una unión significativamente reducida para un antígeno alélico c-fms en el que uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o 5) de los siguientes residuos se reemplazan por arginina o ácido glutámico como se indica: 29R, 121R, 172R, 274R y 276R en comparación con su capacidad para unirse a c-fms de tipo salvaje (por ejemplo, SEQ ID NO: 1). En otro aspecto, una proteína de unión a antígeno muestra una unión significativamente reducida para un antígeno c-fms alélico en el que uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, etc. hasta 23) de los siguientes restos se reemplazan por arginina o ácido glutámico como se indica: 106E, 151R, 152R, 154R, 155R, 159R, 171R, 172R, 173R, 183R, 184E, 185E, 218R, 220R, 228R, 239R, 240R, 259E, 274R, 275R, 276R, 277R, y 282R en comparación con su capacidad para unirse a c-fms de tipo salvaje (por ejemplo, SEQ ID NO: 1). En incluso más aspectos, una proteína de unión a antígeno tiene una unión significativamente reducida para un antígeno alélico c-fms en el que uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o 5) de los siguientes residuos se reemplazan por arginina o ácido glutámico como se indica: 102E, 144E, 146E, 174R y 226R en comparación con su capacidad para unirse a c-fms de tipo salvaje (por ejemplo, SEQ ID NO: 1). En otros aspectos más, una proteína de unión a antígeno muestra una unión significativamente reducida para un antígeno c-fms alélico en el que uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8) de los siguientes residuos son reemplazado con arginina o ácido glutámico como se indica: 50R, 74R, 100R, 122R, 130R, 161R, 175R y 179R en comparación con su capacidad para unirse a c-fms de tipo salvaje (por ejemplo, SEQ ID NO: 1).

En algunos aspectos, la unión de una proteína de unión a antígeno se reduce significativamente para un antígeno c-fms mutante en el que el residuo en una posición seleccionada en el antígeno c-fms de tipo salvaje se muta a cualquier otro residuo. Por ejemplo, en un aspecto, una proteína de unión a antígeno muestra una unión significativamente reducida para un antígeno c-fms mutante que contiene una única sustitución de aminoácido en uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3 o 4) de las posiciones 29, 121, 152 y 185 (donde las posiciones son las indicadas en SEQ ID NO: 1) en comparación con su capacidad para unirse a c-fms de tipo salvaje (por ejemplo, SEQ ID NO: 1). En algunos aspectos, una proteína de unión a antígeno tiene una unión significativamente reducida para un antígeno c-fms mutante que contiene una única sustitución de aminoácido en uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o 5) de las posiciones 29, 121, 172, 274 y 276 de SEQ ID NO: 1 en comparación con su capacidad para unirse a c-fms de tipo salvaje (por ejemplo, SEQ ID NO: 1). En otro aspecto, la unión de una proteína de unión a antígeno se reduce significativamente para un antígeno c-fms mutante que contiene una única sustitución de aminoácidos en uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 etc. hasta 23) de posiciones 106, 151, 152, 154, 155, 159, 171, 172, 173, 183, 184, 185, 218, 220, 228, 239, 240, 259, 274, 275, 276, 277 y 282 de SEQ ID NO: 1 en comparación con la unión a un c-fms de tipo silvestre de SEQ ID NO: 1. En incluso más aspectos, una proteína de unión a antígeno tiene una unión significativamente menor para un antígeno c-fms mutante que contiene una única sustitución de aminoácidos en uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o 5) de las posiciones 102, 144, 146, 174 y 226 de SEQ ID NO: 1 en comparación con su capacidad para unirse a c-fms de tipo salvaje (por ejemplo, SEQ ID NO: 1). En otros aspectos más, una proteína de unión a antígeno tiene una unión significativamente menor para un antígeno c-fms mutante que contiene una única sustitución de aminoácidos en uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8) de posiciones 50, 74, 100, 122, 130, 161, 175 y 179 en comparación con su capacidad para unirse a c-fms de tipo salvaje (por ejemplo, SEQ ED NO: 1).

Como se indicó anteriormente, los residuos directamente implicados en la unión o el recubrimiento de una proteína de unión a antígeno pueden identificarse a partir de los resultados del escaneo. Estos residuos pueden proporcionar así una indicación de los dominios o regiones de SEQ ID NO: 1 que contienen las regiones de unión a las que se unen las proteínas de unión a antígeno. Como se puede ver a partir de los resultados resumidos en el Ejemplo 14, una proteína de unión a antígeno se une a un dominio que contiene los aminoácidos 29-185 de SEQ ID NO: 1. En otro

aspecto, la proteína de unión a antígeno se une a una región que contiene los aminoácidos 29-276 de SEQ ID NO: 1. En otro aspecto, la proteína de unión a antígeno se une a una región que contiene los aminoácidos 106-282 de SEQ ID NO: 1. En otros aspectos más, la proteína de unión a antígeno se une a la región que contiene los aminoácidos 102-226 de la SEQ ID NO: 1. En otro aspecto más, la proteína de unión a antígeno se une a una región que contiene los aminoácidos 50-179 de la SEQ ID NO: 1. En algunos aspectos, las proteínas de unión a antígeno se unen a las regiones anteriores dentro de un fragmento de la secuencia de longitud completa de SEQ ID NO: 1. En otros aspectos, las proteínas de unión a antígeno se unen a polipéptidos que consisten en estas regiones. En ciertos aspectos, una proteína de unión a antígeno se une a una región que contiene los aminoácidos 90-282 de SEQ ID NO: 1. En otro aspecto, una proteína de unión a antígeno se une a una o a ambas de las siguientes regiones: aminoácidos 90-185 y aminoácidos 217-282 de SEQ ID NO: 1. En otro aspecto más, una proteína de unión a antígeno se une a una o a las dos regiones siguientes: aminoácidos 121-185 y aminoácidos 217-277 de SEQ ID NO: 1.

Proteínas competitivas de unión al antígeno

En otro aspecto, se describen proteínas de unión a antígeno que compiten con uno de los anticuerpos ejemplificados o fragmentos funcionales que se unen al epítipo descrito anteriormente para la unión específica a c-fms. Dichas proteínas de unión a antígeno también pueden unirse al mismo epítipo que una de las proteínas de unión a antígeno ejemplificadas en la presente, o un epítipo solapante. Se espera que las proteínas de unión a antígeno y los fragmentos que compiten o se unen al mismo epítipo que las proteínas de unión a antígeno ejemplificadas muestren propiedades funcionales similares. Las proteínas y fragmentos de unión a antígeno ejemplificados incluyen los descritos anteriormente, que incluyen aquellos con las cadenas pesada y liviana, dominios de región variable y CDR incluidas en las Tablas 1, 2, 3 y 4A-C. Por lo tanto, como un ejemplo específico, las proteínas de unión a antígeno que se describen incluyen aquellas que compiten con un anticuerpo que tiene:

- (a) las 6 CDR enumeradas para un anticuerpo enumerado en la Tabla 4C;
- (b) una VH y una VL enumeradas para un anticuerpo enumerado en la Tabla 4C; o
- (c) dos cadenas livianas y dos cadenas pesadas, tal como se especifica para un anticuerpo enumerado en la Tabla 4C.

Anticuerpos monoclonales

Las proteínas de unión a antígeno que se proporcionan incluyen anticuerpos monoclonales que se unen a c-fms. Los anticuerpos monoclonales se pueden producir usando cualquier técnica conocida en el arte, por ejemplo, inmortalizando células de bazo recolectadas del animal transgénico después de completar el programa de inmunización. Las células del bazo se pueden inmortalizar usando cualquier técnica conocida en la técnica, por ejemplo, fusionándolas con células de mieloma para producir hibridomas. Las células de mieloma para uso en procedimientos de fusión que producen hibridoma preferiblemente no producen anticuerpos, tienen una alta eficacia de fusión y deficiencias enzimáticas que las hacen incapaces de crecer en ciertos medios selectivos que soportan el crecimiento solo de las células fusionadas deseadas (hibridomas). Los ejemplos de líneas celulares adecuadas para uso en fusiones de ratón incluyen Sp-20, P3-X63/Ag8, P3-X63-Ag8.653, NS1/1.Ag 4 1, Sp210-Ag14, FO, NSO/U, MPC-11, MPC11-X45-GTG 1.7 y S194/5XXO Bul; ejemplos de líneas celulares usadas en fusiones de rata incluyen R210.RCY3, Y3-Ag 1.2.3, IR983F y 4B210. Otras líneas celulares útiles para fusiones de células son U-266, GM1500-GRG2, LICR-LON-HMy2 y UC729-6.

En algunos casos, se produce una línea celular de hibridoma inmunizando un animal (por ejemplo, un animal transgénico que tiene secuencias de inmunoglobulina humana) con un inmunógeno c-fms; recolectando células del bazo del animal inmunizado; fusionando las células del bazo recolectadas a una línea celular de mieloma, generando así células de hibridoma; estableciendo líneas celulares de hibridoma a partir de células de hibridoma e identificando una línea celular de hibridoma que produce un anticuerpo que se une a un polipéptido c-fms. Tales líneas celulares de hibridoma y anticuerpos monoclonales anti-c-fms producidos por ellas son aspectos de la presente solicitud.

Los anticuerpos monoclonales secretados por una línea celular de hibridoma se pueden purificar usando cualquier técnica conocida en la técnica. Los hibridomas o mAb pueden cribarse adicionalmente para identificar mAbs con propiedades particulares, tales como la capacidad de bloquear una actividad inducida por Wnt. Ejemplos de tales pantallas se proporcionan en los ejemplos a continuación.

Anticuerpos quiméricos y humanizados

También se proporcionan anticuerpos quiméricos y humanizados basados en las secuencias anteriores. Los anticuerpos monoclonales para uso como agentes terapéuticos pueden modificarse de diversas maneras antes del uso. Un ejemplo es un anticuerpo quimérico, que es un anticuerpo compuesto por segmentos de proteína de diferentes anticuerpos que están unidos covalentemente para producir cadenas livianas o pesadas de inmunoglobulina funcionales o porciones inmunológicamente funcionales de las mismas. Generalmente, una porción de la cadena pesada y/o cadena liviana es idéntica u homóloga a una secuencia correspondiente en anticuerpos derivados de una especie particular o perteneciente a una clase o subclase de anticuerpo particular, mientras que el resto de la(s) cadena(s) es/son idénticos u homólogos a una secuencia correspondiente en anticuerpos derivados de otra especie

o que pertenecen a otra clase o subclase de anticuerpos. Para los métodos relacionados con los anticuerpos quiméricos, véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos No. 4,816,567; y Morrison et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 6851-6855. El injerto de CDR se describe, por ejemplo, en la Patente de los Estados Unidos No. 6,180,370, No. 5,693,762, No. 5,693,761, No. 5,585,089 y No. 5,530,101.

5 Generalmente, el objetivo de preparar un anticuerpo quimérico es crear una quimera en la que se maximice el número de aminoácidos de la especie de paciente prevista. Un ejemplo es el anticuerpo "CDR injertado", en el que el anticuerpo comprende una o más regiones determinantes de complementariedad (CDR) de una especie particular o que pertenece a una clase o subclase de anticuerpo particular, mientras que el resto de las cadenas de anticuerpo son idénticas u homólogas a una secuencia correspondiente en anticuerpos derivados de otra especie o que pertenecen a otra clase o subclase de anticuerpos. Para uso en humanos, la región variable o las CDR seleccionadas de un anticuerpo de roedor a menudo se injertan en un anticuerpo humano, reemplazando las regiones variables naturales o las CDR del anticuerpo humano.

10 Un tipo útil de anticuerpo quimérico es un anticuerpo "humanizado". Generalmente, un anticuerpo humanizado se produce a partir de un anticuerpo monoclonal generado inicialmente en un animal no humano. Ciertos residuos de aminoácidos en este anticuerpo monoclonal, típicamente de partes que no reconocen el antígeno del anticuerpo, se modifican para que sean homólogos a los residuos correspondientes en un anticuerpo humano del isotipo correspondiente. La humanización puede realizarse, por ejemplo, usando diversos métodos sustituyendo al menos una porción de una región variable de roedor por las regiones correspondientes de un anticuerpo humano (véanse, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos No. 5,585,089 y la No. 5,693,762; Jones et al., 1986, Nature 321: 522-525; Riechmann et al., 1988, Nature 332: 323-27; Verhoeven et al., 1988, Science 239: 1534-1536),

15 En un aspecto, las CDR de las regiones variables de cadena liviana y pesada de los anticuerpos proporcionados en este documento (véase la Tabla 3) se injertan en regiones marco (FR) a partir de anticuerpos de la misma especie filogenética o de una especie filogenética diferente. Por ejemplo, las CDR de las regiones variables de cadena pesada y liviana V_{H1}, V_{H2}, V_{H3}, V_{H4}, V_{H5}, V_{H6}, V_{H7}, V_{H8}, V_{H9}, V_{H10}, V_{H11}, V_{H12}, V_{H13}, V_{H14}, V_{H15}, V_{H16}, V_{H17}, V_{H18}, V_{H19}, V_{H20}, V_{H21}, V_{H22}, V_{H23}, V_{H24}, V_{H25}, V_{H26}, V_{H27}, V_{H28}, V_{H29}, V_{H30}, V_{H31}, y V_{H32}, y/o V_{L1}, V_{L2}, V_{L3}, V_{L4}, V_{L5}, V_{L6}, V_{L7}, V_{L8}, V_{L9}, V_{L10}, V_{L11}, V_{L12}, V_{L13}, V_{L14}, V_{L15}, V_{L16}, V_{L17}, V_{L18}, V_{L19}, V_{L20}, V_{L21}, V_{L22}, V_{L23}, V_{L24}, V_{L25}, V_{L26}, V_{L27}, V_{L28}, V_{L29}, V_{L30}, V_{L31}, V_{L32}, V_{L33} y V_{L34} pueden ser injertadas en FR humanas de consenso. Para crear FR humanas de consenso, las FR de varias secuencias de aminoácidos de cadenas pesadas o cadenas livianas humanas se pueden alinear para identificar una secuencia de aminoácidos consenso. En otras realizaciones, las FR de una cadena pesada o cadena liviana descrita en este documento se reemplazan con las FR de una cadena pesada o cadena liviana diferente. En un aspecto, los aminoácidos raros en las FR de las cadenas pesada y liviana del anticuerpo anti-c-fms no se reemplazan, mientras que el resto de los aminoácidos FR se reemplazan. Un "aminoácido raro" es un aminoácido específico que se encuentra en una posición en la que este aminoácido en particular no se encuentra habitualmente en un FR. Alternativamente, las regiones variables injertadas de una cadena pesada o liviana se pueden usar con una región constante que es diferente de la región constante de esa cadena pesada o liviana particular como se describe aquí. En otras realizaciones, las regiones variables injertadas son parte de un anticuerpo Fv de cadena simple.

En ciertas realizaciones, las regiones constantes de especies distintas de las humanas se pueden usar junto con las regiones variables humanas para producir anticuerpos híbridos.

40 Anticuerpos Completamente humanos

También se proporcionan anticuerpos completamente humanos. Se encuentran disponibles métodos para producir anticuerpos completamente humanos específicos para un antígeno dado sin exponer a los seres humanos al antígeno ("anticuerpos completamente humanos"). Un medio específico proporcionado para implementar la producción de anticuerpos completamente humanos es la "humanización" del sistema inmune humoral del ratón. La introducción de loci de inmunoglobulina humana (Ig) en ratones en los que los genes de Ig endógenos se han inactivado es un medio para producir anticuerpos monoclonales (mAb) completamente humanos en ratón, un animal que puede inmunizarse con cualquier antígeno deseable. El uso de anticuerpos completamente humanos puede minimizar las respuestas inmunogénicas y alérgicas que a veces pueden ser causadas por la administración de mAb derivados de ratón o ratón a seres humanos como agentes terapéuticos.

50 Se pueden producir anticuerpos completamente humanos inmunizando animales transgénicos (habitualmente ratones) que son capaces de producir un repertorio de anticuerpos humanos en ausencia de producción de inmunoglobulina endógena. Los antígenos para este fin típicamente tienen seis o más aminoácidos contiguos, y opcionalmente están conjugados con un vehículo, tal como un hapteno. Véase, por ejemplo, Jakobovits et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 2551-2555; Jakobovits et al., 1993, Nature 362: 255-258; y Bruggermann et al., 1993, Year in Immunol. 7:33. En un ejemplo de tal método, los animales transgénicos se producen incapacitando los loci de inmunoglobulina de ratón endógeno que codifica las cadenas de inmunoglobulina pesada y liviana el ratón en el mismo, y la inserción en el genoma del ratón grandes fragmentos de ADN del genoma humano que contiene loci que codifican las proteínas de cadena pesada y liviana humana. Los animales parcialmente modificados, que tienen menos del complemento completo de loci de inmunoglobulina humana, se cruzan luego para obtener un animal que tiene todas las modificaciones deseadas del sistema inmune. Cuando se administra un inmunógeno, estos animales transgénicos

5 producen anticuerpos que son inmunoespecíficos para el inmunógeno pero que tienen secuencias de aminoácidos humanas en lugar de murinas, que incluyen las regiones variables. Para más detalles de tales métodos, véase, por ejemplo, WO96/33735 y WO94/02602. En las Patentes de los Estados Unidos No. 5,545,807; No. 6,713,610; No. 6,673,986; No. 6,162,963; No. 5,545,807; No. 6,300,129; No. 6,255,458; No. 5,877,397; No. 5,874,299 y No. 5,545,806; en las publicaciones PCT WO91/10741, WO90/04036, y en EP 546073B1 y EP 546073A1 se describen métodos adicionales relacionados con ratones transgénicos para producir anticuerpos humanos.

10 Los ratones transgénicos descritos anteriormente, denominados en este documento ratones "HuMab", contienen un minilocus de gen de inmunoglobulina humana que codifica secuencias de inmunoglobulina de cadena ([mu] y [gamma]) y liviana [kappa] humanas no organizadas, junto con mutaciones dirigidas que inactivan los loci de la cadena [mu] y [kappa] endógenos (Lonberg et al., 1994, Nature 368: 856-859). Por consiguiente, los ratones exhiben expresión reducida de IgM de ratón o [kappa] y en respuesta a inmunización, y los transgenes de cadena pesada y liviana humanos introducidos experimentan cambio de clase y mutación somática para generar anticuerpos monoclonales IgG [kappa] humanos de alta afinidad (Lonberg et al., supra.; Lonberg and Huszar, 1995, Intern. Rev. Immunol., 13: 65-93; Harding and Lonberg, 1995, Ann. N.Y. Acad. Sci. 764: 536-546). La preparación de ratones HuMab se describe en detalle en Taylor et al., 1992, Nucleic Acids Research 20: 6287-6295; Chen et al., 1993, International Immunology 5: 647-656; Tuailon et al, 1994, J. Immunol. 152: 2912-2920; Lonberg et al., 1994, Nature 368: 856-859; Lonberg, 1994, Handbook of Exp. Pharmacology 113: 49-101; Taylor et al., 1994, International Immunology 6: 579-591; Lonberg and Huszar, 1995, Intern. Rev. Immunol. 13: 65-93; Harding and Lonberg, 1995, Ann. N.Y. Acad. Sci. 764: 536-546; Fishwild et al., 1996, Nature Biotechnology 14: 845-851. Véase, además, la Patente de los Estados Unidos No. 5,545,806; No. 5,569,825; No. 5,625,126; No. 5,633,425; No. 5,789,650; No. 5,877,397; No. 5,661,016; No. 5,814,318; No. 5,874,299; y No. 5,770,429; así como la Patente de los Estados Unidos No. 5,545,807; Publicaciones Internacionales Nos. WO 93/1227; WO 92/22646; y WO 92/03918. Las tecnologías utilizadas para producir anticuerpos humanos en estos ratones transgénicos se describen también en WO 98/24893, y Mendez et al., 1997, Nature Genetics 15: 146-156. Por ejemplo, las cepas de ratones transgénicos HCo7 y HCo12 pueden usarse para generar anticuerpos anti-c-fms. Se proporcionan más detalles con respecto a la producción de anticuerpos humanos usando ratones transgénicos en los ejemplos más adelante.

20 Usando tecnología de hibridoma, se pueden producir y seleccionar mAb humanos específicos de antígeno con la especificidad deseada a partir de los ratones transgénicos tales como los descritos anteriormente. Dichos anticuerpos se pueden clonar y expresar usando un vector adecuado y una célula huésped, o los anticuerpos se pueden recolectar a partir de células de hibridoma cultivadas.

25 Los anticuerpos completamente humanos también se pueden derivar de bibliotecas de presentación en fagos (como se describe en Hoogenboom et al., 1991, J. Mol. Biol. 227: 381, y Marks et al., 1991, J. Mol. Biol. 222: 581). Las técnicas de presentación en fagos imitan la selección inmune a través de la visualización de repertorios de anticuerpos en la superficie del bacteriófago filamentoso, y la posterior selección del fago mediante su unión a un antígeno de elección. Una de tales técnicas se describe en la Publicación PCT No. WO 99/10494, que describe el aislamiento de anticuerpos agonistas funcionales y de alta afinidad para receptores MPL y msk usando dicha metodología.

Proteínas de unión al antígeno bifuncionales o biespecíficas

30 Las proteínas de unión a antígeno que se proporcionan también incluyen anticuerpos biespecíficos y bifuncionales que incluyen una o más CDR o una o más regiones variables como se describió anteriormente. Un anticuerpo biespecífico o bifuncional en algunos casos es un anticuerpo híbrido artificial que tiene dos pares de cadena pesada/liviana diferentes y dos sitios de unión diferentes. Los anticuerpos biespecíficos pueden producirse por una diversidad de métodos que incluyen, pero no se limitan a, fusión de hibridomas o unión de fragmentos Fab'. Véase, por ejemplo, Songsivilai and Lachmann, 1990, Clin. Exp. Immunol. 79: 315-321; Kostelny et al., 1992, J. Immunol. 148: 1547-1553.

45 Varias otras formas

Algunas de las proteínas de unión a antígeno que se proporcionan son formas variantes de las proteínas de unión a antígeno descritas anteriormente (por ejemplo, las que tienen las secuencias enumeradas en las Tablas 1-4). Por ejemplo, algunas de las proteínas de unión a antígeno tienen una o más sustituciones de aminoácidos conservadoras en una o más de las cadenas pesadas o ligeros, regiones variables o CDR enumeradas en las Tablas 1-4.

50 Los aminoácidos que se producen naturalmente se pueden dividir en clases basadas en las propiedades de la cadena lateral común:

1) hidrófobo: norleucina, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

2) hidrófilo neutro: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

3) ácido: Asp, Glu;

55 4) básico: His, Lys, Arg;

5) residuos que influyen en la orientación de la cadena: Gly, Pro; y

6) aromático: Trp, Tyr, Phe.

5 Las sustituciones conservadoras de aminoácidos pueden implicar el intercambio de un miembro de una de estas clases con otro miembro de la misma clase. Las sustituciones de aminoácidos conservadoras pueden abarcar residuos de aminoácidos no naturales, que se incorporan típicamente por síntesis de péptidos químicos en lugar de por síntesis en sistemas biológicos. Estos incluyen peptidomiméticos y otras formas inversas o invertidas de restos de aminoácidos.

10 Las sustituciones no conservadoras pueden implicar el intercambio de un miembro de una de las clases anteriores por un miembro de otra clase. Dichos residuos sustituidos pueden introducirse en regiones del anticuerpo que son homólogas con anticuerpos humanos, o en las regiones no homólogas de la molécula.

15 Al hacer tales cambios, de acuerdo con ciertas realizaciones, se puede considerar el índice hidropático de aminoácidos. El perfil hidropático de una proteína se calcula asignando a cada aminoácido un valor numérico ("índice de hidropatía") y luego promediando repetidamente estos valores a lo largo de la cadena peptídica. A cada aminoácido se le ha asignado un índice hidropático sobre la base de su hidrofobicidad y características de carga. Ellos son: isoleucina (+4.5); valina (+4.2); leucina (+3.8); fenilalanina (+2.8); cisteína/cistina (+2.5); metionina (+1.9); alanina (+1.8); glicina (-0.4); treonina (-0.7); serina (-0.8); triptófano (-0.9); tirosina (-1.3); prolina (-1.6); histidina (-3.2); glutamato (-3.5); glutamina (-3.5); aspartato (-3.5); asparagina (-3.5); lisina (-3.9); y arginina (-4.5).

20 La importancia del perfil hidropático para conferir función biológica interactiva a una proteína se entiende en la técnica (véase, por ejemplo, Kyte et al., 1982, J. Mol. Biol. 157: 105-131). Se sabe que ciertos aminoácidos pueden sustituirse por otros aminoácidos que tienen un índice o puntuación hidropática similar y aún retener una actividad biológica similar. Al hacer cambios basados en el índice hidropático, en ciertas realizaciones, se incluye la sustitución de aminoácidos cuyos índices hidropáticos están dentro de ± 2 . En algunos aspectos, se incluyen aquellos que están dentro de ± 1 , y en otros aspectos, están incluidos aquellos dentro de ± 0.5 .

25 También se entiende en la técnica que la sustitución de aminoácidos similares se puede realizar de forma efectiva sobre la base de la hidrofiliidad, particularmente cuando la proteína o péptido biológicamente funcional así creado se destina para su uso en realizaciones inmunológicas, como en el presente caso. En ciertas realizaciones, la mayor hidrofiliidad media local de una proteína, según se rige por la hidrofiliidad de sus aminoácidos adyacentes, se correlaciona con su inmunogenicidad y unión a antígeno o inmunogenicidad, es decir, con una propiedad biológica de la proteína.

30 Los siguientes valores de hidrofiliidad se han asignado a estos residuos de aminoácidos: arginina (+3.0); lisina (+3.0); aspartato (+ 3.0 \pm 1); glutamato (+ 3.0 \pm 1); serina (+0.3); asparagina (+0.2); glutamina (+0.2); glicina (0); treonina (-0.4); prolina (-0.5 \pm 1); alanina (-0.5); histidina (-0.5); cisteína (-1.0); metionina (-1.3); valina (-1.5); leucina (-1.8); isoleucina (-1.8); tirosina (-2.3); fenilalanina (-2.5) y triptófano (-3.4). Al hacer cambios basados en valores de hidrofiliidad similares, en ciertas realizaciones, se incluye la sustitución de aminoácidos cuyos valores de hidrofiliidad están dentro de ± 2 , en otras realizaciones, se incluyen aquellos que están dentro de ± 1 , y en otras realizaciones más, aquellos dentro de ± 0.5 están incluidos. En algunos casos, también se pueden identificar epítopos a partir de secuencias de aminoácidos primarios sobre la base de la hidrofiliidad. Estas regiones también se conocen como "regiones centrales epitópicas".

Las sustituciones de aminoácidos conservadoras a modo de ejemplo se establecen en la Tabla 5.

40 Tabla 5: Sustituciones conservadoras de aminoácidos

| Residuo original | Sustituciones de ejemplo |
|------------------|--------------------------|
| Ala | Ser |
| Arg | Lys |
| Asn | Gln, His |
| Asp | Glu |
| Cys | Ser |
| Gln | Asn |

| Residuo original | Sustituciones de ejemplo |
|------------------|--------------------------|
| Glu | Asp |
| Gly | Pro |
| His | Asn, Gln |
| Ile | Leu, Val |
| Leu | Ile, Val |
| Lys | Arg, Gln, Glu |
| Met | Leu, Ile |
| Phe | Met, Leu, Tyr |
| Ser | Thr |
| Thr | Ser |
| Trp | Tyr |
| Tyr | Trp, Phe |
| Val | Ile, Leu |

Un experto en la técnica podrá determinar variantes adecuadas de polipéptidos como se establece en la presente usando técnicas bien conocidas. Un experto en la técnica puede identificar áreas adecuadas de la molécula que pueden cambiarse sin destruir la actividad al dirigirse a regiones que no se cree que sean importantes para la actividad.

5 El experto en la materia también podrá identificar residuos y porciones de las moléculas que se conservan entre polipéptidos similares. En realizaciones adicionales, incluso las áreas que pueden ser importantes para la actividad biológica o para estructura pueden estar sujetas a sustituciones conservadoras de aminoácidos sin destruir la actividad biológica o sin afectar adversamente a la estructura polipeptídica.

Adicionalmente, un experto en la técnica puede revisar estudios de estructura-función que identifiquen residuos en polipéptidos similares que son importantes para la actividad o estructura. En vista de tal comparación, se puede predecir la importancia de los residuos de aminoácidos en una proteína que corresponden a residuos de aminoácidos importantes para la actividad o estructura en proteínas similares. Un experto en la técnica puede optar por sustituciones de aminoácidos químicamente similares para dichos residuos de aminoácidos importantes predichos.

Un experto en la técnica también puede analizar la estructura tridimensional y la secuencia de aminoácidos en relación con esa estructura en polipéptidos similares. En vista de tal información, un experto en la materia puede predecir la alineación de residuos de aminoácidos de un anticuerpo con respecto a su estructura tridimensional. Un experto en la técnica puede elegir no realizar cambios radicales a los residuos de aminoácidos que se predice que estarán en la superficie de la proteína, ya que tales residuos pueden estar implicados en interacciones importantes con otras moléculas. Además, un experto en la materia puede generar variantes de prueba que contienen una única sustitución de aminoácido en cada residuo de aminoácido deseado. A continuación, estas variantes pueden cribarse usando ensayos para la actividad de neutralización de c-fms (véanse ejemplos más adelante), proporcionando de este modo información con respecto a qué aminoácidos se pueden cambiar y cuáles no se deben cambiar. En otras palabras, en base a la información recopilada a partir de tales experimentos rutinarios, un experto en la técnica puede determinar fácilmente las posiciones de aminoácidos en las que deben evitarse sustituciones adicionales, solas o en combinación con otras mutaciones.

Se han dedicado varias publicaciones científicas a la predicción de la estructura secundaria. Véase, Moulton, 1996, Curr. Op. in Biotech. 7: 422-427; Chou et al., 1974, Biochem. 13: 222-245; Chou et al., 1974, Biochemistry 113: 211-222;

Chou et al., 1978, *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* 47: 45-148; Chou et al., 1979, *Ann. Rev. Biochem.* 47: 251-276; y Chou et al., 1979, *Biophys. J.* 26: 367-384. Además, hay programas de ordenador disponibles actualmente para ayudar a predecir la estructura secundaria. Un método para predecir la estructura secundaria se basa en el modelo de homología. Por ejemplo, dos polipéptidos o proteínas que tienen una identidad de secuencia de más del 30% o una similitud mayor del 40% pueden tener topologías estructurales similares. El reciente crecimiento de la base de datos de proteínas estructurales (PDB) ha proporcionado una mayor predictibilidad de la estructura secundaria, incluido el número potencial de pliegues dentro de la estructura de un polipéptido o proteína. Véase, Holm et al., 1999, *Nucl. Acid. Res.* 27: 244-247. Se ha sugerido (Brenner et al., 1997, *Curr. Op. Struct. Biol.* 7: 369-376) que hay un número limitado de pliegues en un polipéptido o proteína dado y que una vez que se ha producido un número crítico de estructuras resuelta, la predicción estructural será dramáticamente más precisa.

Métodos adicionales para predecir la estructura secundaria incluyen "enhebrar" (Jones, 1997, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 7: 377-387; Sippl et al., 1996, *Structure* 4: 15-19), "análisis de perfil" (Bowie et al., 1991, *Science* 253: 164-170; Gribskov et al., 1990, *Meth. Enzym.* 183: 146-159; Gribskov et al., 1987, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 84: 4355-4358), y "enlace evolutivo" (Véase, Holm, 1999, *supra*, and Brenner, 1997, *supra*).

En algunas realizaciones, se realizan sustituciones de aminoácidos que: (1) reducen la susceptibilidad a la proteólisis, (2) reducen la susceptibilidad a la oxidación, (3) alteran la afinidad de unión para formar complejos proteicos, (4) alteran las afinidades de unión del ligando o antígeno, y/o (4) modifican otras propiedades fisicoquímicas o funcionales en dichos polipéptidos. Por ejemplo, se pueden hacer sustituciones de aminoácidos simples o múltiples (en ciertas realizaciones, sustituciones de aminoácidos conservadoras) en la secuencia de origen natural. Se pueden hacer sustituciones en la porción del anticuerpo que se encuentra fuera de los dominios formando contactos intermoleculares. En dichas realizaciones, pueden usarse sustituciones de aminoácidos conservadoras que no cambian sustancialmente las características estructurales de la secuencia principal (por ejemplo, uno o más aminoácidos de reemplazo que no interrumpen la estructura secundaria que caracteriza la proteína de unión al antígeno nativo u original). Ejemplos de estructuras secundarias y terciarias polipeptídicas reconocidas en la técnica se describen en *Proteins, Structures and Molecular Principles* (Creighton, Ed.), 1984, W. H. New York: Freeman and Company; *Introduction to Protein Structure* (Branden and Tooze, eds.), 1991, Nueva York: Garland Publishing; y Thornton et al., 1991, *Nature* 354: 105.

Las variantes de anticuerpo preferidas adicionales incluyen variantes de cisteína en las que uno o más residuos de cisteína en la secuencia de aminoácidos original o nativa se eliminan o sustituyen con otro aminoácido (por ejemplo, serina). Las variantes de cisteína son útiles, inter alia, cuando los anticuerpos deben replegarse en una conformación biológicamente activa. Las variantes de cisteína pueden tener menos residuos de cisteína que el anticuerpo nativo, y típicamente tienen un número par para minimizar las interacciones resultantes de las cisteínas desapareadas.

Las cadenas pesadas y livianas, los dominios de regiones variables y las CDR que se describen pueden usarse para preparar polipéptidos que contienen una región de unión a antígeno que se puede unir específicamente a un polipéptido c-fms. Por ejemplo, una o más de las CDR enumeradas en las Tablas 3 y 4 pueden incorporarse en una molécula (por ejemplo, un polipéptido) covalente o no covalentemente para hacer una inmunoadhesión. Una inmunoadhesión puede incorporar las CDR como parte de una cadena polipeptídica más grande, puede unir covalentemente la(s) CDR(s) a otra cadena polipeptídica, o puede incorporar las CDR de forma no covalente. Las CDR permiten que la inmunoadhesión se una específicamente a un antígeno particular de interés (por ejemplo, un polipéptido c-fms o epitopo del mismo).

Se proporcionan también miméticos (por ejemplo, "miméticos de péptidos" o "peptidomiméticos") basados en los dominios de región variable y las CDR que se describen en el presente documento. Estos análogos pueden ser péptidos, no péptidos o combinaciones de regiones peptídicas y no peptídicas. Fauchere, 1986, *Adv. Drug Res.* 15:29; Veber and Freidinger, 1985, *TINS* p. 392; and Evans et al., 1987, *J. Med. Chem.* 30: 1229. Los péptidos miméticos que son estructuralmente similares a los péptidos terapéuticamente útiles se pueden usar para producir un efecto terapéutico o profiláctico similar. Dichos compuestos a menudo se desarrollan con la ayuda de modelos moleculares computarizados. Generalmente, los peptidomiméticos son proteínas que son estructuralmente similares a un anticuerpo que muestra una actividad biológica deseada, como aquí la capacidad de unirse específicamente a c-fms, pero tienen uno o más enlaces peptídicos opcionalmente reemplazados por un enlace seleccionado de: $-\text{CH}_2\text{NH}-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}-\text{CH}-$ (cis y trans), $-\text{COCH}_2-$, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ y $-\text{CH}_2\text{SO}-$, por métodos bien conocidos en la técnica. La sustitución sistemática de uno o más aminoácidos de una secuencia consenso con un D-aminoácido del mismo tipo (por ejemplo, D-lisina en lugar de L-lisina) puede usarse en ciertas realizaciones para generar proteínas más estables. Además, los péptidos constreñidos que comprenden una secuencia consenso o una variación de secuencia consenso sustancialmente idéntica se pueden generar mediante métodos conocidos en la técnica (Rizo and Gierasch, 1992, *Ann. Rev. Biochem.* 61: 387), por ejemplo, mediante la adición de residuos de cisteína internos capaces de formar puentes disulfuro intramoleculares que ciclan el péptido.

También se proporcionan derivados de las proteínas de unión a antígeno que se describen en este documento. Las proteínas de unión a antígeno derivadas pueden comprender cualquier molécula o sustancia que imparta una propiedad deseada al anticuerpo o fragmento, tal como vida media incrementada en un uso particular. La proteína de unión a antígeno derivada puede comprender, por ejemplo, un resto detectable (o marcador) (por ejemplo, una molécula radiactiva, colorimétrica, antigénica o enzimática, un cordón detectable (tal como un cordón magnético o

electrodensa (por ejemplo, oro)) o una molécula que se une a otra molécula (por ejemplo, biotina o estreptavidina)), un resto terapéutico o de diagnóstico (por ejemplo, un resto radiactivo, citotóxico o farmacéuticamente activo) o una molécula que aumenta la idoneidad de la proteína de unión al antígeno para un uso (por ejemplo, administración a un sujeto, tal como un sujeto humano, u otros usos *in vivo* o *in vitro*). Los ejemplos de moléculas que pueden usarse para derivar una proteína de unión a antígeno incluyen albúmina (por ejemplo, albúmina de suero humano) y polietilenglicol (PEG). Los derivados ligados a albúmina y PEGilados de proteínas de unión a antígeno pueden prepararse usando técnicas bien conocidas en la técnica. Ciertas proteínas de unión a antígeno incluyen un polipéptido monocatenario pegilado como se describe en este documento. En una realización, la proteína de unión a antígeno está conjugada o unida de otro modo a transtirretina (TTR) o una variante de TTR. La variante TTR o TTR se puede modificar químicamente con, por ejemplo, un producto químico seleccionado del grupo que consiste en dextrano, poli(n-vinilpirrolidona), polietilenglicoles, homopolímeros de propopilenglicol, copolímeros de óxido de polipropileno/óxido de etileno, polioles polioxietilados y polialcoholes vinílicos).

Otros derivados incluyen conjugados covalentes o agregantes de proteínas de unión a antígeno c-fms con otras proteínas o polipéptidos, como por expresión de proteínas de fusión recombinantes que comprenden polipéptidos heterólogos fusionados al extremo N o al extremo C de una proteína de unión al antígeno c-fms. Por ejemplo, el péptido conjugado puede ser un polipéptido de señal heterólogo (o líder), por ejemplo, el líder de factor alfa de levadura, o un péptido tal como una etiqueta de epítipo. Las proteínas de fusión que contienen proteína de unión al antígeno C-fms pueden comprender péptidos añadidos para facilitar la purificación o identificación de la proteína de unión al antígeno c-fms (por ejemplo, poli-His). Una proteína de unión al antígeno c-fms también se puede unir al péptido FLAG como se describe en Hopp et al., 1988, *Bio/Technology* 6: 1204; y la Patente de los Estados Unidos No. 5,011,912. El péptido FLAG es altamente antigénico y proporciona un epítipo unido reversiblemente por un anticuerpo monoclonal específico (mAb), lo que permite un ensayo rápido y una purificación fácil de la proteína recombinante expresada. Los reactivos útiles para preparar proteínas de fusión en los que el péptido FLAG está fusionado con un polipéptido dado están disponibles comercialmente (Sigma, St. Louis, MO).

Los oligómeros que contienen una o más proteínas de unión al antígeno c-fms se pueden emplear como antagonistas de c-fms. Los oligómeros pueden estar en forma de dímeros, trímeros u oligómeros superiores unidos covalentemente o no unidos covalentemente. Los oligómeros que comprenden dos o más proteínas de unión a antígeno c-fms se contemplan para su uso, siendo un ejemplo un homodímero. Otros oligómeros incluyen heterodímeros, homotrímeros, heterotrímeros, homotetrámeros, heterotetrámeros, etc.

Una realización está dirigida a oligómeros que comprenden múltiples anticuerpos de unión a c-fms de la invención unidos mediante interacciones covalentes o no covalentes entre restos peptídicos fusionados a las proteínas de unión al antígeno c-fms. Dichos péptidos pueden ser enlazadores peptídicos (espaciadores) o péptidos que tienen la propiedad de promover la oligomerización. Las cremalleras de leucina y ciertos polipéptidos derivados de anticuerpos se encuentran entre los péptidos que pueden promover la oligomerización de las proteínas de unión al antígeno c-fms unidas a los mismos, como se describe con más detalle a continuación.

En realizaciones particulares, los oligómeros comprenden de dos a cuatro proteínas de unión a antígeno c-fms. Los restos de anticuerpo de unión a antígeno c-fms del oligómero pueden estar en cualquiera de las formas descritas anteriormente, por ejemplo, variantes o fragmentos. Preferiblemente, los oligómeros comprenden proteínas de unión a antígeno c-fms que tienen actividad de unión a c-fms.

En una realización, se prepara un oligómero usando polipéptidos derivados de inmunoglobulinas. La preparación de proteínas de fusión que comprenden ciertos polipéptidos heterólogos fusionados a diversas porciones de polipéptidos derivados de anticuerpos (que incluyen el dominio Fc) ha sido descrita, por ejemplo, por Ashkenazi et al., 1991, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 10535; Byrn et al., 1990, *Nature* 344: 677; y Hollenbaugh et al., 1992 "Construction of Immunoglobulin Fusion Proteins", in *Current Protocols in Immunology*, Suppl. 4, páginas 10.19.1-10.19.11.

Un aspecto de la divulgación se refiere a un dímero que comprende dos proteínas de fusión creadas por fusión de una proteína de unión al antígeno c-fms a la región Fc de un anticuerpo. El dímero puede prepararse, por ejemplo, insertando una fusión génica que codifica la proteína de fusión en un vector de expresión apropiado, expresando la fusión génica en células huésped transformadas con el vector de expresión recombinante, y permitiendo que la proteína de fusión expresada se ensamble como moléculas de anticuerpo, con lo que se forman enlaces disulfuro intercatenarios entre las fracciones Fc para producir el dímero.

El término "polipéptido Fc" tal como se usa en el presente documento incluye formas nativas y de muteína de polipéptidos derivados de la región Fc de un anticuerpo. También se incluyen formas truncadas de tales polipéptidos que contienen la región bisagra que promueve la dimerización. Las proteínas de fusión que comprenden restos Fc (y oligómeros formados a partir de ellas) ofrecen la ventaja de la purificación fácil mediante cromatografía de afinidad sobre columnas de Proteína A o Proteína G.

Un polipéptido Fc adecuado, descrito en la solicitud PCT WO 93/10151 y en la Patente de los Estados Unidos. No. 5,426,048 y No. 5,262,522, es un polipéptido monocatenario que se extiende desde la región bisagra N-terminal hasta el extremo C nativo de la región Fc de un anticuerpo IgG1 humano. Otro polipéptido Fc útil es la muteína Fc descrita en la Patente de los Estados Unidos No. 5,457,035, y en Baum et al., 1994, *EMBO J.* 13: 3992-4001. La secuencia de

aminoácidos de esta muteína es idéntica a la de la secuencia Fc nativa presentada en WO 93/10151, excepto que el aminoácido 19 ha cambiado de Leu a Ala, el aminoácido 20 se ha cambiado de Leu a Glu y el aminoácido 22 ha sido cambiado de Gly a Ala. La muteína muestra una afinidad reducida por los receptores de Fc.

5 En otros aspectos, la porción variable de las cadenas pesada y/o ligera de una proteína de unión al antígeno c-fms tal como la descrita aquí puede sustituirse por la porción variable de una cadena pesada y/o ligera del anticuerpo.

Alternativamente, el oligómero es una proteína de fusión que comprende múltiples proteínas de unión al antígeno c-fms, con o sin enlaces peptídicos (péptidos espaciadores). Entre los enlazadores de péptidos adecuados están los descritos en la Patente de los Estados Unidos. No. 4,751,180 y No. 4,935,233.

10 Otro método para preparar derivados de proteína de unión al antígeno c-fms oligoméricos implica el uso de una cremallera de leucina. Los dominios de cremallera de leucina son péptidos que promueven la oligomerización de las proteínas en las que se encuentran. Las cremalleras de leucina se identificaron originalmente en varias proteínas de unión a ADN (Landschulz et al., 1988, Science 240: 1759), y desde entonces se han encontrado en una variedad de proteínas diferentes. Entre las cremalleras de leucina conocidas se encuentran los péptidos de origen natural y sus derivados que se dimerizan o trimerizan. Ejemplos de dominios de cremallera de leucina adecuados para producir
15 proteínas oligoméricas solubles se describen en la solicitud PCT WO 94/10308, y la cremallera de leucina derivada de la proteína D surfactante pulmonar (SPD) descrita en Hoppe et al., 1994, FEBS Letters 344: 191. El uso de una cremallera de leucina modificada que permite la trimerización estable de una proteína heteróloga fusionada a la misma se describe en Fanslow et al., 1994, Semin. Immunol. 6: 267-278. En una metodología, las proteínas de fusión recombinantes que comprenden un fragmento de proteína de unión al antígeno c-fms o derivado fusionado a un péptido de cremallera de leucina se expresan en células huésped adecuadas, y los fragmentos de proteína de unión
20 al antígeno c-fms oligoméricos solubles o derivados que se recuperan de la sobrenadante de cultivo.

Algunas proteínas de unión a antígeno que se proporcionan tienen una tasa de activación (k_a) para c-fms de al menos $10^4/M \times$ segundos, al menos $10^5/M \times$ segundos, al menos $10^6/M \times$ segundos medidos, por ejemplo, como se describe en los ejemplos a continuación. Ciertas proteínas de unión a antígeno que se proporcionan tienen una tasa de disociación lenta o tasa de inactividad. Algunas proteínas que se unen a antígenos, por ejemplo, tienen un k_d (fuera de precio) de $1 \times 10^{-2} s^{-1}$, o $1 \times 10^{-3} s^{-1}$, o $1 \times 10^{-4} s^{-1}$, o $1 \times 10^{-5} s^{-1}$. En ciertas realizaciones, la proteína de unión a antígeno tiene una K_D (afinidad de unión en equilibrio) de menos de 25 pM, 50 pM, 100 pM, 500 pM, 1 nM, 5 nM, 10 nM, 25 nM o 50 nM.
25

Otro aspecto proporciona una proteína de unión a antígeno que tiene una vida media de al menos un día *in vitro* o *in vivo* (por ejemplo, cuando se administra a un sujeto humano). En un aspecto, la proteína de unión al antígeno tiene una vida media de al menos tres días. En otra realización, el anticuerpo o parte del mismo tiene una vida media de cuatro días o más. En otra realización, el anticuerpo o parte del mismo tiene una vida media de ocho días o más. En otra realización, el anticuerpo o parte de unión a antígeno del mismo se deriva o modifica de manera que tiene una vida media más larga en comparación con el anticuerpo no modificado o no modificado. En otro aspecto, la proteína
30 de unión a antígeno contiene mutaciones puntuales para aumentar la vida media en suero, tal como se describe en el documento WO 00/09560, publicado el 24 de febrero de 2000.

Glicosilación

La proteína de unión a antígeno puede tener un patrón de glicosilación diferente o alterado respecto del encontrado en las especies nativas. Como se conoce en la técnica, los patrones de glicosilación pueden depender tanto de la
40 secuencia de la proteína (por ejemplo, la presencia o ausencia de restos de aminoácidos de glicosilación particulares, discutidos a continuación), o la célula u organismo huésped en el que se produce la proteína. A continuación se tratan los sistemas de expresión particulares.

La glicosilación de polipéptidos típicamente está enlazada a N o enlazada a O. La ligada a N se refiere a la unión de la unidad estructural carbohidrato a la cadena lateral de un residuo de asparagina. Las secuencias de tripéptido asparagina-X-serina y asparagina-X-treonina, donde X es cualquier aminoácido excepto prolina, son las secuencias de reconocimiento para la unión enzimática de la unidad estructural carbohidrato a la cadena lateral de asparagina. Por lo tanto, la presencia de cualquiera de estas secuencias tripeptídicas en un polipéptido crea un sitio de glicosilación potencial. La glicosilación ligada a O se refiere a la unión de uno de los azúcares N-acetilgalactosamina, galactosa o xilosa a un hidroxiaminoácido, más comúnmente serina o treonina, aunque también se puede usar 5-hidroxiprolina o 5-hidroxilisina.
45
50

La adición de sitios de glicosilación a la proteína de unión a antígeno se lleva a cabo convenientemente alterando la secuencia de aminoácidos de manera que contenga una o más de las secuencias de tripéptidos descritas anteriormente (para sitios de glicosilación enlazados a N). La alteración también se puede realizar mediante la adición de, o la sustitución por, uno o más residuos de serina o treonina a la secuencia de inicio (para sitios de glicosilación unidos a O). Por facilidad, la secuencia de aminoácidos de la proteína de unión al antígeno se puede alterar mediante cambios en el nivel de ADN, particularmente mutando el ADN que codifica el polipéptido diana en bases preseleccionadas de manera que se generan codones que se traducirán en los aminoácidos deseados.
55

Otro medio para aumentar el número de unidades estructurales de carbohidratos en la proteína de unión al antígeno

es mediante acoplamiento químico o enzimático de glucósidos a la proteína. Estos procedimientos son ventajosos porque no requieren la producción de la proteína en una célula huésped que tiene capacidades de glicosilación para la glicosilación ligada a N y O. Dependiendo del modo de acoplamiento utilizado, los azúcares pueden estar unidos a (a) arginina e histidina, (b) grupos carboxilo libres, (c) grupos sulfhidrilo libres tales como los de cisteína, (d) grupos hidroxilo libres tales como los de serina, treonina o hidroxiprolina, (e) residuos aromáticos tales como los de fenilalanina, tirosina o triptófano, o (f) el grupo amida de glutamina. Estos métodos se describen en el documento WO 87/05330 publicado el 11 de septiembre de 1987, y en Aplin y Wriston, 1981, CRC Crit. Rev. Biochem., pp. 259-306.

La eliminación de las unidades estructurales de carbohidrato presentes en la proteína de unión al antígeno de partida puede lograrse química o enzimáticamente. La desglicosilación química requiere la exposición de la proteína al compuesto ácido trifluorometanosulfónico, o un compuesto equivalente. Este tratamiento da como resultado la segmentación de la mayoría o todos los azúcares, excepto el azúcar de enlace (N-acetilglucosamina o N-acetilgalactosamina), mientras deja intacto el polipéptido. La desglicosilación química está descrita por Hakimuddin et al., 1987, Arch. Biochem. Biophys. 259:52 y por Edge et al., 1981, Anal. Biochem. 118: 131. La división enzimática de restos de carbohidratos en polipéptidos se puede lograr mediante el uso de una variedad de endo y exoglucosidasas como se describe por Thotakura et al., 1987, Meth. Enzymol. 138: 350. La glicosilación en sitios de glicosilación potenciales se puede prevenir mediante el uso del compuesto tunicamicina como se describe por Duskin et al., 1982, J. Biol. Chem. 257: 3105. La tunicamicina bloquea la formación de enlaces proteína-N-glucósido.

Por lo tanto, los aspectos incluyen variantes de glicosilación de las proteínas de unión a antígeno en las que el número y/o tipo de sitios de glicosilación se han alterado en comparación con las secuencias de aminoácidos del polipéptido original. En ciertas realizaciones, las variantes de proteína de anticuerpo comprenden un número mayor o menor de sitios de glicosilación unidos a N que en el anticuerpo nativo. Un sitio de glicosilación unido a N se caracteriza por la secuencia: Asn-X-Ser o Asn-X-Thr, en donde el residuo de aminoácido designado como X puede ser cualquier resto de aminoácido excepto prolina. La sustitución de residuos de aminoácidos para crear esta secuencia proporciona un nuevo sitio potencial para la adición de una cadena de carbohidratos ligada a N. Alternativamente, las sustituciones que eliminen o alteren esta secuencia evitarán la adición de una cadena de carbohidrato ligada a N presente en el polipéptido nativo. Por ejemplo, la glicosilación se puede reducir mediante la eliminación de un Asn o mediante la sustitución de Asn por un aminoácido diferente. En otras realizaciones, se crean uno o más sitios nuevos enlazados a N. Los anticuerpos típicamente tienen un sitio de glicosilación unido a N en la región Fc.

Etiquetas y grupos efectores

En algunos aspectos, la unión a antígeno comprende una o más etiquetas. El término "grupo de etiquetado" o "etiqueta" significa cualquier etiqueta detectable. Los ejemplos de grupos de marcación adecuados incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: radioisótopos o radionúclidos (por ejemplo, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I), grupos fluorescentes (por ejemplo, FITC, rodamina, fosforos de lantánidos), grupos enzimáticos (por ejemplo, peroxidasa de rábano, β -galactosidasa, luciferasa, fosfatasa alcalina), grupos quimioluminiscentes, grupos biotínico o epítomos polipeptídicos predeterminados reconocidos por un informador secundario (por ejemplo, secuencias de pares de cremalleras de leucina, sitios de unión para anticuerpos secundarios, dominios de unión de metal, etiquetas de epítomo). En algunas realizaciones, el grupo de etiquetado se acopla a la proteína de unión a antígeno a través de brazos espaciadores de varias longitudes para reducir el impedimento estérico potencial. Se conocen en la técnica diversos métodos para marcar proteínas y se pueden usar como se considere apropiado.

El término "grupo efector" significa cualquier grupo acoplado a una proteína de unión a antígeno que actúa como un agente citotóxico. Los ejemplos de grupos efectores adecuados son radioisótopos o radionúclidos (por ejemplo, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I). Otros grupos adecuados incluyen toxinas, grupos terapéuticos o grupos quimioterapéuticos. Los ejemplos de grupos adecuados incluyen caliqueamicina, auristatinas, geldanamicina y maitansina. En algunas realizaciones, el grupo efector se acopla a la proteína de unión a antígeno mediante brazos espaciadores de diversas longitudes para reducir el impedimento estérico potencial.

En general, las etiquetas se clasifican en una variedad de clases, dependiendo del ensayo en el que deben detectarse: a) marcadores isotópicos, que pueden ser isótopos radiactivos o pesados; b) etiquetas magnéticas (por ejemplo, partículas magnéticas); c) unidades estructurales redox activas; d) tintes ópticos; grupos enzimáticos (por ejemplo, peroxidasa de rábano picante, β -galactosidasa, luciferasa, fosfatasa alcalina); e) grupos biotínicos; y f) epítomos polipeptídicos predeterminados reconocidos por un informador secundario (por ejemplo, secuencias de pares de cremalleras de leucina, sitios de unión para anticuerpos secundarios, dominios de unión a metales, etiquetas de epítomos, etc.). En algunas realizaciones, el grupo de marcación se acopla a la proteína de unión a antígeno a través de brazos espaciadores de varias longitudes para reducir el impedimento estérico potencial. Se conocen en la técnica diversos métodos para marcar proteínas.

Los marcadores específicos incluyen tintes ópticos, que incluyen, pero no se limitan a, cromóforos, fósforos y fluoróforos, siendo este último específico en muchos casos. Los fluoróforos pueden ser fluorescentes de "molécula pequeña" o fluorescentes proteináceos.

Por "marcador fluorescente" se entiende cualquier molécula que pueda detectarse a través de sus propiedades fluorescentes inherentes. Las etiquetas fluorescentes adecuadas incluyen, pero no se limitan a, fluoresceína,

5 rodamina, tetrametilrodamina, eosina, eritrosina, cumarina, metil-cumarinas, pireno, verde de malaquita, estilbenoamarillo lucifer, Azul Cascade J, Rojo Texas, IAEDANS, EDANS, BODIPY FL, LC Red 640, Cy 5, Cy 5.5, LC Rojo 705, verde Oregon, los colorantes Alexa-Fluor (Alexa Fluor 350, Alexa Fluor 430, Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 546, Alexa Fluor 568, Alexa Fluor 594, Alexa Fluor 633, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680), Azul Cascade, Amarillo Cascade y R-ficoeritrina (PE) (Molecular Probes, Eugene, OR), FITC, Rodamina y Rojo Texas (Pierce, Rockford, IL), Cy5, Cy5.5, Cy7 (Amersham Life Science, Pittsburgh, PA). Los colorantes ópticos adecuados, incluidos los fluoróforos, se describen en MOLECULAR PROBES HANDBOOK by Richard P. Haugland.

10 Marcadores fluorescentes proteináceos adecuados también incluyen, pero no se limitan a, proteína fluorescente verde, que incluye una especie Renilla, Ptilosarcus o Aequorea de GFP (Chalfie et al., 1994, Science 263: 802-805), EGFP (Clontech Labs., Inc., número de acceso Genbank U55762), proteína fluorescente azul (BFP, Quantum Biotechnologies, Inc., Quebec, Canadá; Stauber, 1998, Biotechniques 24: 462-471; Heim et al., 1996, Curr. Biol. 6: 178-182), proteína fluorescente amarilla potenciada (EYFP, Clontech Labs., Inc.), luciferasa (Ichiki et al., 1993, J. Immunol., 150: 5408-5417), β-galactosidasa (Nolan et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85: 2603-2607) and Renilla (documentos WO92/15673, WO95/07463, WO98/14605, WO98/26277, WO99/49019, Patentes de los Estados Unidos No. 5292658, No. 5418155, No. 5683888, No. 5741668, No. 5777079, No. 5804387, No. 5874304, No. 5876995, No. 5925558).

Ácidos nucleicos que codifican proteínas de unión al antígeno C-fms

20 También se proporcionan ácidos nucleicos que codifican para las proteínas de unión a antígeno descritas aquí, o porciones de los mismos, incluyendo ácidos nucleicos que codifican una o ambas cadenas de un anticuerpo, o un fragmento, derivado, muteína o variante del mismo, polinucleótidos que codifican regiones variables de cadena pesada o solo CDR, polinucleótidos suficientes para uso como sondas de hibridación, cebadores de PCR o cebadores de secuenciación para identificar, analizar, mutar o amplificar un polinucleótido que codifica un polipéptido, ácidos nucleicos antisentido para inhibir la expresión de un polinucleótido y secuencias complementarias de los anteriores. Los ácidos nucleicos pueden ser de cualquier longitud. Pueden ser, por ejemplo, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 750, 1.000, 1.500, 3.000, 5.000 o más nucleótidos de longitud, y/o pueden comprender una o más secuencias adicionales, por ejemplo, secuencias reguladoras, y/o ser parte de un ácido nucleico mayor, por ejemplo, un vector. Los ácidos nucleicos pueden ser monocatenarios o bicatenarios y pueden comprender nucleótidos de ARN y/o ADN y variantes artificiales de los mismos (por ejemplo, ácidos nucleicos peptídicos). La Tabla 6 muestra secuencias de ácidos nucleicos de ejemplo que codifican una región constante de cadena pesada de IgG2 y una región constante de cadena liviana kappa de IgG2. Cualquier región variable proporcionada aquí puede unirse a estas regiones constantes para formar secuencias completas de cadena pesada y liviana. Sin embargo, debe entenderse que estas secuencias de regiones constantes se proporcionan solo como ejemplos específicos. En algunas realizaciones, las secuencias de región variable se unen a otras secuencias de región constante que son conocidas en la técnica. Ejemplos de secuencias de ácidos nucleicos que codifican regiones variables de cadenas pesadas y livianas se proporcionan en la Tabla 7.

Tabla 6: Secuencias de ejemplo de ácidos nucleicos que codifican regiones constantes de cadenas pesadas y livianas

| Tipo | Secuencia de ácidos nucleicos/SEQ ID NO. |
|--------------------|---|
| Cadena pesada IgG2 | <p>gctagcaccaagggccatcggcttcccccctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagcggccctgggct gcttgcaaggactactccccgaaccggtagcgggtgctggaactcaggcgtctgaccagcggcgtgcacacctcc cagctgtcctacagtcctcaggactctactcccctcagcagcgtggtagcctccagcaactcggcaccagacctc cacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgaatgtgtgtcagtgccc accgtgcccagcaccctgtggcaggaccgtcagcttcttcccccaaaaccaaggacacctcatgatctccg gaccctgaggtcacgtgcgtgggtggacgtgagccacgaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggc gtggaggtgcataatgccaagacaaagccacgggaggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtctcaccg ttgtgaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggctccaacaaaggcctcccagccccatcgaga aaaccatctccaaaacaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatcccgggaggagatgacc agaaccaggtcagcctgacctgcctggtaaaaggcttaccagcagcatcgcctggtgagtgaggagcaatgggc agccggagaacaactacaagaccacacctccatgctggactccgacggctccttctctacagcaagctcaccgtg gacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcaga agagcctctccctgtctccgggtaaatga [SEQ ID NO:247]</p> |

ES 2 650 224 T3

| Tipo | Secuencia de ácidos nucleicos/SEQ ID NO. |
|---------------------------|---|
| Cadena liviana kappa IgG2 | cgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagtgaaatctggaactgcctctgttgtgctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaagtgataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgacacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaacacaaaagtctacgctgcaagtcacccatcagggcctgagctgcccgtcacaagagctcaacaggggagagtgtag [SEQ ID NO:248] |

La Tabla 7 muestra ejemplos de secuencias de ácido nucleico que codifican regiones variables de cadena pesada y cadena liviana, en las que están incrustadas las diversas secuencias CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3.

5 Tabla 7: Secuencias de ejemplo de ácidos nucleicos que codifican regiones variables de cadenas pesadas y livianas

| Referencia | Designación | Secuencia de ácidos nucleicos/SEQ ID NO. |
|-----------------|-----------------|--|
| H1 109 1N1G1 | V _{H1} | caggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaaggtctcctgcaaggcttctggatacacctcaccgcctactatatacactgggtgcacagggccctggacaagggctgagtgga tgggatggatcaaccctaacagtggtggcacaactatgcacagaagttcagggcagggcaccatgac cagggacagctccatcagcacagcctacatggagctgagcaggctgagatctgacgacacggccgtgta ttactgtcgagaggtggatagtggtctacgattgggctactactacggatggacgctctggggccaagg gaccacggtcaccgtctcctca [SEQ ID NO:249] |
| H1 13 1N1G1 | V _{H2} | caggtgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagcctcggagaccctgtccctcacctgcactgt ctctggtggctccgtcagcagtggtggtactactggagctggatccggcagccccagggaaagggactgg agtggattgggtatatactatcagtggtggagcaccactacaaccctccctcaagagtcgagtcaccatata cagtagacacgtccaagaaccagttctccctgaagctgagctctgtgaccgctcggacacggccgtgtat tactgtcggccggtatagcagccactggctaccctcttgactgtctggggccagggaaaccctggcaccgtct cctca [SEQ. ID NO:250] |
| H1 131 1N1G1 | V _{H3} | caggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaaggtctcctgcaagg ctctggatacacctcaccggctactatatacactgggtgcacagggccctggacaagggctgagtgga tgggatggatcaaccctaacagtggtggcacaactatgcacagaagttcagggcagggcaccatgac cagggacagctccatcagcacagcctacatggagctgagcaggctgagatctgacgacacggccgtgta ttactgtcgagagatcgagggcagctatggtatggtactactactactacggatggacgctctggggccaagg gaccacggtcaccgtctcctca [SEQ ID NO:251] |

ES 2 650 224 T3

| Referenci a | Designació n | Secuencia de ácidos nucleicos/SEQ ID NO. |
|-----------------|------------------|---|
| H1 134 1N1G1 | V _H 4 | <p>cagggtgcagctggtggagctctgggggaggcgtggccagcctgggaggctccctgagactctcctgtgcagc gtctggattcaccttcagtagctatggcatgcactgggtccgccaggctccagggaaggggctggagtggt ggcagttatggtatgatggaagtaataaatactatgcagactccgtgaaggccgattcaccatctccag agacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggctgtgtattac tgtgccagcagcagctggtcctactacggatggacgtctggggccaagggaccacggtcaccgtctctc a [SEQ ID NO:252]</p> |
| H1 143 1N1G1 | V _H 5 | <p>gagggtgcagctggtggagctctgggggaggcctggtaaagcctggggggtcccttagactctcctgtgcagc ctctggattcactgtcagtaacgcctggatgagctgggtccgccaggctccagggaaggggctggagtg gttggccgtattaaaagcaaaactgatgggggacaacagacaacgctgcacccgtgaaaggcagattc accatctcaagagatgattcaaaaaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgaaaaccgaggacaca gccgtgtattactgtaccacagggaggtcattactatggaccgggcccactactactactacggatggac gtctggggccaagggaccacggtcaccgtctctca [SEQ ID NO:253]</p> |
| H1 144 1N1G1 | V _H 6 | <p>gagggtgcagctggtggagctctgggggaggcctggtaaagcctggggggtcccttagactctcctgtgcagc ctctggattcacttcagtaacgcctggatgagctgggtccgccaggctccagggaaggggctggagtg ttggccgtattaaaagcaaaactgatgggggacaacagactacgctgcacccgtgaaaggcagattcac catctcaagagatgattcaaaaaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgaaaaccgaggacacagc cgtgtattactgtaccacagagtactatggtcgggggggtttggtactacggatggacgtctggggccaa gggaccacggtcaccgtctctca [SEQ ID NO: 254]</p> |
| H1 16 1N1G1 | V _H 7 | <p>gagggtgcagctggtggagctctgggggaggcctggtaaagcctggggggtcccttagactctcctgtgcagc ctctggattcacttcagtaacgcctggatgagctgggtccgccaggctccagggaaggggctggagtg ttggccgtattaaaagcaaaactgatggttgacaacagactacgctgcacccgtgaaaggcagattcac catctcaagagatgattcaaaaaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgaaaaccgaggacacagc cgtgtattactgtaccacagatctccgtataactggaactacctattactactactactacggatggacgtctg gggccaagggaccacggtcaccgtctctca [SEQ ID NO:255]</p> |
| H1 2 1N1G1 | V _H 8 | <p>cagggtcagctggtgcagctctggagctgaggatgagaagcctggggcctcagtgaggctcctgcaagg ctctggttacaccttaccagctatggtatcagctgggtgacagggccctggacaagggctgagtggt gggatggatcagcgttacaatggtaacacaaactatgcacagaagctccagggcagagtcaccatgac cacagacacatccacgagcacagcctcatggagctgaggacgctgagatctgacgacacggccgtgt attactgtcgagagagctggttcggggaggatattcttgactactggggccaagggaacctggtcaccgt ctctca [SEQ ID NO:256]</p> |

ES 2 650 224 T3

| Referenci a | Designació n | Secuencia de ácidos nucleicos/SEQ ID NO. |
|-------------------|-------------------|---|
| H1 26 1N1G1 | V _H 9 | <p>gaggTgcagctggtggagctctggggaggcttgtaaagcctgggggtcccttagactctcctgtgcagc ctctggattcactttcagtaacgcctggatgagctgggtccgccaggctccaggaagggctggagtggg ttggccgtattaaaagcaaaactgatggtgggacaacagactacgctgcaccctgaaaggcagattcac catctcaagagatgattcaaaaaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgaaaaccgaggacacagc cgtgtattactgtaccacagagtactatgggtcgggggggttggtactacggtatggacgctctggggccaa gggaccacggtcaccgtctcctca [SEQ ID NO:257]</p> |
| H1 27 1N1G1 | V _H 10 | <p>gaggTgcagctggtggagctctggggaggcttgtaaagcctgggggtcccttagactctcctgtgcagc ctctggattcactttcagtaacgcctggatgagctgggtccgccaggctccaggaagggctggagtggg ttggccgtattaaaagcaaaactgatggtgggacaacagactacgctgcaccctgaaaggcagattcac catctcaagagatgattcaaaaaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgaaaaccgaggacacagc cgtgtattactgtaccacagatggggctacgggtgtaactccgggtactactactacggtacggacgctctg gggccaagggaccacggtcaccgtctcctca [SEQ ID NO:258]</p> |
| H1 30 1N1G1 | V _H 11 | <p>caggttcagctggtgcagctctggagctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaaggtctcctgcaagg cttctggttacaccttaccagctatggtatcagctgggtgcgacaggccccctggacaagggcttgatggat gggatggatcagcgttacaatgtaacacaaactatgcacagaagctccagggcagagtcacatgac cacagacacatccacgagcacagcctacatggagctgaggagcctgagatctgacgacacggccgtgt attactgtcgagagagctggtctggggaggatTTTTTgactactggggccaggaaccctggtcaccgt ctcctca [SEQ ID NO:259]</p> |
| H1 33 1- 1N1G1 | V _H 12 | <p>caggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaaggtctcctgcaagg cttctggatacaccttaccggctactatgactgggtgcgacaggccccctggacaagggcttgaatgga tgggatggatcaaccctaacagtggtggcacaactatgctcagaagttcagggcagggtcacatgac cagggacacgtccatcagcacagcctacatggagctgagcagactgagatctgacgacacggccctttatt actgtgcgagagacagcaactggtaccacaactggtcagccccctggggccaggaaccctggtcaccg tctcctca [SEQ ID NO:260]</p> |
| H1 33 1N1G1 | V _H 13 | <p>caggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaaggtctcctgcaagg cttctggatacaccttaccggctactatgactgggtgcgacaggccccctggacaagggcttgaatgga tgggatggatcaaccctaacagtggtggcacaactatgctcagaagttcagggcagggtcacatgac cagggacacgtccatcagcacagcctacatggagctgagcagactgagatctgacgacacggccctttatt actgtgcgagagacagcaactggtaccacaactggtcagccccctggggccaggaaccctggtcaccg tctcctca [SEQ ID NO:261]</p> |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | Secuencia de ácidos nucleicos/SEQ ID NO. |
|----------------|-------------------|---|
| H1 34 1N1G1 | V _H 14 | <p>gaggTgcagctggtggagctctggggaggcttgtaaagcctgggggtcccttagactctcctgtgcagc ctctggattcactttcagtaacgcctggatgagctgggtccgccaggctccaggaaggggctggagtggtg ttggccgtattaaaagcaaaactgatggtgggacaacagactacgctgcaccctgaaaggcagattcac catctcaagagatgattcaaaaaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgaaaaccgaggacacagc cgtgtattactgtaccacagatggggtacgggtgtaactccgggtactactactacggtagcgtctg ggccaagggaccacggtcaccgtctctca [SEQ ID NO:262]</p> |
| H1 39 1N1G1 | V _H 15 | <p>gaggTgcaactggtggagctctggggaggcttgtaaagcctgggggtcccttagactctcctgtgcagc ctctggattcactttcagtaacgcctggatgagctgggtccgccaggctccaggaaggggctggagtggtg ttggccgtattaaaagcaaaactgatggtgggacagcagactacgctgcaccctgaaaggcagattcac catctcaagagatgattcaaaaaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgaaaaccgaggacacagc cgtgtattactgtaccacagaagggtccctacagtgactacgggtactactactacggtagcgtctggtggc caagggaccacggtcaccgtctctca [SEQ ID NO:263]</p> |
| H1 42 1N1G1 | V _H 16 | <p>caggTtcagctggtgcagctctggagctgaggTgaagaagcctggggcctcagTgaaggTctcctgcaagg cttctggttacaccttaccagctatggtatcagctgggtgcgacaggcccctggacaagggcttgagtgat gggatggatcagcgccttacaatggtaacacaaactatgcacagaagctccagggcagagtcaccatgac cacagacacatccacgagcacagcctacatggagctgaggagcctgagatctgacgacacggccgtgt attactgtcgagagagctggttgcggggaggTattcttTgactactggggccagggaaaccctggtcaccgt ctctca [SEQ ID NO:264]</p> |
| H1 64 1N1G1 | V _H 17 | <p>gaggTgcagctggtggagctctggggaggcttgTlacagcctgggggtccctgagactctcctgtgcagc ctctggattcaccttcagtagctacgacatgcactgggtccgccaggctccaggaagggctggagtggtg ctcaggtattggtactgctggtgacacatactatccaggctccgtgaagggcggattcaacatctccagaga aaatgccaagaactcctgtatcttcaaatgaacagcctgagagccggggacacggctgtgtattactgtgc aagagaggcagctggtacggcttTgactactggggccagggaaaccctggtcaccgtctctca [SEQ ID NO:265]</p> |
| H1 66 1N1G1 | V _H 18 | <p>caggTgcagctggtggagctctggggaggcgtggtccagcctgggaggTccctgagactctcctgtgcagc gtctggattcaccttcagtagctatggcatgcactgggtccgccaggctccaggaaggggctggagtggtg ggcagttatggtatgatggaagtaataactatgcagactccgtgaagggccgattcaccatctccag agacaattccaagagcacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggctgtgtattac tgtgcgactcgtccgggaactactacgatatggacgtctggggccaagggaccacggtcaccgtctctca a [SEQ ID NO:266]</p> |

ES 2 650 224 T3

| Referencia | Designación | Secuencia de ácidos nucleicos/SEQ ID NO. |
|-------------------|-------------------|---|
| V _H 19 | V _H 19 | <p>gaggTgcagctggtggagTctgggggaggctggttagagcctggggggtcccttagactctcctgtgcagc ctctggattcactttcagTaccgctggatgagctgggtccgccaggctccagggaaggggctggagTgggt tggccgtattaaaagcaaaactgatggtgggacaacagactacgctgcacccgtgaaaggcagattcac catctcaagagatgattcaaaaaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgaaaaacgaggacacagc cgtgtattactgtaccacagaaggTccctacagtaactacgggtactactacgggtgtggacgtctggggc caagggaccacggTcaccgtctcctca [SEQ ID NO:267]</p> |
| H1 90 1N1G1 | V _H 20 | <p>CaggTgcagctggtggagTctgggggaggcgtggtccagcctgggaggTccctgagactctcctgtgcag cgtctggattcacctcagtagctatggcatgactgggtccgccaggctccagggaaggggctggagTgg gtggcagttatggtatgatggaagtaataaatactatgcagactccgtgaagggccgattcaccatctcca gagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggctgtgatta ctgtgcgagcagctcTcaaaactctacgatatggacgtctggggccaagggaccacggTcaccgtctcctc a[SEQ ID NO:268]</p> |
| H2 103 1N1G2 | V _H 21 | <p>gaggTgcagctggtggagTctgggggaggcctggttaaagcctggggggtcccttacactctcctgtgcagc ctctggattcactttcaataacgcctggatgagctgggtccgccaggctccagggaaggggctggagTggg ttggccgtattaaaagcaaaactgatggtgggacaacagactacgctgcacccgtgaaaggcagattcac catctcaagagatgattcaaaaaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgaaaaccgaggacacagc cgtgtattactgtaccacagaatattaccatatttTgactggtcttctactactcctactacggatggacgtctg gggccaagggaccacggTcaccgtctcctca [SEQ ID NO:269]</p> |
| H2 131 1N1G2 | V _H 22 | <p>caggTgcagctgcaggagTcggggccaggactggtgaagccttcggagaccctgtccctcacctgcactgt ctctgggtggctccatcagtaattactactggagctggatccggcagTccgccgggaagggactggagTgga ttggcgTatctataccagTgggagcaccactacaacccctccctcaagagTcgaatcatcatgTcagTgg acacgtccaagaaccagTctccctgaagctgagctctgtgaccgccggacacggccgtgtattactgtg cgagagatcgagTctctacggTatggacgtctggggccaagggaccacggTcaccgtctcctca [SEQ ID NO:270]</p> |
| H2 291 1N1G2 | V _H 23 | <p>caggTgcagctggtggagTctgggggaggcgtggtccagcctgggaggTccctgagactctcctgtgcagc gtctggattcacctcagtagctatggcatgactgggtccgccaggctccagggaaggggctggagTgggt ggcagttatggtatgatggaagtataaatactatgcagactccgtgaagggccgattcaccatctccaga gacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggctgtgtattact gtgcgagagaaggggattactccgactactacggTatggacgtctggggccaagggaccacggTcaccg tctcctca [SEQ ID NO:271]</p> |

| Referenci a | Designació n | Secuencia de ácidos nucleicos/SEQ ID NO. |
|-----------------|-------------------|---|
| H2 360 1N1G2 | V _H 24 | <p>cagggtccagctggtacagctctggggctgagggtgaagaagcctggggcctcagtgaaggctcctgcaagg ttccggatacacccctcactgaattatccatgcactgggtgacagggctcctggaaaagggcttgagtggat gggaggtttgatcctgaagatggtgaaacaatctacgcacagaagttccagggcagagtcaccatgacc gaggacacatctacagacacagttfacatggagctgagcagcctgagatctgaggacacggccgtgtatt actgtgcaacaggggtatgattacgtttggggagttatcgtggccactcctactacggataggacgtctgg ggccaagggaccacggtcaccgtctcctca [SEQ ID NO:272]</p> |
| H2 369 1N1G2 | V _H 26 | <p>cagggtccagctggtacagctctggggctgagggtgaagaagcctggggcctcagtgaaggctcctgcaagg ttccggatacacccctcactgaattatccatgcactgggtgacagggctcctggaaaagggcttgagtggat gggaggtttgatcctgaagatggtgaaacaatctacgcacagaagttccagggcagagtcaccatgacc gaggacacatctacagacacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgaggacacggccgtgtatt actgtgcaacaagggctggaacgacgtggcctactactactacgctatggacgtctggggccaagggac caggtcaccgtctcctca [SEQ ID NO:273]</p> |
| H2 380 1N1G2 | V _H 27 | <p>cagggtcagctgcaggagctggggccaggactgggtgaagccttcggagaccctgtccctcacctgcactgt ctctgggtgctccatcagtagttactactggagctggatccggcagccccagggaggactggagtggat ttgggtatatctattacagtggaacaccaactacaaccctccctcaagagtcgattcacctatcaataga cacgtccaagaaccagttcctctgaggctgagctctgtgaccgctgaggacacggccgtgtattactgtgc gtgtatagcaactcggcccttgactactggggccagggaaaccctggcaccgtctcctca [SEQ ID NO:274]</p> |
| H2 475 1N1G2 | V _H 28 | <p>cagggtcagctggtgagctctgggggaggcgtgggtccagcctgggaggtccctgagactcctgtgcagc gtcaggattcacctcatcagctatggcatgcactgggtccgccagggtccaggcaaggggctggagtggg tggcagttatggtatgatggaagtaataaatactatgcagactccgtgaagggccgaltcaccatctccag agacaattccaagaacacgctglatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggcgtgtattac tgtgcgatagcagtggcgactactacggataggacgtctggggccaagggaccacggtcaccgtctcctc a [SEQ ID NO:275]</p> |
| H2 508 1N1G2 | V _H 29 | <p>cagggtccagctggtacagctctggggctgagggtgaagaagcctggggcctcagtgaaggctcctgcaagg ttccggatacacccctcactgaattatccatgcactgggtgacagggctcctggaaaagggcttgagtggat gggaggtttgatcctgaagatggtgaaacaatctacgcacagaagttccagggcagagtcaccatgacc gaggacacatctacagacacagcctatatggagctgagcagcctgagatctgaggacacggccgtgtatt actgtgcaacagcgggctggaatacgggtggttcgaccctggggccagggaaaccctggtcaccgtctc ctca [SEQ ID NO:276]</p> |

ES 2 650 224 T3

| Referenci a | Designació n | Secuencia de ácidos nucleicos/SEQ ID NO. |
|-----------------|-------------------|--|
| H2 534 1N1G2 | V _H 30 | cagggtgcagctgcaggagtcgggcccaggactggggaagccttcacagaccctgtccctcacctgcactgt ctctgggtggctccatcagcagtggtggtactactggagctggatccgccagcaccaggggaagggcctgg agtggattgggtacatctcttacagtggggacacctactacaacccgtccctcaagagtcgactaccatalc agtagacacgtctaagcaccagttctccctgaggctgagctctgtgacttccgcgacacggccgtgatta ctgtgcgagctagaccctacggtagctactttgactactggggccagggaacccctggtcaccgtctcctca [SEQ ID NO:277] |
| H2 550 1N1G2 | V _H 31 | cagggtcagctgggtgcagctctggagctgagggaagaagcctggggcctcaggaaggtctcctgaagg cttctgggttacacctaacacagctatggatcagctgggtgcgacaggcccctggacaagggctgagtgat gggatggatcagcgttacaatggaacccaaactatgcacagaagttccagggcagagtcaccatgacc acagacacatccacgagcacagcctacatggagctgaggagcctgagatctgacgacacggccgtgat tactgtgcgagagatcagggattactagggctcggggaactcagggggctctttgactactggggccaggg aacctggtcaccgtctcctca [SEQ ID NO:278] |
| H2 65 1N1G2 | V _H 32 | gagggtcagctgggtgagctctgggggaggcttggtaaagcctgggggtcccttagactctcctgtgcagc ctctggattcactttcagtaacgcctggatgagctgggtccgccaggctccaggggaagggctggagtggg ttggccgtattaaaacaaaactgatggtgggacaacagactacgctgcaccctgaaagggcagattcac catctcaagagatgattcacaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgaaacaggagacacagc cgtgtattactgtaccacagaatattacggtattgtgactgggtcgttttactactactacggtatggacgtctg ggccaagggaccacggtcaccgtctcctca [SEQ ID NO:279] |
| H1 109 1N1K | V _L 1 | gacatccagatgaccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccag gagcagcagcctcctgcatagtgatgggaagacctattgtattgtacctgcagaagccaggccagcctc tacgatgcatccgatttgatccaggggtcccatcaagggtcagtggaagtgatctgggacagatttacttt caccatcagcagcctacagcctgaagatattgcaacataactgtcaacagtatgttagtctcccgtcactt tcggcggagggaaccaaggtggagatcaaa [SEQ ID NO:280] |
| H1 131 1N1K | V _L 3 | gataatgtgatgaccagactccactctctctgctccgtcaccctggacagccggcctccatctcctgcaagt cgagtcagagcctcctgcatagtgatgggaagacctattgtattgtacctgcagaagccaggccagcctc cacagctcctgatctatgaagctccaaccgggtctctggagtgccagataggtcagtgccagcgggtcag ggacagattcacactgaaaatcagccgggtggaggctgaggatgtggggtttactgtcatgcaaaagta tacagcttctcactttcggcggagggaaccaaggtggagatcaaa [SEQ ID NO:281] |

ES 2 650 224 T3

| Referenci a | Designació n | Secuencia de ácidos nucleicos/SEQ ID NO. |
|----------------|-----------------|---|
| H1 134 1N1K | V.L4 | gacatccagatgaccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcactgccag gcgagtcaggacattaacaactatftaaattggtatcagcagaaaccagggaagcccctaagctcctgat ctacgatgatccaattggaaataggggtccatcaagggtcagtggaagtgatctgggacagatttcatt tcaccatcagcagctgcagcctgaagatattgcaacatattactgtcaacagatgataattcccgttcactt cggcggagggaaccaagggtggagatcaaa [SEQ ID NO:282] |
| H1 143 1N1K | V.L5 | gacatccagatgaccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcactgccag gcgagtcaggacattaacaactatftaaattggtatcagcagaaaccagggaagcccctaagctcctgat ctacgatacatccaattggaaccaggggtccatcaagggtcagtggaagtgatctgggacagatttact ttaccatcagcagcctgcagcctgaagatattgcaacatattactgtcaacaatgataatcctccacctt cggccaagggaacagcactggaaattaa [SEQ ID NO:283] |
| H1 144 1N1K | V.L6 | gacatccagatgaccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcactgccag gcgagtcaggacattagcaactatftaaattggtatcagcagaaaccagggaagcccctaaactcctgat ctacgatgatccaattggaacaggggtccatcaagggtcagtggaagtgatctgggacagatttact ttaccatcagcagcctgcagcctgaagatattgcaacatattactgtcaacagatgataatctgctcacctt cggcggagggaaccaagggtggagatcaaa [SEQ ID NO:284] |
| H1 16 1N1K | V.L7 | gacatccagatgaccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcactgccag gcgagtcaggacattagcaactatftaaattggtatcagcagaaaccagggaagcccctaagttcctgat ctacgatgatccaattggaacaggggtccatcaagggttagtggaagtgatctgggacagatttactt tcaccatcagcagcctgcagcctgaagatattgcaacatattactgtcaacagatgataatctgatcacctt ggccaagggaacagcactggagattaa [SEQ ID NO:285] |
| H1 2 1N1K | V.L8 | gacatcgtgatgaccagctccagactcctggctgtgtctctggcgagagggccaccatcaactgcaa gtccagccagagtgtttagacagctccgacaataagaactacttagctggtaccagcagaaaccaggac agcctcctaagctgctcattactgggcatctaacgggaatccgggtcctgaccgattcagtggcagcg ggctctgggacagatttctctcaccatcagcagcctgcaggctgaagatgtggcagttattactgtcagcaa tattatagtgatccattcacttccggcctgggaccaaaagtggatcaaa [SEQ ID NO:286] |

ES 2 650 224 T3

| Referenci a | Designació n | Secuencia de ácidos nucleicos/SEQ ID NO. |
|-----------------|-----------------|--|
| H1 271N1K | VL10 | gacatccagatgaccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggtgacagagtcaccatcactgccagg cgagtcaggacattagcaactatttaaattggtatcaacagaaaccagggaaagcccctaaactcctgatc tacgatgcatccaatttgaaacaggggtcccatcaagggtcagtggaagtggatctgggacagattttacttt caccatcagcagcctacagcctgaagatattgcaacatattactgtcaacagtatgataatctgctcactttcg gcggagggaccaaggtggagatcaaa [SEQ ID NO:287] |
| H1 30 1N1K | VL11 | gacatcgtgatgaccagctccagactccctggctgtgtctctggcgagagggccaccatcgactgcaa gtccagccaggggtgttttagacagctccaacaataagaactcttagcttggtaccagcagaaaccaggac agcctcctaagctgctcatttactgggcatctaaccgggaatccgggtccctgtccgattcagtggcagcg ggctcgggacagatttcactctcaccatcagcagcctgcaggctgaagatggtgactttactgtcagca atattatagtgatccattcactttcgccctgggaccaagtgatcaaa [SEQ ID NO:288] |
| H1 33-1 1N1K | VL12 | gacatccagatgaccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcactgccgg gcaagttagagcattagactatttaaattggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaaactcctgat ctatgctgcatccagttgtagagtggggtcccatcaagggtcagtggaagtggatctgggacagatttact ctcaccatcagcagctgcaacctgaagattttgcaacttactctgtcaacagacttacagtgaccattcact ttcgccctgggaccaagtgatcaaa [SEQ ID NO:289] |
| H1 34 1N1K | VL13 | gacatccagatgaccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcactgccag gagagtcaggacattagcaactatttaaattggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaaactcctgat ctacgatgcatccaatttgaaacaggggtcccatcaagggtcagtggaagtggatctgggacagattttact ttcaccatcagcagcctacagcctgaagatattgcaacatattactgtcaacagtatgataatctgctcactttc ggcggagggaccaaggtggagatcaaa [SEQ ID NO:290] |
| H1 39 1N1K | VL14 | gacatccagatgaccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcactgccag gagagtcaggacattagcaactatttaaattggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaaactcctgat ctacgatgcatccaatttgaaacaggggtcccatcaagggtcagtggaagtggatctgggacagattttact ttcaccatcagcagcctgcagcctgaagatattgcaacatattactgtcaacagtatgataatctcctcactttc ggcggagggaccaaggtggagatcaaa [SEQ ID NO:291] |

ES 2 650 224 T3

| Referenci a | Designació n | Secuencia de ácidos nucleicos/SEQ ID NO. |
|----------------|-----------------|--|
| H1 1N1K 42 | VL15 | gacatcgtgatgaccagctcaccagactccctggctgtgtctctggcgagagggccaccatcgactgcaa gtccagccagagtgtttagacagctccaacaataagaactcttagcttggtaccagcagaaaccaggac agcctcctaagctgctcattactgggcatctaaccgggaatccggggccctgaccgattcagtggcagcg ggctgggacagattcactctcaccatcagcagcctgcaggctgaagatgtggcagtttactgtcagca atattatagtgatccattcactttcggccctgggaccaagtgatcaaaa [SEQ ID NO:292] |
| H1 1N1K 64 | VL16 | gaaattgtgtgacgcagctcaccagcaccctgtcttctccaggggaaagagccaccctcctgcagg gccagtcagagtgtagcagcgctacttagcctacttagcctggtaccagcagaaacctggccaggctcc caggctcctcatctatggtgatccagcagcgccactggcatcccagacaggttcagtgccagtggtctg ggacagactcactctcaccatcagcagactggagcctgaagatttgcagtgattactgtcagcagatgg tagctaccgatcacctcggccaagggacacgactggagattaaa [SEQ ID NO:293] |
| H1 1N1K 66 | VL17 | gacatccagatgaccagctcaccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcactgccag gagcagtcaggacattagcaacttttaattggtatcagcagagaccagggaaagcccctaagctcctgat ctacgatgatccaattggaaacaggggtcccatcaagggtcagtggaagtgatctgggacagatttact ttaccatcagcagcctgcagcctgaagatattgcaacatattactgtcaacagtatgataatcctccattcac ttcggccctgggaccaagtgatcaaaa [SEQ ID NO:294] |
| H1 1N1K 72 | VL18 | gacatccagatgaccagctcaccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcactgccag gagcagtcaggacattagcaacttttaattggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaagctcctgat ctacgatgatccaattggaaacaggggtcccatcaagggtcagtggaagtgatctgggacagatttact ttaccatcagcagcctgcagcctgaagatattgcaacatattactgtcaacagtatgataatcctccactttc ggcggagggaccaagtgatcaaaa [SEQ ID NO:295] |
| H1 1N1K 90 | VL19 | gacatccagatgaccagctcaccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcactgccag gagcagtcaggacattagcaacttttaattggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaagctcctgat ctacgatgatccaattggaaacaggggtcccatcaagggtcagtggaagtgatctgggacagatttact ttaccatcagcagcctgcagcctgaagatattgcaacatattactgtcaacagtatgatgatctccgatca cctcggccaagggacacgactggagattaaa [SEQ ID NO:296] |

ES 2 650 224 T3

| Referenci a | Designació n | Secuencia de ácidos nucleicos/SEQ ID NO. |
|----------------|-----------------|--|
| H2 103 1N1K | VI.20 | gacatccagatgaccagctccatcctccctgtctgcatctgtgggagacagagtcaccatcacttgccag gagcagtcaggacattagcaactatftaaattggtatcagcagagaccagggaaagcccctaagctcctgat ctacgatgcatccaatttgaaacaggggtcccatacagggttcagtggaagtggatctgggacagatttact ttaccatcagcagcctgagcctgaagatattgcaacatactgtcaacagatgataatctgctcactttc ggcggagggaccaaggtggagatcaaa [SEQ ID NO:297] |
| H2 131 1N1K | VI.21 | gacatccagatgaccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgg gagcagtcagggttttagcaattatttagcctggtatcagcagaaaccagggaaagtccctaagctcctgatc atgctgcatccactttgagtcaggggtcccatacagggttcagtggaagtggatctgggacagattcacttc accatcagcagcctgagcctgaagatgttgcaactattactgtcaaaagtataacagtggccccgctcactt tcggcggagggaccaaggtggagatcaaa [SEQ ID NO:298] |
| H2 360 1N1K | VI.22 | gacatccagatgaccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgg gagcagtcagggttaacaattatttagcctggtatcagcagaaaccagggaaagtccctaagctcctgatc tatgttgcatccactttgcaatcaggggtcccatacagggttcagtggaagtggatctgggacagattcacttc accatcagcagcctgagcctgaagatgttgcaactattactgtcaaaagtataacagtggccccatcacttt cggccctgggaccaaggtggagatcaaa [SEQ ID NO:299] |
| H2 369 1N1K | VI.24 | gacatccagatgaccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgg gcaagtcagagcattagcaggtatftaaattggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaacctcctgat ccatgctgcatccagtttgcaagtggggtcccatacagggttcagtggaagtggatctgggacagattcact ctcaccatcagcagctgcaacctgaagattttgcaactactactgtcaacagagttacattaccctcccag tttggccaggggaccaagctggagatcaaa [SEQ ID NO:300] |
| H2 380 1N1K | VI.25 | gacatccagatgaccagctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgg gcaagtcagggcattagaaatgatttagactggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaagcgcctg atctatgctgcatccagtttgcaagtggggtcccatacagggttcagcggcagtggaagtggatctgggacagaattca cttcacaatcaacagcctgagcctgaagattttgcaactattactgtctacagtataatagttaccgatca ccttcggccaagggacagactggagatcaaa [SEQ ID NO:301] |

| Referencia | Designación | Secuencia de ácidos nucleicos/SEQ ID NO. |
|------------------------|---------------------|---|
| H2 475 1N1K | VL26 | gacatccagatgatccagctcctcctccctgctgcatctgctcggagacagagtcaccatcacttgccagg cgagtcacgacattagcaactatttaaattggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaagtcctgatct ccgatgcatccaattggaaacaggggtcccatcaagggtcagtggaagtggatctgggacagattttacttt caccatcagcagcctgcagcctgaagatattgcaacatattactgtcaacagatgataatctcccgtcact ttcggcggagggaccaaggtggagatcaaa [SEQ ID NO:302] |
| H2 508 1N1K VL27 | H2 508 1N1K VL27 | gatattgtagtactcagctccactctccctgcccgtcaccctggagagccggcctccatctcctgcaggtc tagtcagagcctcctgcatagtaattggatacaactattggattggtacctgcagaagccagggcagtcacc acagttcctgatctattgggtctattcgggctccggggtccctgacaggtcagtgccagtgatcaggca cagattttgactgacaatcagcagagtgaggctgaggatgtgggtttattactgcatgcaagctctaca aactcctcggagctcggccaagggaccaaggtggaaatcaaa [SEQ ID NO:303] |
| H2 534 1N1K VL28 | H2 534 1N1K VL28 | gaaattgctgactcagctccagacttcagctgtgactccaaaggagaaagtcaccatcacctgccgg gccagtcagtacattgtagtagctacactggtaccagcagacaccagatcagctccaagctcctcatc aactatgtttccagctcctctcaggggtccctcgaggtcagtgccagtgatctgggacagattcacct caccatcaatagcctggaagctgaagatgctgcaacgtattactgtcatcagagtagtagttaccattcact tcggcctgggaccaagtgatcaaa [SEQ ID NO:304] |
| H2 550 1N1K VL29 | H2 550 1N1K VL29 | gacatcgtgatgaccagctccagactccctggctgtgctctggtggcgagggccaccatcctgcaag tccagccagagtggtttatacagctccaacaataagaactacttagcttggtaccagcagaaaccaggcca gcctcctaagctgctcattactgggcatctaccgggaatccgggggtccctgaccgattcagtgccagcgg gtctgggacagatttactctcaccatcagcaccctgcaggctgaagatgtggcagtttattactgtcagcaat attatactactcctccgagctcggccaagggaccaaggtggaaatcaaa [SEQ ID NO:305] |
| H2 65 1N1K VL30 | H2 65 1N1K VL30 | gacatccagatgaccagctccatcctcctgctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccag gagtcaggacattaacaactatttaaattggtatcaacagaaaccagggaaagcccctaactcctgat ctacgatgcatccaattggaaacaggggtcccatcaagggtcagtggaagtggatctgggacagattttact ttcaccatcagcagcctgcagcctgaagatattgcaacatattactgtcaacagatgtagatctgctcacttc ggcggagggaccaaggtggagatcaaa [SEQ ID NO:306] |

5 Los ácidos nucleicos que codifican ciertas proteínas de unión a antígeno, o porciones de los mismos (por ejemplo, anticuerpo de longitud completa, cadena pesada o liviana, dominio variable, o CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 o CDRL3) pueden aislarse a partir de células B de ratones que han sido inmunizados con c-fms o un fragmento inmunogénico de los mismos. El ácido nucleico se puede aislar mediante procedimientos convencionales tales como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La presentación en fagos es otro ejemplo de una técnica conocida mediante la cual se pueden preparar derivados de anticuerpos y otras proteínas de unión a antígenos. En una metodología, los polipéptidos que son componentes de una proteína de unión a antígeno de interés se expresan en

cualquier sistema de expresión recombinante adecuado, y los polipéptidos expresados se pueden unir para formar moléculas de proteína de unión a antígeno.

Los ácidos nucleicos proporcionados en las Tablas 6 y 7 son solo de ejemplo. Debido a la degeneración del código genético, cada una de las secuencias polipeptídicas enumeradas en las Tablas 1-4 o representadas de otro modo en el presente documento también están codificadas por un gran número de otras secuencias de ácido nucleico además de las proporcionadas. Un experto en la técnica apreciará que la presente solicitud proporciona, por lo tanto, una descripción escrita adecuada y una habilitación para cada secuencia de nucleótidos degenerada que codifica cada proteína de unión a antígeno.

Un aspecto proporciona además ácidos nucleicos que se hibridan con otros ácidos nucleicos (por ejemplo, ácidos nucleicos que comprenden una secuencia de nucleótidos enumerada en la Tabla 6 y la Tabla 7) en condiciones de hibridación particulares. Los métodos para hibridar ácidos nucleicos son bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. Como se define aquí, una condición de hibridación moderadamente restrictiva usa una solución de prelavado que contiene 5x cloruro de sodio/citrato de sodio (SSC), 0.5% SDS, 1.0 mM EDTA (pH 8.0), regulador de hibridación de aproximadamente 50% formamida, 6x SSC, y una hibridación temperatura de 55°C (u otras soluciones de hibridación similares, tales como una que contiene aproximadamente 50% de formamida, con una temperatura de hibridación de 42°C), y condiciones de lavado de 60°C, en 0.5x SSC, 0.1% de SDS. Una condición de hibridación rigurosa hibrida en 6x SSC a 45°C, seguido de uno o más lavados en 0.1x SSC, 0.2% SDS a 68°C. Además, un experto en la técnica puede manipular las condiciones de hibridación y/o lavado para aumentar o disminuir la rigurosidad de la hibridación de manera que los ácidos nucleicos que comprenden secuencias de nucleótidos que son al menos 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% idénticos entre sí típicamente permanecen hibridados entre sí.

Los parámetros básicos que afectan la elección de las condiciones de hibridación y la guía para idear condiciones adecuadas se exponen, por ejemplo, en Sambrook, Fritsch and Maniatis (2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, supra, y *Current Protocols in Molecular Biology*, 1995, Ausubel et al., eds., John Wiley & Sons, Inc., secciones 2.10 y 6.3-6.4), y pueden ser fácilmente determinados por los expertos en la técnica se basa en, por ejemplo, la composición de la longitud y/o base del ácido nucleico.

Se pueden introducir cambios mediante mutación en un ácido nucleico, lo que conduce a cambios en la secuencia de aminoácidos de un polipéptido (por ejemplo, un anticuerpo o derivado de anticuerpo) que codifica. Las mutaciones se pueden introducir usando cualquier técnica conocida en la técnica. En una realización, uno o más restos de aminoácidos particulares se cambian usando, por ejemplo, un protocolo de mutagénesis dirigida a un sitio. En otra realización, uno o más residuos seleccionados aleatoriamente se cambian usando, por ejemplo, un protocolo de mutagénesis aleatorio. Sin embargo, una vez preparado, un polipéptido mutante puede expresarse y seleccionarse para una propiedad deseada.

Pueden introducirse mutaciones en un ácido nucleico sin alterar significativamente la actividad biológica de un polipéptido que codifica. Por ejemplo, se pueden hacer sustituciones de nucleótidos que conducen a sustituciones de aminoácidos en residuos de aminoácidos no esenciales. Alternativamente, se pueden introducir una o más mutaciones en un ácido nucleico que cambia selectivamente la actividad biológica de un polipéptido que codifica. Por ejemplo, la mutación puede cambiar cuantitativa o cualitativamente la actividad biológica. Ejemplos de cambios cuantitativos incluyen aumentar, reducir o eliminar la actividad. Los ejemplos de cambios cualitativos incluyen cambiar la especificidad del antígeno de un anticuerpo. En una realización, un ácido nucleico que codifica cualquier proteína de unión a antígeno descrita en el presente documento puede mutarse para alterar la secuencia de aminoácidos usando técnicas de biología molecular que están bien establecidas en la técnica. El Ejemplo 4, por ejemplo, describe cómo se mutaron las secuencias de ácido nucleico (véase la Tabla 6) para introducir una o más sustituciones de aminoácidos en ciertas proteínas de unión a antígeno para producir proteínas de unión a antígeno 1.2 SM 1.109 SM y 2.360 SM. Se pueden producir proteínas de unión a antígeno adicionales que contienen otras mutaciones de una manera similar.

Otro aspecto proporciona moléculas de ácido nucleico que son adecuadas para uso como cebadores o sondas de hibridación para la detección de secuencias de ácidos nucleicos. Una molécula de ácido nucleico puede comprender solo una parte de una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido de longitud completa, por ejemplo, un fragmento que puede usarse como sonda o cebador o un fragmento que codifica una porción activa (por ejemplo, un enlace c-fms porción) de un polipéptido.

Las sondas basadas en la secuencia de un ácido nucleico pueden usarse para detectar el ácido nucleico o ácidos nucleicos similares, por ejemplo, transcritos que codifican un polipéptido. La sonda puede comprender un grupo marcador, por ejemplo, un radioisótopo, un compuesto fluorescente, una enzima o un cofactor enzimático. Tales sondas se pueden usar para identificar una célula que expresa el polipéptido.

Otro aspecto proporciona vectores que comprenden un ácido nucleico que codifica un polipéptido o una porción del mismo (por ejemplo, un fragmento que contiene uno o más CDR o uno o más dominios de región variable). Los ejemplos de vectores incluyen, pero no se limitan a, plásmidos, vectores virales, vectores de mamíferos no episomales y vectores de expresión, por ejemplo, vectores de expresión recombinantes. Los vectores de expresión recombinantes pueden comprender un ácido nucleico en una forma adecuada para la expresión del ácido nucleico en una célula

huésped. Los vectores de expresión recombinantes incluyen una o más secuencias reguladoras, seleccionadas sobre la base de las células huésped que se usarán para la expresión, que está operativamente unida a la secuencia de ácido nucleico que se va a expresar. Las secuencias reguladoras incluyen aquellas que dirigen la expresión constitutiva de una secuencia de nucleótidos en muchos tipos de células huésped (por ejemplo, potenciador temprano del gen SV40, promotor del virus del sarcoma de Rous y promotor del citomegalovirus), las que dirigen la expresión de la secuencia de nucleótidos solo en ciertas células, (por ejemplo, secuencias reguladoras específicas de tejido, véase, Voss et al., 1986, Trends Biochem. Sci. 11: 287, Maniatis et al., 1987, Science 236: 1237), y aquellas que dirigen la expresión inducible de una secuencia de nucleótidos en respuesta a un tratamiento o estado particular (por ejemplo, el promotor de metalotionina en células de mamífero y el promotor sensible a tet y/o estreptomycinina en sistemas procarióticos y eucarióticos (véase, id.). Los expertos en la técnica apreciarán que el diseño del vector de expresión puede depender de factores tales como la elección de la célula huésped que se va a transformar, el nivel de expresión de la proteína deseada, etc. Los vectores de expresión se pueden introducir en células huésped para producir proteínas o péptidos, que incluyen proteínas de fusión o péptidos, codificados por ácidos nucleicos como se describe en este documento.

Otro aspecto proporciona células huésped en las que se ha introducido un vector de expresión recombinante. Una célula huésped puede ser cualquier célula procariota (por ejemplo, E. coli) o célula eucariótica (por ejemplo, células de levadura, de insecto o de mamífero (por ejemplo, células CHO)). El ADN del vector se puede introducir en células procariotas o eucariotas mediante técnicas de transformación o transfección convencionales. Para la transfección estable de células de mamífero, se sabe que, dependiendo del vector de expresión y la técnica de transfección utilizada, solo una pequeña fracción de células puede integrar el ADN extraño en su genoma. Con el fin de identificar y seleccionar estos integrantes, generalmente se introduce un gen que codifica un marcador seleccionable (por ejemplo, resistencia a antibióticos) en las células huésped junto con el gen de interés. Los marcadores seleccionables preferidos incluyen aquellos que confieren resistencia a fármacos, tales como G418, higromicina y metotrexato. Las células transfectadas de forma estable con el ácido nucleico introducido pueden identificarse mediante la selección del fármaco (por ejemplo, las células que han incorporado el gen marcador seleccionable sobrevivirán, mientras que las otras células morirán), entre otros métodos.

Preparación de proteínas de unión a antígeno

Los anticuerpos no humanos que se proporcionan pueden derivarse, por ejemplo, de cualquier animal productor de anticuerpos, como ratón, rata, conejo, cabra, asno o primate no humano (como monos (por ejemplo, mono cynomolgus o rhesus) o simio (por ejemplo, chimpancé)). Los anticuerpos no humanos pueden usarse, por ejemplo, en cultivos celulares *in vitro* y aplicaciones basadas en cultivos celulares, o cualquier otra aplicación donde no se produce una respuesta inmune al anticuerpo o es insignificante, puede prevenirse, no es una preocupación, o es deseado. En ciertos aspectos, los anticuerpos pueden producirse inmunizando con c-fms de longitud completa o con el dominio extracelular de c-fms. Alternativamente, los ciertos anticuerpos no humanos pueden aumentarse inmunizando con aminoácidos que son segmentos de c-fms que forman parte del epítipo al que se unen ciertos anticuerpos proporcionados en el presente documento (véase más adelante). Los anticuerpos pueden ser policlonales, monoclonales o pueden sintetizarse en células huésped expresando ADN recombinante.

Se pueden preparar anticuerpos completamente humanos como se describió anteriormente inmunizando animales transgénicos que contienen loci de inmunoglobulina humana o seleccionando una biblioteca de presentación en fago que expresa un repertorio de anticuerpos humanos.

Los anticuerpos monoclonales (mAbs) se pueden producir mediante una variedad de técnicas, que incluyen metodología convencional de anticuerpos monoclonales, por ejemplo, la técnica de hibridación de células somáticas estándar de Kohler y Milstein, 1975, Nature 256: 495. Alternativamente, se pueden emplear otras técnicas para producir anticuerpos monoclonales, por ejemplo, la transformación viral u oncogénica de linfocitos B. Un sistema animal adecuado para preparar hibridomas es el sistema murino, que es un procedimiento muy bien establecido. Los protocolos y técnicas de inmunización para el aislamiento de esplenocitos inmunizados para la fusión son conocidos en la técnica. Para tales procedimientos, las células B de ratones inmunizados se fusionan con un asociado de fusión inmortalizado adecuado, tal como una línea celular de mieloma murino. Si se desea, las ratas u otros mamíferos además se pueden inmunizar en lugar de ratones y las células B de tales animales se pueden fusionar con la línea celular de mieloma murino para formar hibridomas. Alternativamente, se puede usar una línea celular de mieloma de una fuente que no sea el ratón. Los procedimientos de fusión para producir hibridomas también son bien conocidos.

Los anticuerpos monocatenarios que se proporcionan pueden formarse uniendo fragmentos de dominio de cadena pesada y liviana (región Fv) a través de un puente de aminoácidos (enlazador peptídico corto), dando como resultado una única cadena polipeptídica. Tales Fvs de cadena simple (scFvs) pueden prepararse fusionando el ADN que codifica un enlazador peptídico entre los ADN que codifican los dos polipéptidos de dominio variable (V_L y V_H). Los polipéptidos resultantes pueden plegarse sobre sí mismos para formar monómeros de unión a antígeno, o pueden formar multímeros (por ejemplo, dímeros, trímeros o tetrámeros), dependiendo de la longitud de un enlazador flexible entre los dos dominios variables (Kortt et al., 1997, Prot. Eng. 10: 423; Kortt et al., 2001, Biomol. Eng. 18: 95-108). Combinando diferentes polipéptidos que comprenden V_L y V_H , se pueden formar scFv multiméricos que se unen a diferentes epítopos (Kriangkum et al., 2001, Biomol. Eng. 18: 31-40). Las técnicas desarrolladas para la producción de anticuerpos monocatenarios incluyen los descritos en la Patente de los Estados Unidos No. 4,946,778; Bird, 1988,

Science 242: 423; Huston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85: 5879; Ward et al., 1989, Nature 334: 544, de Graaf et al., 2002, Methods Mol Biol. 178: 379-387. Los anticuerpos monocatenarios derivados de anticuerpos proporcionados en la presente incluyen, pero no se limitan a scFvs que comprenden las combinaciones de dominio variable de las regiones variables de cadena pesada y liviana representadas en la Tabla 2, o combinaciones de dominios variables de cadena liviana y pesada que incluyen CDR representadas en Tablas 3 y 4.

Los anticuerpos proporcionados en este documento que son de una subclase se pueden cambiar a anticuerpos de una subclase diferente usando métodos de conmutación de subclase. Por lo tanto, los anticuerpos IgG pueden derivarse de un anticuerpo IgM, por ejemplo, y viceversa. Tales técnicas permiten la preparación de nuevos anticuerpos que poseen las propiedades de unión a antígeno de un anticuerpo dado (el anticuerpo parental), pero también exhiben propiedades biológicas asociadas con un isotipo o subclase de anticuerpo diferente del anticuerpo original. Se pueden emplear técnicas de ADN recombinante. El ADN clonado que codifica polipéptidos de anticuerpos particulares puede emplearse en tales procedimientos, por ejemplo, ADN que codifica el dominio constante de un anticuerpo del isotipo deseado. Véase, por ejemplo, Lantto et al., 2002, Methods Mol. Biol. 178: 303-316.

De acuerdo con esto, los anticuerpos que se proporcionan incluyen aquellos que comprenden, por ejemplo, las combinaciones de dominio variable descritas, supra, que tienen un isotipo deseado (por ejemplo, IgA, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgE e IgD) así como fragmentos Fab o F(ab')₂ de los mismos. Además, si se desea una IgG4, también se puede desear introducir una mutación puntual (CPSCP-> CPPCP) en la región bisagra como se describe en Bloom et al., 1997, Protein Science 6: 407) para aliviar la tendencia a formar enlaces disulfuro de cadena intra-H que pueden conducir a heterogeneidad en los anticuerpos IgG4.

Además, también se conocen técnicas para derivar anticuerpos que tienen diferentes propiedades (es decir, afinidades variables para el antígeno al que se unen). Una de estas técnicas, denominada reorganización de cadenas, implica la visualización de repertorios de genes de dominio variable de inmunoglobulina en la superficie del bacteriófago filamentosos, a menudo denominado presentación en fagos. La transposición de cadenas se ha usado para preparar anticuerpos de alta afinidad para el hapteno 2-feniloxazol-5-ona, como se describe por Marks et al., 1992, BioTechnology 10: 779.

Se pueden hacer modificaciones conservadoras a las regiones variables de cadena pesada y liviana descritas en la Tabla 2, o las CDR descritas en las Tabla 3 y 4 (y modificaciones correspondientes a los ácidos nucleicos codificadoras) para producir una proteína de unión al antígeno c-fms que tiene características funcionales y bioquímicas. Los métodos para lograr tales modificaciones se describen anteriormente.

Las proteínas de unión al antígeno C-fms pueden modificarse adicionalmente de diversas maneras. Por ejemplo, si van a usarse con fines terapéuticos, pueden conjugarse con polietilenglicol (pegilado) para prolongar la vida media en suero o para potenciar la administración de proteínas. Alternativamente, la región V de los anticuerpos en cuestión o fragmentos de los mismos se pueden fusionar con la región Fc de una molécula de anticuerpo diferente. La región Fc utilizada para este propósito puede modificarse de modo que no se una al complemento, reduciendo así la probabilidad de inducir la lisis celular en el paciente cuando la proteína de fusión se usa como agente terapéutico. Además, los anticuerpos en cuestión o fragmentos funcionales de los mismos se pueden conjugar con albúmina de suero humano para mejorar la vida media en suero del anticuerpo o fragmento del mismo. Otro asociado de fusión útil para las proteínas de unión a antígeno o fragmentos de las mismas es la transtirretina (TTR). TTR tiene la capacidad de formar un tetrámero, por lo tanto, una proteína de fusión anticuerpo-TTR puede formar un anticuerpo multivalente que puede aumentar su avidéz de unión.

Alternativamente, se pueden lograr modificaciones sustanciales en las características funcionales y/o bioquímicas de las proteínas de unión a antígeno descritas en la presente invención creando sustituciones en la secuencia de aminoácidos de las cadenas pesada y liviana que difieren significativamente en su efecto sobre el mantenimiento de (a) la estructura de la cadena principal molecular en el área de la sustitución, por ejemplo, como una conformación en lámina o helicoidal, (b) la carga o hidrofobicidad de la molécula en el sitio diana, o (c) el volumen de la cadena lateral. Una "sustitución de aminoácidos conservadora" puede implicar una sustitución de un resto de aminoácido nativo por un residuo no nativo que tiene poco o ningún efecto sobre la polaridad o carga del residuo de aminoácido en esa posición. Véase, Tabla 3, supra. Además, cualquier residuo nativo en el polipéptido también puede estar sustituido con alanina, como se ha descrito previamente para la mutagénesis por barrido de alanina.

Las sustituciones de aminoácidos (ya sean conservadoras o no conservadoras) de los anticuerpos en cuestión pueden ser implementadas por los expertos en la técnica mediante la aplicación de técnicas de rutina. Las sustituciones de aminoácidos se pueden usar para identificar residuos importantes de los anticuerpos proporcionados en el presente documento, o para aumentar o disminuir la afinidad de estos anticuerpos por c-fms humanas o para modificar la afinidad de unión de otras proteínas de unión a antígenos descritas aquí.

Métodos de expresión de proteínas de unión a antígeno

En este documento también se proporcionan sistemas de expresión y constructos en forma de plásmidos, vectores de expresión, casetes de transcripción o de expresión que comprenden al menos un polinucleótido como se describe anteriormente, así como células huésped que comprenden tales sistemas de expresión o constructos.

Las proteínas de unión a antígeno proporcionadas en este documento se pueden preparar mediante cualquiera de varias técnicas convencionales. Por ejemplo, las proteínas de unión al antígeno c-fms pueden producirse mediante sistemas de expresión recombinantes, usando cualquier técnica conocida en el arte. Véase, por ejemplo, Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses, Kennet et al. (eds.) Plenum Press, Nueva York (1980); and Antibodies: A Laboratory Manual, Harlow and Lane (eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1988).

Las proteínas de unión a antígeno se pueden expresar en líneas celulares de hibridoma (por ejemplo, en particular, los anticuerpos se pueden expresar en hibridomas) o en líneas celulares distintas de hibridomas. Los constructos de expresión que codifican los anticuerpos pueden usarse para transformar una célula huésped de mamífero, de insecto o microbiana. La transformación puede realizarse usando cualquier método conocido para introducir polinucleótidos en una célula huésped, que incluye, por ejemplo, empaquetar el polinucleótido en un virus o bacteriófago y transducir una célula huésped con la construcción mediante procedimientos de transfección conocidos en la técnica, como se ejemplifica en la Patente de los Estados Unidos. No. 4,399,216; No. 4,912,040; No. 4,740,461; No. 4,959,455. El procedimiento de transformación óptimo utilizado dependerá del tipo de célula huésped que se está transformando. Los métodos para la introducción de polinucleótidos heterólogos en células de mamífero son bien conocidos en la técnica e incluyen, aunque sin limitación, transfección mediada por dextrano, precipitación con fosfato de calcio, transfección mediada con polibreno, fusión de protoplastos, electroporación, encapsulación de los polinucleótidos en liposomas, mezcla de ácidos nucleicos con lípidos cargados positivamente, y microinyección directa del ADN en núcleos.

Los constructos de expresión recombinante comprenden típicamente una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido que comprende uno o más de los siguientes: una o más CDR proporcionadas en este documento; una región constante de cadena liviana; una región variable de cadena liviana; una región constante de cadena pesada (por ejemplo, C_{H1}, C_{H2} y/o C_{H3}); y/u otra porción de armazón de una proteína de unión a antígeno c-fms. Estas secuencias de ácido nucleico se insertan en un vector de expresión apropiado usando técnicas de ligación estándar. En una realización, la región constante de la cadena pesada o liviana se une al extremo C de la región variable de la cadena pesada o liviana específica anti-c-fms y se liga en un vector de expresión. El vector se selecciona típicamente para que sea funcional en la célula huésped particular empleada (es decir, el vector es compatible con la maquinaria de la célula huésped, lo que permite la amplificación y/o puede ocurrir la expresión del gen). En algunas realizaciones, se usan vectores que emplean ensayos de complementación de fragmentos de proteínas usando informadores de proteínas, tales como dihidrofolato reductasa (véase, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos No. 6,270,964). Se pueden comprar vectores de expresión adecuados, por ejemplo, de Invitrogen Life Technologies o BD Biosciences (anteriormente "Clontech"). Otros vectores útiles para clonar y expresar los anticuerpos y fragmentos incluyen los descritos en Bianchi and McGrew, 2003, Biotech. Biotechnol. Bioeng. 84: 439-44. Se discuten vectores de expresión adicionales adecuados, por ejemplo, en Methods Enzymol., Vol. 185 (D. V. Goeddel, ed.), 1990, Nueva York: Academic Press.

Típicamente, los vectores de expresión usados en cualquiera de las células huésped contendrán secuencias para el mantenimiento del plásmido y para la clonación y expresión de secuencias de nucleótidos exógenas. Dichas secuencias, denominadas colectivamente "secuencias flanqueantes" en ciertas realizaciones incluirán típicamente una o más de las siguientes secuencias de nucleótidos: un promotor, una o más secuencias potenciadoras, un origen de replicación, una secuencia de terminación transcripcional, una secuencia completa de intrón que contiene un sitio de corte y empalme donador y receptor, una secuencia que codifica una secuencia líder para secreción de polipéptido, un sitio de unión a ribosoma, una secuencia de poliadenilación, una región polienlazadora para insertar el ácido nucleico que codifica el polipéptido a expresar y un elemento marcador seleccionable. A continuación se analiza cada una de estas secuencias.

Opcionalmente, el vector puede contener una secuencia codificadora de "etiqueta", es decir, una molécula de oligonucleótido localizada en el extremo 5' o 3' de la secuencia codificante de la proteína de unión al antígeno c-fms; la secuencia de oligonucleótidos codifica poliHis (tal como hexaHis), u otra "etiqueta" tal como FLAG[®], HA (virus de influenza hemaglutinina) o myc, para la que existen anticuerpos comercialmente disponibles. Esta etiqueta típicamente se fusiona con el polipéptido tras la expresión del polipéptido, y puede servir como un medio para la purificación de afinidad o la detección de la proteína de unión al antígeno c-fms de la célula huésped. La purificación de afinidad se puede llevar a cabo, por ejemplo, mediante cromatografía en columna usando anticuerpos contra la etiqueta como matriz de afinidad. Opcionalmente, la etiqueta puede eliminarse posteriormente de la proteína de unión al antígeno c-fms purificada por diversos medios, tales como el uso de ciertas peptidasas para la escisión.

Las secuencias flanqueantes pueden ser homólogas (es decir, de la misma especie y/o cepa que la célula huésped), heterólogas (es decir, de una especie distinta de la especie o cepa de la célula huésped), híbridas (es decir, una combinación de secuencias de flanqueo de más de una fuente), sintético o nativo. Como tal, la fuente de una secuencia flanqueante puede ser cualquier organismo procarionta o eucarionta, cualquier organismo vertebrado o invertebrado, o cualquier planta, con la condición de que la secuencia flanqueante sea funcional y pueda ser activada por la maquinaria de la célula huésped.

Las secuencias de flanqueo útiles en los vectores pueden obtenerse mediante cualquiera de varios métodos bien conocidos en la técnica. Típicamente, las secuencias flanqueantes útiles en la presente invención se habrán

identificado previamente por mapeo y/o digestión con endonucleasas de restricción y, por lo tanto, se pueden aislar de la fuente de tejido apropiada usando las endonucleasas de restricción apropiadas. En algunos casos, puede conocerse la secuencia de nucleótidos completa de una secuencia flanqueante. Aquí, la secuencia flanqueante se puede sintetizar usando los métodos descritos en este documento para síntesis o clonación de ácidos nucleicos.

5 Si se conoce toda o solo una parte de la secuencia flanqueante, puede obtenerse usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y/o cribando una biblioteca genómica con una sonda adecuada tal como un oligonucleótido y/o fragmento de secuencia flanqueante de la misma o otra especie. Cuando la secuencia flanqueante no se conoce, se puede aislar un fragmento de ADN que contiene una secuencia flanqueante de una pieza más grande de ADN que puede contener, por ejemplo, una secuencia codificante o incluso otro gen o genes. El aislamiento se puede realizar por digestión con endonucleasas de restricción para producir el fragmento de ADN apropiado seguido de aislamiento usando purificación en gel de agarosa, cromatografía en columna Qiagen® (Chatsworth, CA), u otros métodos conocidos por los expertos en la técnica. La selección de enzimas adecuadas para lograr este propósito será evidente para un experto en la técnica.

10 Un origen de replicación es típicamente una parte de esos vectores de expresión procariotas adquiridos comercialmente, y el origen ayuda a la amplificación del vector en una célula huésped. Si el vector de elección no contiene un sitio de origen de replicación, puede sintetizarse químicamente uno, basándose en una secuencia conocida y ligarse al vector. Por ejemplo, el origen de la replicación del plásmido pBR322 (New England Biolabs, Beverly, MA) es adecuado para la mayoría de las bacterias gramnegativas y diversos orígenes víricos (por ejemplo, SV40, poliovirus, adenovirus, virus de la estomatitis vesicular (VSV) o papilomavirus tales como HPV o BPV) son útiles para clonar vectores en células de mamífero. En general, el componente de origen de la replicación no es necesario para los vectores de expresión de mamíferos (por ejemplo, el origen de SV40 se usa a menudo solo porque también contiene el promotor temprano del virus).

15 Una secuencia de terminación de la transcripción se localiza típicamente 3' al final de una región de codificación de polipéptido y sirve para terminar la transcripción. Habitualmente, una secuencia de terminación de la transcripción en células procariotas es un fragmento rico en G-C seguido de una secuencia poli-T. Aunque la secuencia se clona fácilmente a partir de una biblioteca o incluso se compra comercialmente como parte de un vector, también se puede sintetizar fácilmente usando métodos para la síntesis de ácidos nucleicos tales como los descritos en este documento.

20 Un gen marcador seleccionable codifica una proteína necesaria para la supervivencia y el crecimiento de una célula huésped cultivada en un medio de cultivo selectivo. Los genes marcadores de selección típicos codifican proteínas que (a) confieren resistencia a antibióticos u otras toxinas, por ejemplo, ampicilina, tetraciclina o kanamicina para células huésped procariotas; (b) complementa las deficiencias auxotróficas de la célula; o (c) suministrar nutrientes críticos no disponibles en medios complejos o definidos. Los marcadores seleccionables específicos son el gen de resistencia a kanamicina, el gen de resistencia a ampicilina y el gen de resistencia a tetraciclina. Ventajosamente, también puede usarse un gen de resistencia a la neomicina para la selección en células huésped tanto procariotas como eucariotas.

25 Se pueden usar otros genes seleccionables para amplificar el gen que será expresado. La amplificación es el proceso en el que los genes que se requieren para la producción de una proteína crítica para el crecimiento o la supervivencia celular se reiteran en tándem dentro de los cromosomas de generaciones sucesivas de células recombinantes. Los ejemplos de marcadores seleccionables adecuados para células de mamífero incluyen dihidrofolato reductasa (DHFR) y genes de timidina quinasa sin promotor. Los transformantes de células de mamífero se colocan bajo presión de selección en donde solo los transformantes están adaptados de manera única para sobrevivir en virtud del gen seleccionable presente en el vector. La presión de selección se impone cultivando las células transformadas en condiciones en las que la concentración de agente de selección en el medio se incrementa sucesivamente, lo que conduce a la amplificación tanto del gen seleccionable como del ADN que codifica otro gen, como una proteína de unión al antígeno que se une al polipéptido c-fms. Como resultado, se sintetizan cantidades aumentadas de un polipéptido tal como una proteína de unión a antígeno a partir del ADN amplificado.

30 Normalmente es necesario un sitio de unión a ribosoma para el inicio de la traducción de ARNm y se caracteriza por una secuencia de Shine-Dalgarno (procariotas) o una secuencia de Kozak (eucariotas). El elemento típicamente se localiza 3' con respecto al promotor y 5' con respecto a la secuencia codificante del polipéptido que se va a expresar.

35 En algunos casos, tal como cuando se desea la glicosilación en un sistema de expresión de células huésped eucarióticas, se pueden manipular las diversas pre- o prosecuencias para mejorar la glucosilación o el rendimiento. Por ejemplo, se puede alterar el sitio de escisión de la peptidasa de un péptido señal particular, o añadir prosecuencias, que también pueden afectar la glicosilación. El producto de proteína final puede tener, en la posición -1 (con respecto al primer aminoácido de la proteína madura), uno o más aminoácidos adicionales que inciden en la expresión, que pueden no haberse eliminado totalmente. Por ejemplo, el producto de proteína final puede tener uno o dos residuos de aminoácidos encontrados en el sitio de escisión de peptidasa, unido al extremo amino. Alternativamente, el uso de algunos sitios de escisión enzimática puede dar como resultado una forma ligeramente truncada del polipéptido deseado, si la enzima corta en dicha área dentro del polipéptido maduro.

40 La expresión y la clonación contendrán típicamente un promotor que es reconocido por el organismo huésped y unido

operativamente a la molécula que codifica la proteína de unión al antígeno c-fms. Los promotores son secuencias no transcritas situadas cadena arriba (es decir, 5') en el codón de inicio de un gen estructural (generalmente dentro de aproximadamente 100 a 1000 pb) que controlan la transcripción del gen estructural. Los promotores se agrupan convencionalmente en una de dos clases: promotores inducibles y promotores constitutivos. Los promotores inducibles inician mayores niveles de transcripción a partir del ADN bajo su control en respuesta a algún cambio en las condiciones de cultivo, como la presencia o ausencia de un nutriente o un cambio en la temperatura. Los promotores constitutivos, por otro lado, transcriben uniformemente un gen al que están enlazados operativamente, es decir, con poco o ningún control sobre la expresión génica. Un gran número de promotores, reconocidos por una variedad de células huésped potenciales, son bien conocidos. Un promotor adecuado está operativamente unido al ADN que codifica la cadena pesada o la cadena liviana que comprende una proteína de unión al antígeno c-fms mediante la eliminación del promotor del ADN fuente mediante digestión con enzimas de restricción e insertando la secuencia promotora deseada en el vector.

Los promotores adecuados para uso con huéspedes de levadura también son bien conocidos en la técnica. Los potenciadores de levadura se usan ventajosamente con promotores de levadura. Los promotores adecuados para uso con células huésped de mamífero son bien conocidos e incluyen, pero no se limitan a, los obtenidos a partir de genomas de virus tales como virus de polio, virus de la viruela aviar, adenovirus (como Adenovirus 2), virus del papiloma bovino, virus del sarcoma aviar, citomegalovirus, retrovirus, virus de la hepatitis B y virus de simio 40 (SV40). Otros promotores de mamíferos adecuados incluyen promotores de mamíferos heterólogos, por ejemplo, promotores de choque térmico y el promotor de actina.

Los promotores adicionales que pueden ser de interés incluyen, pero no se limitan a: promotor temprano de SV40 (Benoit and Chambon, 1981, Nature 290: 304-310); Promotor de CMV (Thomsen et al., 1984, Proc. Natl. Acad. U.S.A. 81: 659-663); el promotor contenido en la repetición terminal larga de 3' del virus del sarcoma de Rous (Yamamoto et al., 1980, Cell 22: 787-797); promotor de la timidina quinasa del herpes (Wagner et al., 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 78: 1444-1445); promotor y secuencias reguladoras del gen de la metalotionina (Prinster et al., 1982, Nature 296: 39-42); y promotores procariotas tales como el promotor de beta-lactamasa (Villa-Kamaroff et al., 1978, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 75: 3727-3731); o el promotor tac (DeBoer et al., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80: 21-25). También son de interés las siguientes regiones de control transcripcional animal, que exhiben especificidad tisular y se han utilizado en animales transgénicos: la región de control del gen elastasa I que es activa en células acinares pancreáticas (Swift et al., 1984, Cell 38: 639-646). Ornitz et al., 1986, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 50: 399-409; MacDonald, 1987, Hepatology 7: 425-515); la región de control del gen de la insulina que es activa en las células beta pancreáticas (Hanahan, 1985, Nature 315: 115-122); la región de control del gen de inmunoglobulina que es activa en células linfoides (Grosschedl et al., 1984, Cell 38: 647-658; Adames et al., 1985, Nature 318: 533-538; Alexander et al., 1987, Mol. Cell Biol. 7: 1436-1444); la región de control del virus del tumor mamario de ratón que es activa en células testiculares, de mama, linfoides y mastocitos (Leder et al., 1986, Cell 45: 485-495); la región de control del gen de la albúmina que está activa en el hígado (Pinkert et al., 1987, Genes and Devel. 1: 268-276); la región de control del gen de alfa-feto-proteína que es activa en el hígado (Krumlauf et al., 1985, Mol. Cell. Biol. 5: 1639-1648; Hammer et al., 1987, Science 253: 53-58); la región de control del gen de alfa 1 antitripsina que es activa en el hígado (Kelsey et al., 1987, Genes and Devel. 1: 161-171); la región de control del gen de beta-globina que es activa en células mieloides (Mogram et al., 1985, Nature 315: 338-340; Kollias et al., 1986, Cell 46: 89-94); la región de control del gen de la proteína básica de la mielina que es activa en células oligodendrocíticas en el cerebro (Readhead et al., 1987, Cell 48: 703-712); la región de control del gen de la cadena liviana de miosina-2 que es activa en el músculo esquelético (Sani, 1985, Nature 314: 283-286); y la región de control del gen de la hormona liberadora gonadotrópica que está activa en el hipotálamo (Mason et al., 1986, Science 234: 1372-1378).

Se puede insertar una secuencia potenciadora en el vector para aumentar la transcripción del ADN que codifica la cadena liviana o cadena pesada que comprende una proteína de unión al antígeno c-fms humano por eucariotas superiores. Los potenciadores son elementos de ADN que actúan en cis, habitualmente de aproximadamente 10-300 pb de longitud, que actúan sobre el promotor para aumentar la transcripción. Los potenciadores son relativamente independientes de orientación y posición, habiéndose encontrado en las posiciones 5' y 3' de la unidad de transcripción. Se conocen varias secuencias potenciadoras disponibles de genes de mamíferos (por ejemplo, globina, elastasa, albúmina, alfafetoproteína e insulina). Típicamente, sin embargo, se usa un potenciador de un virus. El potenciador de SV40, el potenciador del promotor temprano de citomegalovirus, el potenciador de polio y potenciadores de adenovirus conocidos en la técnica son elementos de mejora a modo de ejemplo para la activación de promotores eucarióticos. Mientras que un potenciador puede colocarse en el vector 5' o 3' a una secuencia de codificación, típicamente se localiza en un sitio 5' del promotor. Se puede incorporar una secuencia que codifica una secuencia de señal nativa o heteróloga apropiada (secuencia líder o péptido señal) en un vector de expresión, para promover la secreción extracelular del anticuerpo. La elección del péptido señal o líder depende del tipo de células huésped en las que se va a producir el anticuerpo, y una secuencia de señal heteróloga puede reemplazar a la secuencia de señal nativa. Los ejemplos de péptidos señal que son funcionales en células huésped de mamífero incluyen los siguientes: la secuencia de señal para la interleucina-7 (IL-7) descrita en la Patente de los Estados Unidos No. 4,965,195; la secuencia de señal para el receptor de interleucina-2 descrita en Cosman et al., 1984, Nature 312: 768; el péptido señal del receptor de interleucina-4 descrito en la Patente EP No. 0367 566; el péptido señal del receptor de interleucina 1 tipo I descrito en la Patente de los Estados Unidos No. 4,968,607; el péptido señal del receptor de interleucina-1 de tipo II descrito en la Patente EP No. 0 460 846.

Los vectores de expresión que se proporcionan se pueden construir a partir de un vector de partida tal como un vector comercialmente disponible. Dichos vectores pueden contener o no todas las secuencias flanqueantes deseadas. Cuando una o más de las secuencias flanqueantes descritas en este documento no están ya presentes en el vector, pueden obtenerse individualmente y ligarse en el vector. Los métodos usados para obtener cada una de las secuencias flanqueantes son bien conocidos por un experto en la técnica.

Después de que el vector ha sido construido y una molécula de ácido nucleico que codifica una cadena liviana, una cadena pesada, o una cadena liviana y una cadena pesada que comprende una secuencia de unión al antígeno c-fms ha sido insertada en el sitio apropiado del vector, el vector completado se puede insertar en una célula huésped adecuada para la expresión de amplificación y/o polipéptido. La transformación de un vector de expresión para una proteína de unión al antígeno en una célula huésped seleccionada puede lograrse mediante métodos bien conocidos, incluyendo transfección, infección, fosfato de calcio coprecipitación, electroporación, microinyección, lipofección, DEAE-dextrano transfección mediada por, o de otro tipo conocida técnicas. El método seleccionado será, en parte, una función del tipo de célula anfitriona que se utilice. Estos métodos y otros métodos adecuados son bien conocidos por el experto en la materia, y se exponen, por ejemplo, en Sambrook et al., 2001, supra.

Una célula huésped, cuando se cultiva bajo condiciones apropiadas, sintetiza una proteína de unión a antígeno que posteriormente puede recogerse del medio de cultivo (si la célula huésped la secreta en el medio) o directamente de la célula huésped que la produce (si no se secreta). La selección de una célula huésped apropiada dependerá de diversos factores, tales como niveles de expresión deseados, modificaciones de polipéptidos que son deseables o necesarias para la actividad (tal como glicosilación o fosforilación) y facilidad de plegamiento en una molécula biológicamente activa.

Las líneas celulares de mamífero disponibles como huéspedes para la expresión son bien conocidas en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, líneas celulares inmortalizadas disponibles de la American Type Culture Collection (ATCC), que incluyen pero no se limitan a células de ovario de hámster chino (CHO), células HeLa, células de riñón de hámster bebé (BHK), células de riñón de mono (COS), células de carcinoma hepatocelular humano (por ejemplo, Hep G2) y varias otras líneas celulares. En ciertas realizaciones, las líneas celulares pueden seleccionarse determinando qué líneas celulares tienen altos niveles de expresión y constitutivamente producen anticuerpos con propiedades de unión c-fms. En otra realización, puede seleccionarse una línea celular del linaje de células B que no produce su propio anticuerpo pero que tiene la capacidad de producir y secretar un anticuerpo heterólogo.

Uso de proteínas de unión de antígenos C-fms humanos para propósitos de diagnóstico y terapéuticos

Las proteínas de unión a antígeno son útiles para detectar c-fms en muestras biológicas e identificación de células o tejidos que producen c-fms. Por ejemplo, las proteínas de unión al antígeno c-fms pueden usarse en ensayos de diagnóstico, por ejemplo, ensayos de unión para detectar y/o cuantificar c-fms expresados en un tejido o célula. Las proteínas de unión a antígeno que se unen específicamente a c-fms también pueden usarse en el tratamiento de enfermedades relacionadas con c-fms en un paciente que lo necesita. Además, las proteínas de unión al antígeno c-fms pueden usarse para inhibir que c-fms forme un complejo con su ligando CSF-1, modulando así la actividad biológica de c-fms en una célula o tejido. Ejemplos de actividades que pueden modularse incluyen, pero no se limitan a, inhibir la autofosforilación de c-fms, reducir la quimiotaxis de monocitos, inhibir la migración de monocitos, inhibir la acumulación de macrófagos asociados a tumores en un tumor o tejido enfermo y/o inhibir la angiogénesis. Las proteínas de unión a antígeno que se unen a c-fms pueden así modular y/o bloquear la interacción con otros compuestos de unión y, como tales, pueden tener un uso terapéutico en la mejora de enfermedades relacionadas con c-fms.

Indicaciones

Muchas células tumorales secretan CSF-1 que, a su vez, atrae, promueve la supervivencia de, y activa células de monocitos/macrófagos a través del receptor afín c-fms. Se ha demostrado que el nivel de CSF-1 en tumores humanos se correlaciona positivamente con el número de TAM presentes en esos tumores (Murdoch et al., 2004, Blood 104: 2224-2234). Varios estudios han relacionado los altos números de TAM con la supervivencia del paciente reducida en pacientes con diversas formas de cáncer. Estudios recientes han indicado la existencia de un ciclo autocrino en las células tumorales. Otra investigación indica que c-fms juega un papel en varias enfermedades inflamatorias. Por lo tanto, la regulación de la señalización de c-fms-CSF-1 por las proteínas de unión al antígeno c-fms humanas proporcionadas aquí puede inhibir, interferir o modular al menos una de las respuestas biológicas relacionadas con c-fms, y, como tal, son útiles para mejorar los efectos de las enfermedades o afecciones relacionadas con c-fms. Las proteínas de unión a C-fms proporcionadas en este documento también se pueden usar para el diagnóstico, la prevención o el tratamiento de dichas enfermedades o afecciones.

Una enfermedad o afección asociada con c-fms humanas incluye cualquier enfermedad o afección cuyo inicio en un paciente es causado, al menos en parte, por la interacción de c-fms con el ligando de CSF-1 y/o IL-34. La gravedad de la enfermedad o condición también se puede aumentar o disminuir mediante la interacción de c-fms con CSF-1 y/o IL-34. Los ejemplos de enfermedades y afecciones que pueden tratarse con las proteínas de unión a antígeno incluyen diversos cánceres, enfermedades inflamatorias y trastornos óseos. Las proteínas de unión al antígeno también se pueden usar para tratar o prevenir la metástasis del cáncer y la osteólisis del hueso asociada con la metástasis de

cáncer a hueso. Un alto nivel de TAM se asocia con crecimiento tumoral en una variedad de cánceres, que incluyen: mama (Tsutsui et al., 2005, *Oncol., Rep.* 14: 425-431; Leek et al., 1999, *Br. J Cancer* 79: 991-995; Leek y Harris, 2002, *J. Mammary Gland Biol y Neoplasia* 7: 177-189), próstata (Lissbrant et al., 2000, *Int. J. Oncol.*, 17: 445-451), endometrio. (Ohno et al., 2004, *Anticancer Res.* 24: 3335-3342), vejiga (Hanada et al., 2000, *Int. J. Urol* 7: 263-269), riñón (Hamada et al., 2002, *Anticancer Res* 22: 4281-4284), esofágico (Lewis and Pollard, 2006, *Cancer Res.* 66(2): 606-612), células escamosas (Koide et al., 2004, *Am. J. Gastroenterol.* 99: 1667-1674), melanoma uveal (Makitie et al., 2001, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 42: 1414-1421), linfoma folicular (Farinha et al., 2005, *Blood* 106: 2169-2174), renal y cervical (Kirma). et al., 2007, *Cancer Res* 67: 1918-1926). En los casos de cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de endometrio, cáncer de vejiga, cáncer de riñón, cáncer de esófago, carcinoma de células escamosas, melanoma uveal, linfomas foliculares y cáncer de ovario, los altos niveles de TAM también indican una supervivencia del paciente reducida. Por lo tanto, las proteínas de unión al antígeno c-fms proporcionadas en este documento pueden usarse para inhibir el reclutamiento y disminuir la supervivencia y la función de los TAM en el tumor, afectando así negativamente al crecimiento tumoral y aumentando la supervivencia del paciente.

Otros cánceres que pueden tratarse incluyen, entre otros, tumores sólidos, cáncer de pulmón, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, cerebro, páncreas, cabeza, cuello, hígado, leucemia, linfoma y enfermedad de Hodgkin, mieloma múltiple (Farinha et al., 2005, *Blood* 106: 2169-2174), melanoma, cáncer gástrico, cáncer astrocítico, estómago y adenocarcinoma pulmonar. Ishigami et al., 2003, *Anticancer Research* 23: 4079-4083; Caruso et al., 1999, *Modern Pathology* 12: 386-390; Witcher et al., 2004, *Research Support* 104: 3335-3342; Haran-Ghera et al. 1997, *Blood* 89: 2537-2545; Hussein et al., 2006 *International Journal of Experimental Pathology* 87: 163-76; Lau et al. 2006 *British Journal of Cancer.* 94: 1496-1503, Leung et al. 1997, *Acta Neuropathologica.* 93: 518-527, Giraudo et al., 2004, *Journal of Clinical Investigation* 114: 623-633; Kirma et al., 2007, *Cancer Research* 67: 1918-26, van Ravenswaay et al., 1992, *Laboratory Investigation* 67: 166-174.

Las proteínas de unión a antígeno también se pueden usar para inhibir el crecimiento, la progresión y/o la metástasis del tumor. Tal inhibición se puede controlar usando varios métodos. Por ejemplo, la inhibición puede dar como resultado una reducción del tamaño del tumor y/o una disminución de la actividad metabólica dentro del tumor. Ambos parámetros se pueden medir mediante escaneos MRI o PET, por ejemplo. La inhibición también se puede controlar mediante biopsia para determinar el nivel de necrosis, la muerte de la célula tumoral y el nivel de vascularización dentro del tumor. El alcance de la metástasis y la osteólisis ósea asociada a la metástasis se puede controlar utilizando métodos conocidos.

La evidencia de la existencia de un ciclo autocrino indica que la inhibición de la actividad de c-fms puede tener un impacto en los macrófagos asociados a tumores, pero también en las células tumorales. Por lo tanto, en una realización, los tumores que tienen un ciclo autocrino son apuntados como la diana principal. En otras realizaciones, tanto los TAM como el tumor se dirigen a un efecto combinado. En otras formas de realización más, los tumores que usan un bucle paracrino o un bucle autocrino y paracrino son considerados como dianas.

Las proteínas de unión al antígeno c-fms humanas proporcionadas en este documento pueden administrarse en ciertos aspectos solo, pero también pueden usarse en combinación con una o más opciones de tratamiento del cáncer, tales como, por ejemplo, quimioterapia, radioterapia o cirugía. Si se administra con un agente quimioterapéutico, la proteína de unión al antígeno puede administrarse antes o después del agente quimioterapéutico o al mismo tiempo (por ejemplo, como parte de la misma composición).

Los tratamientos de quimioterapia que se pueden usar en combinación con las proteínas de unión a antígeno que se proporcionan incluyen, pero no se limitan a, agentes antineoplásicos que incluyen agentes alquilantes que incluyen: mostazas de nitrógeno, tales como mecloretamina, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalán y clorambucilo; nitrosoureas, tales como carmustina (BCNU), lomustina (CCNU) y semustina (metil-CCNU); Temodal™ (temozolamida), etileniminas/metilmelamina tal como trietilenmelamina (TEM), trietileno, tiofosforamida (tiotepa), hexametilmelamina (HMM, altretamina); alquilsulfonatos tales como busulfán; triazinas tales como dacarbazina (DTIC); antimetabolitos incluyendo análogos de ácido fólico tales como metotrexato y trimetrexato, análogos de pirimidina tales como 5-fluorouracilo (5FU), fluorodesoxiuridina, gemcitabina, citosina arabinósido (AraC, citarabina), 5-azacitidina, 2,2'-difluorodesoxicetidina, análogos de purina tales como 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, azatioprina, 2'-desoxicoformicina (pentostatina), eritrohidroxiniladenina (EHNA), fosfato de fludarabina y 2-clorodeoxiadenosina (cladribina, 2-CdA); productos naturales que incluyen fármacos antimetabólicos tales como paclitaxel, alcaloides de vinca que incluyen vinblastina (VLB), vincristina y vinorelbina, taxotere, estramustina y fosfato de estramustina; pipodofilotoxinas tales como etopósido y tenipósido; antibióticos tales como actimomicina D, daunomicina (rubidomicina), doxorubicina, mitoxantrona, idarrubicina, bleomicinas, plicamicina (mitramicina), mitomicina C y actinomicina; enzimas tales como L-asparaginasa; modificadores de la respuesta biológica tales como interferón-alfa, IL-2, G-CSF y GM-CSF; agentes diversos que incluyen complejos de coordinación de platino tales como cisplatino y carboplatino, antracenedionas tales como mitoxantrona, urea sustituida tal como hidroxiiurea, derivados de metilhidrazina que incluyen N-metilhidrazina (MIH) y procarbazona, supresores de la corteza suprarrenal tales como mitotano (o, p-DDD) y aminoglutetimida; hormonas y antagonistas que incluyen antagonistas de corticosteroides tales como prednisona y equivalentes, dexametasona y aminoglutetimida; Gemzar™ (gemcitabina), progestina como caproato de hidroxiprogesterona, acetato de medroxiprogesterona y acetato de megestrol; estrógenos tales como equivalentes de dietilstilbestrol y etinil estradiol; antiestrógeno tal como tamoxifeno; andrógenos que incluyen propionato de testosterona y fluoxymesterona/equivalentes; antiandrógenos tales como flutamida, análogos de la

hormona liberadora de gonadotropina y leuprolida; y antiandrógenos no esteroideos tales como flutamida. Las terapias dirigidas al mecanismo epigenético que incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de histona deacetilasa, agentes de desmetilación (por ejemplo, Vidaza) y la administración de terapias de represión transcripcional (ATRA) también se pueden combinar con las proteínas de unión a antígeno.

5 Las terapias contra el cáncer, que se pueden administrar con una proteína de unión a antígeno, también incluyen, pero no se limitan a, terapias dirigidas. Ejemplos de terapias dirigidas incluyen, pero no se limitan a, el uso de anticuerpos terapéuticos. Ejemplos de anticuerpos terapéuticos incluyen, pero sin limitación, anticuerpos de ratón, quiméricos de ratón, injertados con CDR, humanizados y completamente humanos, y anticuerpos sintéticos, que incluyen, pero no se limitan a, los seleccionados mediante el cribado de bibliotecas de anticuerpos. Anticuerpos de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, aquellos que se unen a proteínas de superficie celular Her2, CDC20, CDC33, glicoproteína de tipo mucina y receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR) presente en células tumorales, y opcionalmente inducen un efecto citostático y/o citotóxico sobre las células tumorales que muestran estas proteínas. Los anticuerpos de ejemplo también incluyen HERCEPTIN™ (trastuzumab), que se puede usar para tratar el cáncer de mama y otras formas de cáncer, y RITUXAN™ (rituximab), ZEVALIN™ (ibritumomab tiuxetan), GLEEVEC™ y LYMPHOCIDE™ (epratuzumab), que pueden ser utilizado para tratar el linfoma no Hodgkin y otras formas de cáncer. Ciertos anticuerpos de ejemplo también incluyen ERBITUX™ (IMC-C225); ertinolib (Iressa); BEXXAR™ (yodo 131 tositumomab); Inhibidores de KDR (receptor del dominio de quinasa); anticuerpos y antagonistas anti VEGF (por ejemplo, Avastin™ y VEGAF-TRAP); anticuerpos anti-receptor VEGF y regiones de unión a antígeno; anticuerpos anti-Ang-1 y Ang-2 y regiones de unión a antígeno; anticuerpos para Tie-2 y otros receptores Ang-1 y Ang-2; ligandos Tie-2; anticuerpos contra inhibidores de Tie-2 quinasa; inhibidores de Hif-1a y Campath™ (Alemtuzumab). En ciertas realizaciones, los agentes de terapia del cáncer son polipéptidos que inducen selectivamente apoptosis en células tumorales, que incluyen, pero no se limitan a, el polipéptido TRAIL relacionado con TNF.

Ejemplos específicos adicionales de agentes quimioterapéuticos incluyen taxol, taxanos (por ejemplo, Docetaxel y Taxotere), paclitaxel modificado (por ejemplo, Abraxane y Opaxio), doxorubicina, Avastin®, Sutent, Nexavar y otros inhibidores de multiquinasas, cisplatino y carboplatino, etopósido, gemcitabina, y vinblastina. También se pueden usar inhibidores específicos de otras quinastas en combinación con las proteínas de unión a antígeno, que incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de la vía MAPK (por ejemplo, inhibidores de ERK, JNK y p38), inhibidores de PI3quinasa/AKT e inhibidores de Pim. Otros inhibidores incluyen inhibidores de Hsp90, inhibidores de proteasoma (por ejemplo, Velcade) y múltiples mecanismos de acción de inhibidores tales como Trisenox.

30 En ciertos aspectos, una proteína de unión a antígeno como se proporciona en este documento se usa en combinación con uno o más agentes antiangiogénicos que disminuyen la angiogénesis. Ciertos tales agentes incluyen, pero no se limitan a, antagonistas de IL-8; Campath, B-FGF; antagonistas de FGF; antagonistas de Tek (Cerretti et al., Publicación de los Estados Unidos No. 2003/0162712, Cerretti et al., Patente de los Estados Unidos No. 6,413,932, and Cerretti et al., Patente de los Estados Unidos No. 6.521.424); agentes anti-TWEAK (que incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos y regiones de unión a antígeno); antagonistas del receptor TWEAK solubles (Wiley, Patente de los Estados Unidos No. 6.727.225); un dominio de distintegrina de ADAM para antagonizar la unión de integrina a sus ligandos (Fanslow et al., Publicación de los Estados Unidos No. 2002/0042368); anticuerpos anti-ef y anti-efrina; regiones de unión a antígeno, o antagonistas (Patentes de los Estados Unidos Nos. 5,981,245, 5,728,813, 5,969,110, 6,596,852, 6,232,447, 6,057,124 y miembros de la familia de patentes de la misma); agentes anti-VEGF (por ejemplo, anticuerpos o regiones de unión a antígeno que se unen específicamente a VEGF, o receptores de VEGF solubles o regiones de unión a ligando de los mismos) tales como Avastin™ o VEGF-TRAP™ y agentes de receptor anti-VEGF (por ejemplo, anticuerpos o antígeno regiones de unión que se unen específicamente a la misma), agentes inhibidores de EGFR (por ejemplo, anticuerpos o regiones de unión a antígeno que se unen específicamente a los mismos) tales como panitumumab, IRESSA™ (gefitinib), TARCEVA™ (erlotinib), anti-Ang-1 y anti-Ang-2 agentes (por ejemplo, anticuerpos o regiones de unión a antígeno que se unen específicamente a ellos o a sus receptores, por ejemplo, Tie-2/TEK) y agentes inhibidores de anti-Tie-2 quinasa (por ejemplo, anticuerpos o regiones de unión a antígeno que se unen e inhiben específicamente actividad de factores de crecimiento, como antagonistas del factor de crecimiento de hepatocitos (HGF, también conocido como factor de dispersión) y anticuerpos o regiones de unión a antígeno que se unen específicamente a su receptor "c-met"; antagonistas anti-PDGF-BB; anticuerpos y regiones de unión a antígeno a ligandos de PDGF-BB; e inhibidores de PDGFR quinasa.

Otros agentes antiangiogénicos que se pueden usar en combinación con una proteína de unión a antígeno incluyen agentes tales como inhibidores de MMP-2 (metaloproteinasa de matriz 2), inhibidores de MMP-9 (metaloproteinasa de matriz 9) y COX-II (inhibidores de la ciclooxigenasa II). Ejemplos de inhibidores COX-II útiles incluyen CELEBREX™ (celecoxib), valdecoxib y rofecoxib.

55 En ciertas realizaciones, los agentes de terapia del cáncer son inhibidores de la angiogénesis. Algunos de tales inhibidores incluyen, pero no se limitan a, SD-7784 (Pfizer, Estados Unidos); cilengitide. (Merck KGaA, Alemania, EPO 770622); pegaptanib octasodium, (Gilead Sciences, Estados Unidos); Alphastatin, (BioActa, Reino Unido); M-PGA, (Celgene, Estados Unidos, Patente de los Estados Unidos No. 5,712,291); ilomastat, (Arriva, Estados Unidos, Patente de los Estados Unidos No. 5,892,112); semaxanib, (Pfizer, Estados Unidos, Patente de los Estados Unidos No. 5,792,783); vatalanib, (Novartis, Suiza); 2-metoxiestradiol, (EntreMed, Estados Unidos); TLC ELL-12, (Elan, Irlanda); acetato de anecortave, (Alcon, Estados Unidos); alpha-D148 Mab, (Amgen, Estados Unidos); CEP-7055, (Cephalon, Estados Unidos); anti-Vn Mab, (Crucell, Países Bajos) DAC: antiangiogénico, (ConjuChem, Canadá); Angiocidina,

(InKine Pharmaceutical, EE. UU.); KM-2550, (Kyowa Hakko, Japón); SU-0879, (Pfizer, Estados Unidos); CGP-79787, (Novartis, Suiza, EP 970070); Tecnología ARGENT, (Ariad, Estados Unidos); YIGSR-Stealth, (Johnson & Johnson, Estados Unidos); fragmento de fibrinógeno-E, (BioActa, UK); inhibidor de la angiogénesis, (Trigen, Reino Unido); TBC-1635, (Encysive Pharmaceuticals, Estados Unidos); SC-236, (Pfizer, Estados Unidos); ABT-567, (Abbott, Estados Unidos); Metastatina, (EntreMed, Estados Unidos); inhibidor de la angiogénesis, (Tripep, Suecia); maspin, (Sosei, Japón); 2-metoxiestradiol, (Oncology Sciences Corporation, Estados Unidos); ER-68203-00, (IVAX, Estados Unidos); Benefin, (Lane Labs, Estados Unidos); Tz-93, (Tsumura, Japón); TAN-1120, (Takeda, Japón); FR-111142, (Fujisawa, Japón, JP 02233610); factor de plaquetas 4, (RepliGen, USA, EP 407122); antagonista del factor de crecimiento endotelial vascular, (Borean, Dinamarca); terapia contra el cáncer, (Universidad de Carolina del Sur, Estados Unidos); bevacizumab (pINN), (Genentech, Estados Unidos); inhibidores de la angiogénesis, (SUGEN, Estados Unidos); XL 784, (Exelixis, Estados Unidos); XL 647, (Exelixis, Estados Unidos); MAb, integrina alfa5beta3, segunda generación, (Applied Molecular Evolution, Estados Unidos and MedImmune, Estados Unidos); terapia génica, retinopatía, (Oxford BioMedica, Reino Unido); enzastaurin clorhidrato (USAN), (Lilly, Estados Unidos); CEP 7055, (Cephalon, Estados Unidos and Sanofi-Synthelabo, Francia); BC 1, (Genoa Institute of Cancer Research, Italia); inhibidor de la angiogénesis, (Alchemia, Australia); antagonista de VEGF, (Regeneron, Estados Unidos); rBPI 21 y antiangiogénico derivado de BPI, (XOMA, Estados Unidos); PI 88, (Progen, Australia); cilengitide (pINN), (Merck KGaA, Alemania; Munich Technical University, Alemania, Scripps Clinic and Research Foundation, Estados Unidos); cetuximab (INN), (Aventis, Francia); AVE 8062, (Ajinomoto, Japón); AS 1404, (Cancer Research Laboratory, Nueva Zelanda); SG 292, (Telios, Estados Unidos); Endostatin, (Boston Childrens Hospital, Estados Unidos); ATN 161, (Attenuon, Estados Unidos); ANGIOSTATINA, (Boston Childrens Hospital, Estados Unidos); 2-metoxiestradiol, (Boston Childrens Hospital, Estados Unidos); ZD 6474, (AstraZeneca, Reino Unido); ZD 6126, (Angiogene Pharmaceuticals, Reino Unido); PPI 2458, (Praecis, EE. UU.); AZD 9935, (AstraZeneca, Reino Unido); AZD 2171, (AstraZeneca, Reino Unido); vatalanib (pINN), (Novartis, Suiza and Schering AG, Alemania); inhibidores de la vía del factor tisular, (EntreMed, Estados Unidos); pegaptanib (Pinn), (Gilead Sciences, Estados Unidos); xanthorrhizol, (Universidad de Yonsei, Corea del Sur); vacuna, basada en genes, VEGF-2, (Scripps Clinic and Research Foundation, Estados Unidos); SPV5.2, (Supratek, Canadá); SDX 103, (Universidad de California en San Diego, Estados Unidos); PX 478, (ProIX, Estados Unidos); METASTATINA, (EntreMed, Estados Unidos); troponina 1, (Universidad de Harvard, Estados Unidos); SU 6668, (SUGEN, Estados Unidos); OXI 4503, (OXIGENE, Estados Unidos); o-guanidinas, (Dimensional Pharmaceuticals, Estados Unidos); motuporamine C, (British Columbia University, Canadá); CDP 791, (Celltech Group, Reino Unido); atiprimod (PINN), (GlaxoSmithKline, Reino Unido); E 7820, (Eisai, Japón); CYC 381, (Universidad de Harvard, Estados Unidos); AE 941, (Aeterna, Canadá); vacuna, angiogénesis, (EntreMed, Estados Unidos); inhibidor del activador del plasminógeno uroquinasa, (Dendreon, Estados Unidos); oglufanida (pINN), (Melmotte, Estados Unidos); Inhibidores de HIF-1alfa, (Xenova, Reino Unido); CEP 5214, (Cephalon, Estados Unidos); BAY RES 2622, (Bayer, Alemania); Angiocidina, (InKine, Estados Unidos); A6, (Angstrom, Estados Unidos); KR 31372, (Instituto de Investigación de Corea de Tecnología Química, Corea del Sur); GW 2286, (GlaxoSmithKline, Reino Unido); EHT 0101, (ExonHit, Francia); CP 868596, (Pfizer, Estados Unidos); CP 564959, (OSI, Estados Unidos); CP 547632, (Pfizer, Estados Unidos); 786034, (GlaxoSmithKline, Reino Unido); KRN 633, (Kirin Brewery, Japón); sistema de administración de fármacos, intraocular, 2-metoxiestradiol, (EntreMed, Estados Unidos); anginex, (Universidad de Maastricht, Países Bajos, y Universidad de Minnesota, Estados Unidos); ABT 510, (Abbott, Estados Unidos); ML 993, (Novartis, Suiza); VEGI, (Proteom Tech, Estados Unidos); inhibidores del factor de necrosis tumoral alfa (National Institute on Aging, Estados Unidos); SU 11248, (Pfizer, Estados Unidos and SUGEN Estados Unidos); ABT 518, (Abbott, Estados Unidos); YH16, (Yantai Rongchang, China); S-3APG, (Boston Childrens Hospital, Estados Unidos and EntreMed, Estados Unidos); MAb, KDR, (ImClone Systems, Estados Unidos); MAb, alfa5 beta1, (Protein Design, EE. UU.); Inhibidor de KDR quinasa, (Celltech Group, UK and Johnson & Johnson, Estados Unidos); GFB 116, (Universidad del Sur de la Florida, Estados Unidos and Universidad de Yale, Estados Unidos); CS 706, (Sankyo, Japón); combretastatin A4 profármaco, (Arizona State University, Estados Unidos); condroitinasa AC, (IBEX, Canadá); BAY RES 2690, (Bayer, Alemania); AGM 1470, (Universidad de Harvard, Estados Unidos, Takeda, Japón y TAP, Estados Unidos); AG 13925, (Agouron, Estados Unidos); tetratiomolibdato, (Universidad de Michigan, Estados Unidos); GCS 100, (Universidad Estatal de Wayne, Estados Unidos) CV 247, (Ivy Medical, Reino Unido); CKD 732, (Chong Kun Dang, Corea del Sur); MAb, factor de crecimiento del endotelio vascular, (Xenova, Reino Unido); irsogladine (INN), (Nippon Shinyaku, Japón); RG 13577, (Aventis, Francia); WX 360, (Wilex, Alemania); escualamina (pINN), (Genaera, EE. UU.); RPI 4610, (Sima, EE. UU.); terapia contra el cáncer, (Marinova, Australia); inhibidores de heparanasa, (InSight, Israel); KL 3106, (Kolon, Corea del Sur); Honokiol, (Universidad de Emory, EE. UU.); ZK CDK, (Schering AG, Alemania); ZK Angio, (Schering AG, Alemania); ZK 229561, (Novartis, Suiza, y Schering AG, Alemania); XMP 300, (XOMA, EE. UU.); VGA 1102, (Taisho, Japón); Moduladores del receptor de VEGF, (Pharmacopeia, EE. UU.); Antagonistas VE-cadherin-2, (ImClone Systems, EE. UU.); Vasostatin, (Institutos Nacionales de Salud, EE. UU.); vacuna, Flk-1, (ImClone Systems, EE. UU.); TZ 93, (Tsumura, Japón); TumStatin, (Beth Israel Hospital, EE. UU.); FLT 1 soluble truncado (receptor 1 del factor de crecimiento endotelial vascular), (Merck & Co, EE. UU.); Ligandos Tie-2, (Regeneron, EE. UU.); inhibidor de la trombospondina 1, (Allegheny Health, Education and Research Foundation, EE. UU.); 2-bencensulfonamida, 4-(5-(4-clorofenil) -3- (trifluorometil) -1H-pirazol-1-il) -; Arriva; y C-Met. Monohidrocloreto de AVE 8062 ((2S) -2-amino-3-hidroxi-N-[2-metoxi-5-[(1Z)-2-(3,4,5-trimetoxifenil)etil]fenil]propanamida); metelimumab (pINN) (inmunoglobulina G4, factor de crecimiento transformante humano beta.1 (cadena humana monoclonal CAT 192.gamma)), disulfuro con dímero de cadena humana CAT 192.kappa); ligando Flt3; ligando de CD40; interleucina-2; interleucina-12; ligando 4-1BB; anticuerpos anti-4-1BB; antagonistas de TNF y antagonistas de receptor de TNF que incluyen TNFR/Fc; antagonistas de TWEAK y antagonistas de TWEAK-R que incluyen TWEAK-R/Fc; SENDERO; antagonistas de VEGF que incluyen anticuerpos anti-VEGF; receptor de VEGF (incluidos VEGF-R1 y VEGF-R2, también conocidos como

antagonistas de Flt1 y Flkl o KDR); CD148 (también denominado DEP-1, ECRTP y PTPRJ, ver Takahashi et al., J. Am. Soc. Nephrol., 10: 213545 (1999) agonistas; inhibidor de trombospondina 1 e inhibidores de uno o ambos de Tie-2 o ligandos Tie-2 (tales como Ang-2). Se conocen en la técnica varios inhibidores de Ang-2, que incluyen anticuerpos anti-Ang-2 descritos en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos publicada No. 20030124129 (correspondiente a la solicitud PCT publicada) como No. WO03/030833) y la Patente de los Estados Unidos No. 6.166.185. Además, los peptidocuerpos de Ang-2 son también conocidos en la técnica, y se pueden encontrar en, por ejemplo, la Solicitud de Patente de Estados Unidos publicada No. 20030229023 (correspondiente a la Solicitud PCT publicado como el No. WO03/057134), y la Solicitud de Patente de los Estados Unidos publicada No. 20030236193.

Ciertos agentes de terapia del cáncer incluyen, pero no se limitan a: talidomida y análogos de talidomida (N-(2,6-dioxo-3-piperidil)ftalimida); tecogalan sódico (polisacárido sulfatado peptidoglicano); TAN 1120 (8-acetil-7,8,9,10-tetrahidro-6,8,11-trihidroxi-1-metoxi-10-[[octahidro-5-hidroxi-2-(2-hidroxipropil)-4, 10-dimetilpirano[3,4-d]-1,3,6-dioxazocin-8-il]oxi]-5,12-naftalendiona); suradista (7,7'-[carbonilbis[imino(1-metil-1H-pirrol-4,2-diil)carbonilimino(1-metil-1H-pirrol-4,2-diil)carbonil-limino]]bis sal tetrasódica del ácido -1,3-naftalenedisulfónico); SU 302; SU 301; SU 1498 ((E)-2-ciano-3-[4-hidroxi-3,5-bis (1-metiletil)fenil]-N-(3-fenilpropil)-2-propenamida); SU 1433 (4-(6,7-dimetil-2-quinoxalil)-1-, 2-bencenodiol); ST 1514; SR 25989; Tie-2 soluble; derivados de SERM, Pharmos; semaxanib (pINN) (3-[[3,5-dimetil-1H-pirrol-2-il)metileno]-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona); S 836; RG 8803; RESTIN; R 440 (3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-1H-pirrol-2,5-diona); R 123942 (1-[6-(1,2,4-tiadiazol-5-il)-3-piridazinil]-N-[3-(trifluorometil)fenil]-4-piperidinamina); inhibidor de prolil hidroxilasa; genes de progresión elevada; prinomastat (INN) (ácido ((S)-2,2-dimetil-4-[[p-(4-piridiloxi)fenil]sulfonil]-3-tiomorfolinocarbohidroxámico); NV 1030; NM3 (ácido 8-hidroxi-6-metoxi-alfa-metil-1-oxo-1H-2-benzopiran-3-acético); NF 681; NF 050; MIG; METH 2; METH 1; manassantin B (alpha-[1-[4-[5-[4-[2-(3,4-dimetoxifenil)-2-hidroxi-1-metiletoxi]-3-metoxifenil]tetrahidro-3,4-dimetil-2-furanil]-2-metoxifenoxi]etil]-1,3-benzodioxol-5-metanol); anticuerpo monoclonal KDR; anticuerpo monoclonal de integrina alfa5beta3; LY 290293 (iterilo de 2-amino-4-(3-piridinil)-4H-nafto [1,2-b]-piran-3-carbono); KP 0201448; KM 2550; péptidos específicos de integrina; INGN 401; GYKI 66475; GYKI 66462; greenstatina (101-354-plasminógeno (humano)); terapia génica para artritis reumatoide, cáncer de próstata, cáncer de ovario, glioma, endostatina, cáncer colorrectal, ATF BTPI, genes de antiangiogénesis, inhibidor de la angiogénesis o angiogénesis; inhibidor de la gelatinasa, FR 111142 (ácido 4,5-dihidroxi-2-hexenoico 5-metoxi-4-[2-metil-3-(3-metil-2-butenil)oxiranil]-1-oxaspiro[2.5]oct-éster 6-il); ácido forfenimex (PINN) (S)-alfa-amino-3-hidroxi-4-(hidroximetil) bencenoacético); antagonista de fibronectina (1-acetil-L-prolil-L-histidil-L-seril-L-cisteinil-L-aspartamida); inhibidor del receptor del factor de crecimiento fibroblástico; antagonista del factor de crecimiento de fibroblastos; FCE 27164 (7,7'-[carbonilbis[imino(1-metil-1H-pirrol-4,2-diil)carbonilimino(1-metil-1H-pirrol-4,2-diil)carbonilimino]-]bis-sal de hexasodio del ácido 1,3,5-naftaleno-trisulfónico); FCE 26752 (8,8'-[carbonilbis[imino(1-metil-1H-pirrol-4,2-diil)carbonilimino(1-metil-1H-pirrol-4,2-diil)carbonilimino]]bis- ácido 1,3,6-naftaleno-trisulfónico); polipéptido II que activa monocitos endoteliales; oligonucleótido antisentido de VEGFR; factores antiangiogénicos y tróficos; agente angiostático ANCHOR; endostatina; proteína angiogénica Del-1; CT 3577; contortrostatin; CM 101; condroitinasa AC; CDP 845; CanStatin; BST 2002; BST 2001; BLS 0597; BIBF 1000; ARRESTIN; apomigren (colágeno XV de tipo 1304-1388 (precursor de la cadena COL15A1 alpha1 del gen humano)); angioinhibina; aaATIII; A 36; acetato de 9alfa-fluoromedroxiprogesterona ((6-alfa)-17-(acetiloxi) -9-fluoro-6-metil-pregn-4-eno-3,20-diona); ácido 2-metil-2-ftalimidino-glutárico (ácido 2-(1,3-dihidro-1-oxo-2H-isoindol-2-il)-2-metilpentanodioico); anticuerpo monoclonal marcado con itrio 90 BC-1; Semaxanib (3-(4,5-Dimetilpirrol-2-ilmetileno) indolin-2-ona) (C15H14N2O); PI 88 (fosfomannopentaosa sulfato); Alvocidib (4H-1-Benzopiran-4-ona, 2-(2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(3-hidroxi-1-metil-4-piperidinil)-cis- - (-) -) (C21-H2O Cl N 05); E 7820; SU 11248 (2-dietilaminoetil) amida del ácido 5-(3-fluoro-2-oxo-1,2-dihidroindol-(3Z)-ilidenometil)-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxílico) (C22 H27 F N4 O2); Escualamina (colestano-7,24-diol, 3-[[3-[(4-aminobutil)aminopropil]amino]-, 24-(hidrogenosulfato), (3.beta, 5.alfa, 7.alfa.) -) (C34 H65 N3 O. sub. 5 S); Eriochrome Black T; AGM 1470 (ácido carbámico, (cloroacetilo)-, 5-metoxi-4-[2-metil-3-(3-metil-2-butenil)oxiranil]-1-oxaspiro[2,5]oct-- 6-il éster, [3R-[3alfa, 4alfa (2R, 3R), 5 beta, 6 beta]]) (C19 H28 Cl N 06); AZD 9935; BIBF 1000; AZD 2171; ABT 828; KS-interleucina-2; Uteroglobina; A 6; Inhalador de NSC 639366 (1-[3-(dietilamino)-2-hidroxipropilamino]-4- -(oxirán-2-ilmetilamino)antraquinona fumarato) (C24 H29 N3 O4. C4 H4 O4); ISV 616; proteínas de fusión anti-ED-B; HUI 77; Troponina I; anticuerpo monoclonal BC-1; SPV 5.2; ER 68203; CKD 731 (3R, 4S, 5S, 6R)-4-[2(R)-metil-3(R)-3 éster de ácido (3-(3,4,5-Trimetoxifenil-1)-2(E)-propenoico; (R)-(3-metil-2-butenil)oxiran-2-il]-5-metoxi-1-oxaspiro[2.5]oct-6-ilo) (C28 H38 O8); IMC-1C11; aaATIII; SC 7; CM 101; Angiocol; Kringle 5; CKD 732 (ácido 3-[4-[2-(dimetilamino)etoxi]fenil]-2(E)-propenoico) (C29 H41 N O6); U 995; Canstatin; SQ 885; CT 2584 (1-[11-(Dodecilamino)-10-hidroxundecil]-3,7-dimetilxantina) (C30 H55 N5 O3); Salmosina; EMAP II; TX 1920 (1-(4-Metilpiperazino)-2-(2-nitro-1H-1-imidazoil)-1-etanona) (C10 H15 N5 O3); Inhibidor de Alpha-v Beta-3; CHIR 11509 (N-(1-Propinil)glicil-[N-(2-naftil)]glicil-[N-(carbamoilmetil)]glicilina bis(4-metoxifenil)metilamida) (C36 H37 N5 O6); BST 2002; BST 2001; B 0829; FR 111142; ácido 4,5-dihidroxi-2(E)-hexenoico (3R, 4S, 5S, 6R)-4-[1(R),2(R)-epoxi-1,5-dimetil-4-hexenilo]-5-metoxi-1-oxaspiro[2.5]octan-6-il éster (C22 H34 O7); e inhibidores de quinasas que incluyen, pero no se limitan a, N-(4-clorofenil)-4-(4-piridinilmetil)-1-ftalazinamina; 4-[4-[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi]-N-metil-2-piridincarboxamida; N-[2-(dietilamino)etil]-5-[[5-fluoro-1-, -2-dihidro-2-oxo-3H-indol-3-ilideno)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida; 3-[[4-bromo-2,6-difluorofenil]metoxi]-5-[[[4-(1-pirrolidinil)butil]amino]carbonil]amino]-4-isotiazolcarboxamida; N-(4-bromo-2-fluorofenil)-6-metoxi-7-[[1-metil-4-piperidinil]metoxi]-4-quinazolinamina; 3-[5,6,7,13-tetrahidro-9-[[1-metiletoxi]metil]-5-oxo-12H-indeno [2,1-a]pirrolo[3,4-c]carbazol-12-il]propil éster N,N-dimetilglicina; N-[5-[[[5-(1,1-dimetiletil)-2-oxazolil]metil]tiomo]-2-tiazolil]-4-piperidinacarboxamida; N-[3-cloro-4-[[3-fluorofenil]metoxi]fenil]-6-[5-[[[2-(metilsulfonil)etil]amino]metil]-2-furanil]4-quinazolilamina; 4-[[4-Metil-1-piperazinil]metil]-N-[4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-fenil]benzamida; N-(3-

cloro-4-fluorofenil)-7-metoxi-6-[3-(4-morfolinil)propoxi]-4-quinazolinamina; N-(3-etinilfenil)-6,7-bis(2-metoxietoxi)-4-quinazolinamina; N-(3-(((2R)-1-metil-2-pirrolidinil) metil) oxi)-5-(trifluorometil)fenil-1)-2-((3-(1,3-oxazol-5-il)fenil)amino)-3-piridinacarboxamida; 2-(((4-fluorofenil) metil)amino)-N-(3-(((2R)-1-metil-2-pirrolidinil)metil)oxi)-5-(trifluorometil)fenil)-3-piridinacarboxamida; N-[3-(Azetidín-3-ilmetoxi)-5-trifluorometil-fenil]-2-(4-fluoro-bencilamino)-nicotinamida; 6-fluoro-N-(4-(1-metiletil)fenil)-2-((4-piridinilmetil)amino)-3-piridinacarboxamida; 2-((4-piridinilmetil)amino)-N-(3-(((2S)-2-pirrolidinilmetil) oxi)-5-(trifluorometil)fenil)-3-piridinacarboxamida; N-(3-(1,1-dimetiletil)-1H-pirazol-5-il)-2-((4-piridinilmetil)amino)-3-piridinacarboxamida; N-(3,3-dimetil-2,3-dihidro-1-benzofuran-6-il)-2-((4-piridinilmetil)amino)-3-piridinacarboxamida; N-(3-(((2S)-1-metil-2-pirrolidinil)metil)oxi)-5-(trifluorometil)fenil)-2-((4-piridinilmetil)amino)-3-piridinacarboxamida; 2-((4-piridinilmetil)amino)-N-(3-((2-(1-pirrolidinil)etil)oxi)-4-(trifluorometil)fenil)-3-piridinacarboxamida; N-(3,3-dimetil-2,3-dihidro-1H-indol-6-il)-2-((4-piridinilmetil)amino)-3-piridinacarboxamida; N-(4-(pentafluoroetil)-3-(((2S)-2-pirrolidinilmetil-1)oxi)fenil)-2-((4-piridinilmetil)amino)-3-piridinacarboxamida; N-(3-((3-azetidínilmetil)oxi)-5-(trifluorometil)fenil)-2-((4-piridinilmetil)amino)-3-piridinacarboxamida; N-(3-(4-piperidiniloxi)-5-(trifluorometil)fenil)-2-((2-(3-piridinil)etil)amino)-3-piridinacarboxamida; N-(4,4-dimetil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-7-il)-2-(1H-indazol-6-ilamina)-nicotinamida; 2-(1H-indazol-6-ilamino)-N-[3-(1-metilpirrolidin-2-ilmetoxi)-5-trifluorometil-fenil]-nicotinamida; N-[1-(2-dimetilamino-acetil-1)-3,3-dimetil-2,3-dihidro-1H-indol-6-il)-2-(1H-indazol-6-ilamino)-nicotinamida; 2-(1H-indazol-6-ilamino)-N-[3-(pirrolidin-2-ilmetoxi)-5-trifluorometil-fenil]-nicotinamida; N-(1-acetil-3,3-dimetil-2,3-dihidro-1H-indol-6-il)-2-(1H-indazol-6-ilamino)-nicotinamida; N-(4,4-dimetil-1-oxo-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolin-7-il)-2-(1H-indazol-6-ilamino)-nicotinamida; N-[4-(tert-butil)-3-(3-piperidilpropil)fenil][2-(1H-indazol-6-ilamino)(3-piridil)]carboxamida; N-[5-(tert-butil)isoxazol-3-il][2-(1H-indazol-6-il-amino)(3-piridil)]carboxamida; y N-[4-(tert-butil)fenil][2-(1H-indazol-6-ilamino)(3-piridil)]carboxamida, e inhibidores de quinasas descritos en la Patente de los Estados Unidos Nos. 6,258,812; 6,235,764; 6,630,500; 6,515,004; 6,713,485; 5,521,184; 5,770,599; 5,747,498; 5,990,141; Publicación de Estados Unidos No. U.S. 20030105091; y publicaciones del Tratado de Cooperación en materia de Patentes. WO 01/37820; WO 01/32651; WO 02/68406; WO 02/66470; WO 02/55501; WO 04/05279; WO 04/07481; WO 04/07458; WO 04/09784; WO 02/59110; WO 99/45009; WO 98/35958; WO 00/59509; WO 99/61422; WO 00/12089; y WO 00/02871.

Una proteína de unión a antígeno como se proporciona en este documento también puede usarse en combinación con un inhibidor del factor de crecimiento. Los ejemplos de tales agentes incluyen, pero no se limitan a, agentes que pueden inhibir las respuestas de EGF-R (receptor del factor de crecimiento epidérmico), tales como anticuerpos EGF-R, anticuerpos EGF y moléculas que son inhibidores de EGF-R; inhibidores de VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), como receptores de VEGF y moléculas que pueden inhibir VEGF; e inhibidores del receptor erbB2, tales como moléculas orgánicas o anticuerpos que se unen al receptor erbB2, por ejemplo, HERCEPTIN™ (Genentech, Inc.). Los inhibidores de EGF-R se describen, por ejemplo, en la Patente de los Estados Unidos No. 5,747,498, WO 98/14451, WO 95/19970, y WO 98/02434.

Los ejemplos específicos de terapias de combinación incluyen, por ejemplo, la proteína de unión al antígeno c-fms con taxol o taxanos (por ejemplo, docetaxel o Taxotere) o un paclitaxel modificado (por ejemplo, Abraxane u Opaxio), doxorubicina y/o Avastin® para el tratamiento del cáncer de mama; la proteína de unión al antígeno c-fms humano con un inhibidor de multi-quinasas, MKI, (Sutent, Nexavar, o 706) y/o doxorubicina para el tratamiento de cáncer de riñón; la proteína de unión al antígeno c-fms con cisplatino y/o radiación para el tratamiento del carcinoma de células escamosas; la proteína de unión al antígeno c-fms con taxol y/o carboplatino para el tratamiento del cáncer de pulmón.

Además de las aplicaciones en oncología, las proteínas de unión proporcionadas en este documento pueden usarse en el tratamiento o detección de enfermedades inflamatorias. En aquellas enfermedades inflamatorias donde los macrófagos contribuyen a la patología de la enfermedad, la capacidad de la proteína de unión al antígeno c-fms para reducir los niveles de macrófagos en otros compartimentos celulares indica un papel útil en el tratamiento de estas enfermedades. Varios estudios sugieren que la proteína de unión al antígeno c-fms humano puede desempeñar un papel en la modulación de enfermedades inflamatorias, como, por ejemplo, la artritis inflamatoria, la aterosclerosis y la esclerosis múltiple.

Las enfermedades adicionales que se pueden tratar incluyen, pero no se limitan a, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, espondilitis reumatoide, espondilitis anquilosante, artritis, artritis psoriásica, artritis reumatoide, osteoartritis, eczema, dermatitis de contacto, psoriasis, síndrome de choque tóxico, sepsis, choque séptico, choque endotóxico, asma, enfermedad inflamatoria pulmonar crónica, silicosis, sarcoidosis pulmonar, osteoporosis, reestenosis, lesión de reperfusión cardíaca y renal, trombosis, glomerulonefritis, diabetes, reacción de injerto contra huésped, rechazo de aloinjerto, múltiples esclerosis, degeneración muscular, distrofia muscular, enfermedad de Alzheimer y accidente cerebrovascular.

Las proteínas de unión a antígeno también pueden usarse para tratar la caquexia porque se considera que las citoquinas proinflamatorias producidas por los macrófagos están implicadas en la patología de la caquexia (Sweet et al., 2002, J. Immunol., 168: 392-399; Boddaert et al., 2006, Curr. Opin. Oncol. 8: 335-340 and Wang et al. 2006 J. Endocrinology 190: 415-423).

Dada la capacidad de las proteínas de unión a antígeno para usarse para tratar diversas enfermedades inflamatorias, pueden usarse o combinarse con otros diversos agentes antiinflamatorios. Los ejemplos de tales agentes incluyen, pero no están limitados a, inhibidores de TNF-alfa tales como fármacos TNF (por ejemplo, HUMIRA™, REMICADE™) y moléculas de inmunoglobulina receptora de TNF (tales como ENBREL™), inhibidores de IL-1, antagonistas de

receptores o IL soluble-1ra (por ejemplo, inhibidores de Kineret o ICE), inhibidores de COX-2 e inhibidores de metaloproteasas tales como los descritos anteriormente, y ligandos alfa-2-delta (por ejemplo, PREGABALIN™ y NEUROTIN™).

5 En ciertos aspectos, las proteínas de unión a antígeno también pueden usarse para tratar diversas enfermedades óseas en vista del importante papel de las c-fms en el desarrollo y activación de osteoclastos (por ejemplo, Rolf, F. et al. (2008) J. Biol. Chem. 55: 340-349, y Watarn, A. et al. (2006) J. Bone Mineral Metabolism 24: 274-282). Las proteínas de unión a antígeno pueden así ser útiles para tratar pacientes que padecen diversos trastornos médicos que implican pérdida ósea excesiva o pacientes que requieren la formación de hueso nuevo incluso cuando puede no haber necesariamente una actividad de osteoclastos excesiva. La actividad excesiva de los osteoclastos está asociada con
10 numerosos trastornos osteopénicos que pueden tratarse con las proteínas de unión al antígeno que se proporcionan, incluyendo osteopenia, osteoporosis, periodontitis, enfermedad de Paget, pérdida ósea debido a la inmovilización, metástasis óseas líticas y artritis, incluyendo artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante y otras condiciones que involucran la erosión ósea. Se sabe que algunos tipos de cáncer aumentan la actividad de los osteoclastos e inducen la resorción ósea, como el cáncer de mama y de próstata. El mieloma múltiple, que se presenta
15 en la médula ósea, también se asocia con pérdida ósea.

Con respecto a metástasis óseas de cáncer, la inhibición del eje CSF-1/c-fms mediante el uso de las proteínas de unión a antígeno proporcionadas aquí podría ser de beneficio terapéutico a través de múltiples mecanismos de acción. Estos incluirían la inhibición de la invasión y metástasis a través de la pérdida de las enzimas de degradación matricial producidas por TAM, interferencia con la siembra de células tumorales en la médula ósea a través de la pérdida de la
20 función y el número de osteoclastos, inhibición del crecimiento metastásico tumoral a través de la reducción de TAM e inhibición del hueso osteólisis asociada con lesiones metastásicas óseas (Ohno, H. et al., (2008) Molecular Cancer Therapeutics, 5: 2634-2643). Las proteínas de unión al antígeno también pueden tener un beneficio terapéutico para el osteosarcoma, que es un cáncer del hueso.

Diversas otras condiciones de baja masa ósea también pueden tratarse incluyendo una variedad de formas de osteoporosis, que incluyen pero no se limitan a, osteoporosis inducida por glucocorticoides, osteoporosis inducida después del trasplante, osteoporosis asociada con quimioterapia (es decir, osteoporosis inducida por quimioterapia), osteoporosis inducida por inmovilización, osteoporosis debido a la descarga mecánica y la osteoporosis asociada con el uso de anticonvulsivos. Las enfermedades óseas adicionales que se pueden tratar incluyen enfermedad ósea asociada con insuficiencia renal y enfermedades óseas nutricionales, gastrointestinales y/o hepáticas asociadas.

30 También se pueden tratar diferentes formas de artritis, incluyéndose ejemplos como osteoartritis y artritis reumatoide. Las proteínas de unión a antígeno también pueden usarse para tratar la pérdida ósea sistémica asociada con la artritis (por ejemplo, artritis reumatoide). En el tratamiento de la artritis, los pacientes pueden beneficiarse mediante inyecciones perilesionales o intralesionales de las proteínas de unión al antígeno sujeto. Por ejemplo, la proteína de unión al antígeno se puede inyectar adyacente o directamente en una articulación inflamada, estimulando así la
35 reparación del hueso dañado en el sitio.

Las proteínas de unión a antígeno descritas en el presente documento también se pueden usar en diversas aplicaciones de reparación ósea. Por ejemplo, pueden ser útiles para retardar la osteólisis de los restos de desgaste asociada con las articulaciones artificiales, acelerando la reparación de las fracturas óseas y mejorando la incorporación de los injertos óseos al hueso vivo circundante en el que se han injertado.

40 Las proteínas de unión a antígeno proporcionadas en este documento cuando se usan para tratar trastornos óseos pueden administrarse solos o en combinación con otros agentes terapéuticos, por ejemplo, en combinación con agentes de terapia del cáncer, con agentes que inhiben la actividad de osteoclastos o con otros agentes que mejoran la actividad de los osteoblastos. Por ejemplo, las proteínas de unión a antígeno se pueden administrar a pacientes con cáncer sometidos a radioterapia o quimioterapia. Las quimioterapias usadas en combinación con las proteínas de
45 unión al antígeno pueden incluir antraciclinas, taxol, tamoxifeno, doxorubicina, 5-fluorouracilo, oxaloplatino, Velcade® (ácido [(1R)-3-metil-1-[[[(2S)-1-oxo-3]-fenil-2-[(pirazinilcarbonil)amino]propil]amino]butil]borónico) y/u otros fármacos de molécula pequeña que se usan en el tratamiento del cáncer.

Las proteínas de unión a antígeno pueden usarse solas para el tratamiento de las afecciones mencionadas anteriormente que dan como resultado la pérdida de masa ósea o en combinación con una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente promotor del crecimiento óseo (anabólico) o un agente antirresorción óseo que incluye pero no se limita a: factores morfogénicos óseos designados BMP-1 a BMP-12; factor de crecimiento transformante-β y miembros de la familia TGF-β; factores de crecimiento de fibroblastos FGF-1 a FGF-10; inhibidores de interleucina-1 (incluyendo EL-1ra, anticuerpos contra IL-1 y anticuerpos para receptores de IL-1); Inhibidores de TNFα (incluyendo etanercept, adalimumab e infliximab); RANK inhibidores de ligandos (incluidos RANK soluble, osteoprotegerina y anticuerpos antagonistas que se unen específicamente a RANK o ligando RANK), inhibidores de Dkk-1 (por ejemplo, anticuerpos anti-Dkk-1) hormona paratiroidea, prostaglandinas de la serie E, bisfosfonatos y minerales potenciadores de los huesos como fluoruro y calcio. Los agentes anabólicos que pueden usarse en combinación con las proteínas de unión a antígeno y fragmentos funcionales de los mismos incluyen la hormona paratiroidea y el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), en donde el último agente se compleja preferiblemente con una proteína de unión a IGF. Un antagonista del receptor de IL-1 adecuado para tal tratamiento de combinación se describe en WO89/11540 y un
60

receptor-1 de TNF soluble adecuado se describe en WO98/01555. Los antagonistas del ligando de RANK a modo de ejemplo se describen, por ejemplo, en los documentos WO 03/086289, WO 03/002713, Patentes de los Estados Unidos Nos. 6,740,511 y 6,479,635.

- 5 Las proteínas de unión a antígeno también se pueden usar para inhibir la angiogénesis (por ejemplo, en tumores). Por ejemplo, las proteínas de unión a antígeno pueden usarse para disminuir la formación de vasos sanguíneos en casos en los que la angiogénesis inflamatoria es impulsada principalmente por FGF-2. En algunos aspectos, las proteínas de unión al antígeno se usan para inhibir la angiogénesis en tumores en los que los niveles de VEGF son bajos y la densidad vascular del tumor es alta.

Métodos de diagnóstico

- 10 Las proteínas de unión a antígeno de las descritas pueden usarse con fines de diagnóstico para detectar, diagnosticar o controlar enfermedades y/o afecciones asociadas con c-fms. Lo revelado proporciona la detección de la presencia de c-fms en una muestra usando métodos inmunohistológicos clásicos conocidos por los expertos en la técnica (por ejemplo, Tijssen, 1993, Practice and Theory of Enzyme Immunoassays, Vol 15 (Eds R.H. Burdon and P.H. van Knippenberg, Elsevier, Amsterdam); Zola, 1987, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, págs 147-158 (CRC Press, Inc.); Jalkanen et al., 1985, J. Cell. Biol. 101: 976-985; Jalkanen et al., 1987, J. Cell Biol. 105: 3087-3096). La detección de c-fms puede realizarse *in vivo* o *in vitro*.
- 15

- Las aplicaciones de diagnóstico proporcionadas en el presente documento incluyen el uso de las proteínas de unión a antígeno para detectar la expresión de c-fms y la unión de los ligandos a c-fms. Los ejemplos de métodos útiles en la detección de la presencia de c-fms incluyen inmunoensayos, tales como el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) y el radioinmunoensayo (RIA).
- 20

- Para aplicaciones de diagnóstico, la proteína de unión a antígeno típicamente se marcará con un grupo marcador detectable. Grupos de marcación adecuados incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: radioisótopos o radionúclidos (por ejemplo, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I), grupos fluorescentes (por ejemplo, FITC, rodamina, fosfuros de lantánidos), grupos enzimáticos (por ejemplo, peroxidasa de rábano picante, β -galactosidasa, luciferasa, fosfatasa alcalina), grupos quimioluminiscentes, grupos biotinilo o epítomos polipeptídicos predeterminados reconocidos por un informador secundario (por ejemplo, secuencias de pares de cremalleras de leucina, sitios de unión para anticuerpos secundarios, metales dominios de enlace, etiquetas de epítopo). En algunas realizaciones, el grupo de marcación se acopla a la proteína de unión a antígeno a través de brazos espaciadores de varias longitudes para reducir el impedimento estérico potencial. Se conocen en la técnica, y se pueden usar, diversos métodos para marcar proteínas.
- 25
- 30

- En otro aspecto, se puede usar una proteína de unión a antígeno para identificar una célula o células que expresan c-fms. En un aspecto específico, la proteína de unión a antígeno se marca con un grupo de marcación y se detecta la unión de la proteína de unión a antígeno marcada a c-fms. En una realización específica adicional, la unión de la proteína de unión a antígeno a c-fms detectada *in vivo*. En un aspecto específico adicional, la proteína de unión al antígeno c-fms se aísla y se mide usando técnicas conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, Harlow and Lane, 1988, Antibodies: A Laboratory Manual, Nueva York: Cold Spring Harbor (ed. 1991 y suplementos periódicos); John E. Coligan, ed., 1993, Current Protocols In Immunology Nueva York: John Wiley & Sons.
- 35

- Otro aspecto de lo divulgado proporciona la detección de la presencia de una molécula de prueba que compite por la unión a c-fms con las proteínas de unión a antígeno proporcionadas. Un ejemplo de uno de tales ensayos implicaría detectar la cantidad de proteína de unión al antígeno libre en una solución que contiene una cantidad de c-fms en presencia o ausencia de la molécula de prueba. Un aumento en la cantidad de proteína de unión al antígeno libre (es decir, la proteína de unión al antígeno no unida a c-fms) indicaría que la molécula de prueba es capaz de competir por la unión de c-fms con la proteína de unión al antígeno. En un aspecto, la proteína de unión al antígeno se marca con un grupo de marcación. Alternativamente, se marca la molécula de prueba y la cantidad de molécula de prueba libre se controla en presencia y ausencia de una proteína de unión a antígeno.
- 40
- 45

Métodos de tratamiento: formulaciones farmacéuticas, rutas de administración

- También se proporcionan métodos para usar las proteínas de unión a antígeno. En algunos métodos, se proporciona una proteína de unión a antígeno a un paciente. La proteína de unión al antígeno inhibe la unión de CSF-1 a c-fms humanas. La administración de una proteína de unión a antígeno en algunos métodos también puede inhibir la autofosforilación de las c-fms humanas mediante la inhibición de la unión de CSF-1 a las c-fms humanas. Además, en ciertos métodos, la quimiotaxis de monocitos se reduce administrando una cantidad efectiva de al menos una proteína de unión a antígeno a un paciente. La migración de monocitos a tumores en algunos métodos se inhibe administrando una cantidad efectiva de una proteína de unión a antígeno. Además, la acumulación de macrófago asociado a tumor en un tumor o tejido enfermo se puede inhibir administrando una proteína de unión a antígeno como se proporciona aquí.
- 50
- 55

También se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de una o una pluralidad de proteínas de unión a antígeno y un diluyente, vehículo, solubilizante, emulsionante, conservante y/o adyuvante farmacéuticamente aceptable. Además, se incluyen métodos para tratar a un paciente

mediante la administración de tal composición farmacéutica. El término "paciente" incluye pacientes humanos.

Los materiales de formulación aceptables no son tóxicos para los receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas. En realizaciones específicas, se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de proteínas de unión al antígeno c-fms humanas.

5 En ciertas realizaciones, los materiales de formulación aceptables preferiblemente no son tóxicos para los receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas. En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica puede contener materiales de formulación para modificar, mantener o preservar, por ejemplo, el pH, osmolaridad, viscosidad, claridad, color, isotonicidad, olor, esterilidad, estabilidad, velocidad de disolución o liberación, adsorción o penetración de la composición. En dichas realizaciones, los materiales de formulación adecuados incluyen, aunque sin limitación, 10 aminoácidos (tales como glicina, glutamina, asparagina, arginina o lisina); antimicrobianos; antioxidantes (tales como ácido ascórbico, sulfito de sodio o hidrogenosulfito de sodio); tampones (tales como borato, bicarbonato, Tris-HCl, citratos, fosfatos u otros ácidos orgánicos); agentes de carga (tales como manitol o glicina); agentes quelantes (tales como ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)); agentes complejantes (tales como cafeína, polivinilpirrolidona, beta-ciclodextrina o hidroxipropil-beta-ciclodextrina); rellenos; monosacáridos; disacáridos; y otros carbohidratos (tales como glucosa, manosa o dextrinas); 15 proteínas (tales como albúmina sérica, gelatina o inmunoglobulinas); colorantes, aromatizantes y diluyentes; agentes emulsionantes; polímeros hidrófilos (tales como polivinilpirrolidona); polipéptidos de bajo peso molecular; contraiones formadores de sal (tales como sodio); conservantes (tales como cloruro de benzalconio, ácido benzoico, ácido salicílico, timerosal, alcohol fenético, metilparabeno, propilparabeno, clorhexidina, ácido sórbico o peróxido de hidrógeno); disolventes (tales como glicerina, propilenglicol o polietilenglicol); alcoholes de azúcar (tales como manitol o sorbitol); 20 agentes de suspensión; tensioactivos o agentes humectantes (tales como plurónicos, PEG, ésteres de sorbitán, polisorbatos tales como polisorbato 20, polisorbato, tritón, trometamina, lecitina, colesterol, tiloxapal); agentes potenciadores de la estabilidad (tales como sacarosa o sorbitol); agentes potenciadores de la tonicidad (tales como haluros de metales alcalinos, preferiblemente cloruro de sodio o potasio, sorbitol de manitol); vehículos de entrega; diluyentes; excipientes y/o adyuvantes farmacéuticos. Véase, REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18 "Edition, (A.R. Genrmo, ed.), 1990, Mack Publishing Company.

En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica óptima será determinada por un experto en la técnica dependiendo de, por ejemplo, la ruta de administración prevista, el formato de administración y la dosificación deseada. Véase, por ejemplo, REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, supra. En ciertos aspectos, tales composiciones pueden influir en el estado físico, la estabilidad, la velocidad de liberación *in vivo* y la velocidad de 30 eliminación *in vivo* de las proteínas de unión a antígeno descritas. En ciertas realizaciones, el vehículo o portador primario en una composición farmacéutica puede ser de naturaleza acuosa o no acuosa. Por ejemplo, un vehículo o portador adecuado puede ser agua para inyección, solución salina fisiológica o fluido cerebroespinal artificial, posiblemente complementado con otros materiales comunes en composiciones para administración parenteral. La solución salina tamponada neutra o la solución salina mezclada con albúmina de suero son otros ejemplos de 35 vehículos. En realizaciones específicas, las composiciones farmacéuticas comprenden regulador Tris de aproximadamente pH 7.0-8.5, o regulador de acetato de aproximadamente pH 4.0-5.5, y pueden incluir además sorbitol o un sustituto adecuado. En ciertos aspectos, las composiciones de proteínas de unión a antígenos c-fms humanas pueden prepararse para el almacenamiento mezclando la composición seleccionada que tiene el grado de pureza deseado con agentes de formulación opcionales (REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, supra) en forma de una torta liofilizada o una solución acuosa. Además, en ciertos aspectos, la proteína de unión al antígeno c-fms humano puede formularse como un liofilizado usando excipientes apropiados tales como 40

Las composiciones farmacéuticas se pueden seleccionar para administración parenteral. Alternativamente, las composiciones se pueden seleccionar para inhalación o para administración a través del tracto digestivo, tal como por vía oral. La preparación de tales composiciones farmacéuticamente aceptables está dentro de los conocimientos de 45 la técnica.

Los componentes de la formulación están presentes preferiblemente en concentraciones que son aceptables para el sitio de administración. En ciertas realizaciones, los tampones se usan para mantener la composición a pH fisiológico o a un pH ligeramente inferior, típicamente dentro de un intervalo de pH de aproximadamente 5 a aproximadamente 8.

50 Cuando se contempla la administración parenteral, las composiciones terapéuticas pueden proporcionarse en forma de una solución acuosa parenteralmente aceptable, libre de pirógenos, que comprende la proteína de unión al antígeno c-fms humana deseada en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Un vehículo particularmente adecuado para inyección parenteral es agua destilada estéril en la que la proteína de unión al antígeno c-fms humano se formula como una solución isotónica estéril, conservada adecuadamente. En ciertas realizaciones, la preparación puede implicar la formulación de la molécula deseada con un agente, tal como microesferas inyectables, partículas bioerosionables, compuestos poliméricos (tales como ácido poliláctico o ácido poliglicólico), perlas o liposomas, que pueden proporcionar una liberación controlada o sostenida del producto que se puede administrar mediante inyección de depósito. En ciertas realizaciones, también se puede usar ácido hialurónico, que tiene el efecto de promover una 55 duración sostenida en la circulación. Pueden usarse dispositivos de administración de fármacos implantables para introducir la proteína de unión al antígeno deseada. 60

- Ciertas composiciones farmacéuticas se formulan para inhalación. En algunas realizaciones, las proteínas de unión al antígeno c-fms humanas se formulan como un polvo inhalable seco. En aspectos específicos, las soluciones de inhalación de proteína de unión al antígeno c-fms humano también se pueden formular con un propelente para la administración de aerosol. En ciertas realizaciones, las soluciones pueden ser nebulizadas. La administración pulmonar y los métodos de formulación de la misma se describen adicionalmente en la Solicitud de Patente Internacional publicada como WO 94/20069 A1, que describe la administración pulmonar de proteínas modificadas químicamente. Algunas formulaciones pueden administrarse por vía oral. Las proteínas de unión al antígeno c-fms humanas que se administran de esta manera se pueden formular con o sin vehículos usados habitualmente en la combinación de formas de dosificación sólidas tales como tabletas y cápsulas. En ciertas realizaciones, una cápsula puede diseñarse para liberar la porción activa de la formulación en el punto del tracto gastrointestinal donde se maximiza la biodisponibilidad y se minimiza la degradación presistémica. Se pueden incluir agentes adicionales para facilitar la absorción de la proteína de unión al antígeno c-fms humano. También se pueden emplear diluyentes, aromatizantes, ceras de bajo punto de fusión, aceites vegetales, lubricantes, agentes de suspensión, agentes desintegrantes de comprimidos y aglutinantes.
- Algunas composiciones farmacéuticas comprenden una cantidad efectiva de una o una pluralidad de proteínas de unión a antígeno c-fms humanas en una mezcla con excipientes no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Disolviendo las tabletas en agua estéril u otro vehículo apropiado, las soluciones se pueden preparar en forma de dosis unitaria. Los excipientes adecuados incluyen, pero no se limitan a, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio o bicarbonato, lactosa o fosfato de calcio; o agentes aglutinantes, tales como almidón, gelatina o acacia; o agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, ácido esteárico o talco.
- Composiciones farmacéuticas adicionales serán evidentes para los expertos en la técnica, que incluyen formulaciones que implican proteínas de unión a antígeno c-fms humanas en formulaciones de administración sostenida o controlada. Los expertos en la técnica también conocen técnicas para formular una variedad de otros medios de administración sostenida o controlada, tales como portadores de liposomas, micropartículas bioerosionables o perlas porosas e inyecciones de depósito. Véase, por ejemplo, la Solicitud de Patente Internacional publicada como No. WO 93/15722 A1 que describe la liberación controlada de micropartículas poliméricas porosas para el suministro de composiciones farmacéuticas. Las preparaciones de liberación sostenida pueden incluir matrices poliméricas semipermeables en forma de artículos conformados, por ejemplo, películas o microcápsulas. Las matrices de liberación sostenida pueden incluir poliésteres, hidrogeles, polilactidas (como se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 3,773,919 y Publicación de Solicitud de Patente Europea No. EP 058481), copolímeros de ácido L-glutámico y gamma etil-L-glutamato (Sidman et al., 1983), Biopolymers 2: 547-556), poli(metacrilato de 2-hidroxi-etilo) (Langer et al., 1981, J. Biomed. Mater. Res. 15: 167-277 and Langer, 1982, Chem. Tech. 12: 98-105), etileno y acetato de vinilo (Langer et al., 1981, supra) o ácido poli-D(-)-3-hidroxi-butírico (publicación de Solicitud de Patente Europea No. EP 133.988). Las composiciones de liberación sostenida también pueden incluir liposomas que se pueden preparar mediante cualquiera de varios métodos conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Eppstein et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82: 3688-3692; Publicaciones de Solicitud de Patente Europea Nos. EP 036.676; EP 088.046 y EP 143.949.
- Las composiciones farmacéuticas usadas para la administración *in vivo* se proporcionan típicamente como preparaciones estériles. La esterilización puede lograrse por filtración a través de membranas de filtración estériles. Cuando la composición se liofiliza, la esterilización usando este método puede realizarse antes o después de la liofilización y la reconstitución. Las composiciones para administración parenteral pueden almacenarse en forma liofilizada o en una solución. Las composiciones parenterales generalmente se colocan en un recipiente que tiene un puerto de acceso estéril, por ejemplo, una bolsa o vial de solución intravenosa que tiene un tapón perforable por una aguja de inyección hipodérmica.
- En ciertos aspectos, las células que expresan una proteína de unión a antígeno recombinante como se describe aquí están encapsuladas para la administración (véase, Invest. Ophthalmol Vis Sci 43: 3292-3298, 2002 and Proc. Natl. Acad. Sciences 103: 3896-3901, 2006).
- En ciertas formulaciones, una proteína de unión a antígeno tiene una concentración de al menos 10 mg/ml, 20 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml, 50 mg/ml, 60 mg/ml, 70 mg/ml, 80 mg/ml, 90 mg/ml, 100 mg/ml o 150 mg/ml. Algunas formulaciones contienen un regulador, sacarosa y polisorbato. Un ejemplo de una formulación es una que contiene 50-100 mg/ml de proteína de unión al antígeno, 5-20 mM de acetato de sodio, 5-10% p/v de sacarosa y 0.002-0.008% p/v de polisorbato. Ciertas formulaciones, por ejemplo, contienen 65-75 mg/ml de una proteína de unión a antígeno en regulador de acetato de sodio 9-11 mM, sacarosa al 8-10% p/v y polisorbato al 0.005-0.006% p/v. El pH de ciertas de tales formulaciones está en el rango de 4.5-6. Otras formulaciones tienen un pH de 5.0-5.5 (por ejemplo, pH de 5.0, 5.2 o 5.4).
- Una vez que la composición farmacéutica se ha formulado, se puede almacenar en viales estériles como una solución, suspensión, gel, emulsión, sólido, cristal, o como un polvo deshidratado o liofilizado. Dichas formulaciones pueden almacenarse en una forma lista para usar o en una forma (por ejemplo, liofilizada) que se reconstituye antes de la administración. También se proporcionan kits para producir una unidad de administración de dosis única. Ciertos kits contienen un primer contenedor que tiene una proteína seca y un segundo contenedor que tiene una formulación acuosa. En ciertas realizaciones, se proporcionan kits que contienen jeringas precargadas de una o varias cámaras (por ejemplo, jeringas líquidas y liojeringas). La cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica

que contiene proteína de unión a antígeno c-fms humano que se va a emplear dependerá, por ejemplo, del contexto terapéutico y los objetivos. Un experto en la técnica apreciará que los niveles de dosificación apropiados para el tratamiento variarán dependiendo, en parte, de la molécula entregada, la indicación para la cual se usa la proteína de unión al antígeno c-fms humano, la vía de administración y el tamaño (peso corporal, superficie corporal o tamaño del órgano) y/o condición (edad y estado general de salud) del paciente. El médico clínico puede valorar la dosis y modificar la ruta de administración para obtener el efecto terapéutico óptimo.

Una dosificación típica puede variar desde aproximadamente 1 µg/kg hasta aproximadamente 30 mg/kg o más, dependiendo de los factores mencionados anteriormente. En realizaciones específicas, la dosificación puede variar desde 10 µg/kg hasta aproximadamente 30 mg/kg, opcionalmente desde 0.1 mg/kg hasta aproximadamente 30 mg/kg, alternativamente desde 0.3 mg/kg hasta aproximadamente 20 mg/kg. En algunas aplicaciones, la dosificación es de 0.5 mg/kg a 20 mg/kg. En algunos casos, una proteína de unión a antígeno se dosifica a 0.3 mg/kg, 0.5 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 10 mg/kg o 20 mg/kg. El programa de dosificación en algunos regímenes de tratamiento es a una dosis de 0.3 mg/kg cuatro veces/semana, 0.5 mg/kg cuatro veces/semana, 1 mg/kg cuatro veces/semana, 3 mg/kg cuatro veces/semana, 10 mg/kg cuatro veces/semana o 20 mg/kg cuatro veces/semana.

La frecuencia de dosificación dependerá de los parámetros farmacocinéticos de la proteína de unión al antígeno c-fms humano particular en la formulación utilizada. Típicamente, un médico clínico administra la composición hasta que se alcanza una dosificación que logra el efecto deseado. Por lo tanto, la composición puede administrarse como una dosis única, o como dos o más dosis (que pueden contener o no la misma cantidad de la molécula deseada) a lo largo del tiempo, o como una infusión continua a través de un dispositivo de implantación o catéter. Se pueden determinar las dosis apropiadas mediante el uso de datos apropiados de dosis-respuesta. En ciertos aspectos, las proteínas de unión a antígeno pueden administrarse a pacientes a lo largo de un período de tiempo prolongado. La administración crónica de una proteína de unión a antígeno minimiza la respuesta inmune o alérgica adversa comúnmente asociada con las proteínas de unión a antígeno que no son completamente humanas, por ejemplo, un anticuerpo producido contra un antígeno humano en un animal no humano, por ejemplo, un anticuerpo no completamente humano o un anticuerpo no humano producido en una especie no humana.

La vía de administración de la composición farmacéutica está de acuerdo con métodos conocidos, por ejemplo, por vía oral, mediante inyección por vía intravenosa, intraperitoneal, intracerebral (intraparenquimatoso), intracerebroventricular, intramuscular, intraocular, intraarterial, intraportal o intralesiones; por sistemas de liberación sostenida o por dispositivos de implantación. Las composiciones se pueden administrar mediante inyección en bolo o continuamente mediante infusión, o mediante dispositivo de implantación.

La composición también puede administrarse localmente mediante la implantación de una membrana, esponja u otro material apropiado sobre el que se ha absorbido o encapsulado la molécula deseada. Cuando se usa un dispositivo de implantación, el dispositivo puede implantarse en cualquier tejido u órgano adecuado, y la administración de la molécula deseada puede realizarse por difusión, administración en bolo de liberación temporizada o administración continua.

También puede ser deseable usar composiciones farmacéuticas de proteína de unión a antígeno c-fms humanas de acuerdo con lo descrito *ex vivo*. En tales casos, las células, tejidos u órganos que se han eliminado del paciente se exponen a composiciones farmacéuticas de proteína de unión al antígeno c-fms humano, después de lo cual las células, tejidos y/u órganos se vuelven a implantar en el paciente.

En particular, las proteínas de unión al antígeno c-fms humanas se pueden administrar implantando ciertas células que se han modificado genéticamente, usando métodos tales como los descritos en este documento, para expresar y secretar el polipéptido. En ciertos aspectos, tales células son células para usar en métodos de tratamiento, y pueden ser células animales o humanas, y pueden ser autólogas, heterólogas o xenogénicas. En ciertos aspectos, las células pueden inmortalizarse. En otros aspectos, para disminuir la posibilidad de una respuesta inmunológica, las células pueden encapsularse para evitar la infiltración de los tejidos circundantes. En aspectos adicionales, los materiales de encapsulación son, por lo general, cerramientos o membranas poliméricas semipermeables y biocompatibles que permiten la liberación de los productos proteicos pero previenen la destrucción de las células por el sistema inmune del paciente o por otros factores perjudiciales de los tejidos circundantes.

Los siguientes ejemplos, que incluyen los experimentos realizados y los resultados obtenidos, se proporcionan solo con fines ilustrativos.

Ejemplos

Ensayos

Ensayos de AML-5

Para determinar si los anticuerpos dirigidos contra c-fms pueden unirse y exhibir actividad funcional en el bloqueo del eje c-fms/CSF-1, se utilizó un bioensayo basado en células. Este ensayo mide cuantitativamente la proliferación impulsada por CSF-1 de una línea celular mielomonocítica humana dependiente del factor de crecimiento, AML5 (University Health Network, Toronto, Ontario). Por lo tanto, el ensayo mide la inhibición de esta proliferación mediante

la introducción de agentes que bloquean esta vía. En este ensayo, las células AML-5 se incubaron con 10 ng/ml de CSF-1 en presencia de concentraciones decrecientes de anticuerpo. Después de 72 horas, se midió la proliferación celular usando Alamar Blue™ (Biosource), una medida indirecta de la proliferación basada en la actividad metabólica de las células.

5 Ensayos de médula ósea

En un ensayo similar para determinar si los anticuerpos podían reaccionar de forma cruzada con c-fms de mono cynomolgus, los anticuerpos se analizaron en la proliferación impulsada por CSF-1 de las células monocíticas de la médula ósea primaria de mono. Similar al ensayo de proliferación AML-5, las células de médula ósea de cynomolgus se incubaron con 10 ng/ml de CSF-1 en presencia de concentraciones decrecientes de anticuerpo. Después de 72 horas, se midió la proliferación celular usando Alamar Blue.

Clones de anticuerpos usados en experimentos

Los siguientes experimentos incluyen el uso de tres clones de anticuerpos, designados como 1.109, 1.2, 2.360, que son todos tetrámeros, que incluyen dos cadenas pesadas completas y dos cadenas livianas completas. El clon 1.109 comprende dos cadenas pesadas H1 (SEQ ID NO: 4) y dos cadenas livianas L1 (SEQ ID NO: 36), el clon 1.2 comprende dos cadenas pesadas H8 (SEQ ID NO: 11) y dos cadenas livianas L8 (SEQ ID NO: 43), y el clon 2.360 comprende dos cadenas pesadas H24 (SEQ ID NO: 27) y dos cadenas livianas L22 (SEQ ID NO: 57).

Ejemplo 1: Preparación de hibridomas C-fms

Las realizaciones pueden emplear la tecnología Xenomouse® para desarrollar anticuerpos monoclonales totalmente humanos dirigidos contra c-fms humanas. Para fines de inmunización, se empleó el c-fms-Fc, un dominio extracelular c-fms humano (residuos 1-512, véase, Figura 8; SEQ ID: 1) con un dominio Fc humano C-terminal. Además, c-fms-LZ, un dominio extracelular c-fms humano (residuos 1-512) con un dominio de cremallera de leucina C-terminal (lote Amgen # 45640-43) y línea celular 293T/c-fms, una línea celular de riñón embrionario humano transformada con adenovirus humano tipo 5 transfectada con c-fms humanas de longitud completa se utilizaron para seleccionar los anticuerpos anti-c-fms.

Se inmunizaron/reforzaron la cohorte 1 (IgG₁) y la cohorte 2 (IgG₂) Xenomice® con c-fms-Fc. Los títulos séricos se midieron mediante ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) y los bazos de ambas cohortes 1 y 2 se fusionaron para generar hibridomas. Los sobrenadantes policlonales resultantes se rastrearón para unirse a c-fms-LZ mediante ELISA y células 293T/c-fms mediante tecnología de ensayo de microvolúmenes fluorométricos (FMAT). Se analizó un total de 828 sobrenadantes positivos para la inhibición de la unión de CSF-1 a las células c-fms/293T mediante clasificación celular activada por fluorescencia (FACS). Los 168 sobrenadantes positivos resultantes se analizaron adicionalmente para determinar la inhibición de la proliferación inducida por CSF-1 de células de leucemia mielógena aguda (AML)-5. Con base en el cribado, se identificaron 33 hibridomas como antagonistas de la actividad de CSF-1 y se seleccionaron para clonación.

Ejemplo 2: Caracterización de hibridomas anti-C-fms

De los 33 hibridomas seleccionados, 29 (19 isotipos IgG₁ y 10 IgG₂) se clonaron con éxito y los sobrenadantes de estos clones se probaron en cuanto a la inhibición de la unión de CSF-1 a las células 293T/c-fms y la inhibición de la proliferación de células AML-5 inducida por CSF-1. Un ensayo de unión de Biacore de baja resolución que usa proteína c-fms monomérica indicó que la K_D de estos 29 hibridomas anti-c-fms estaba en el intervalo de 0.1-43 nM (véase la Tabla 8). La IgG antihumana se inmovilizó en las cuatro células de flujo de un chip sensor usando un acoplamiento de amina. Las muestras de hibridoma crudo se diluyeron en mitades y se capturaron en la superficie anti-IgG. El análisis fue c-fms monomérico (residuos 1-512)-pHis a una concentración de 125 nM. Los análisis de linaje de secuencia también se realizaron en los 29 hibridomas (véase la Figura 2).

Tabla 8: Resultados de unión de Biacore de baja resolución para hibridomas anti-C-fms

| Clon de mAb | Clon de mAb | k _a (1/Ms) | k _d (1/s) | K _D (nM) |
|-------------|-------------|-----------------------|----------------------|---------------------|
| 1.109.1 | 1 | 3.85E+05 | 4.36E-05 | 0.1 |
| 2.131.2 | 2 | 4.30E+04 | 1.00E-05 | 0.2 |
| 2.508.1 | 3 | 7.49E+04 | 5.28E-05 | 0.7 |
| 1.33.1.1 | 4 | 9.89E+04 | 1.16E-04 | 1.2 |

ES 2 650 224 T3

| Clon de mAb | Clon de mAb | k_a (1/Ms) | k_d (1/s) | K_D (nM) |
|-------------|-------------|--------------|-------------|------------|
| 1.2.1 | 5 | 8.17E+05 | 1.13E-03 | 1.4 |
| 1.42.3 | 6 | 6.60E+05 | 1.07E-03 | 1.6 |
| 1.64.1 | 7 | 2.55E+05 | 6.40E-04 | 2.5 |
| 1.30.2 | 8 | 4.06E+05 | 1.40E-03 | 3.4 |
| 1.134.1 | 9 | 1.53E+05 | 7.03E-04 | 4.6 |
| 2.475.2 | 10 | 3.00E+05 | 1.40E-03 | 4.7 |
| 2.103.1 | 11 | 7.51E+04 | 3.64E-04 | 4.8 |
| 1.39.3 | 12 | 1.13E+05 | 6.08E-04 | 5.4 |
| 1.72.2 | 13 | 1.03E+05 | 5.68E-04 | 5.5 |
| 2.360.3 | 14 | 6.05E+04 | 3.38E-04 | 5.6 |
| 1.13.2 | 15 | 1.20E+05 | 7.73E-04 | 6.4 |
| 2.65.2 | 16 | 1.68E+05 | 1.60E-03 | 9.5 |
| 1.143.2 | 17 | 5.50E+04 | 5.59E-04 | 10 |
| 1.90.2 | 18 | 1.93E+05 | 2.00E-03 | 10 |
| 1.144.1 | 19 | 2.30E+05 | 2.50E-03 | 11 |
| 1.26.1 | 20 | 2.39E+05 | 2.63E-03 | 11 |
| 2.369.3 | 21 | 1.00E+05 | 1.38E-03 | 14 |
| 1.16.2 | 22 | 1.29E+05 | 2.96E-03 | 23 |
| 1.66.1 | 23 | 2.39E+05 | 5.50E-03 | 23 |
| 2.550.1 | 24 | 3.00E+05 | 7.24E-03 | 24 |
| 2.291.2 | 25 | 2.86E+05 | 9.30E-03 | 33 |
| 1.27.3 | 26 | 2.99E+05 | 1.00E-02 | 33 |
| 1.34.3 | 27 | 3.65E+05 | 1.31E-02 | 36 |
| 1.131.1 | 28 | 5.31E+04 | 2.15E-03 | 41 |
| 2.534.1 | 29 | 3.45E+05 | 1.50E-02 | 43 |

5 En base a los ensayos de inhibición de la unión y de inhibición de la proliferación, se seleccionaron 16 de los 29 sobrenadantes (once isotipos IgG1 y cinco isotipos IgG2) para su posterior caracterización. La reactividad cruzada con c-fms de ratón y cynomolgus se probó mediante la inhibición de la proliferación de DRM de células de ratón de células primarias de médula ósea de cynomolgus (una línea celular monocítica inmortalizada ras y myc derivada de cultivo de células de médula de ratón Dexter), respectivamente, inducidas por CSF-1.. Con respecto a la proliferación celular, ninguno de los sobrenadantes inhibió la proliferación de las células DRM de ratón (datos no mostrados) mientras que 13 de 16 sobrenadantes inhibieron la proliferación de las células de la médula ósea de Cynomolgus. Los sobrenadantes también se ensayaron para la inhibición de la proliferación inducida por CSF-1 de monocitos CD14⁺ derivados de sangre periférica humana y se volvieron a analizar en el bioensayo de AML-5 humano (ver la sección ensayo anterior), cuyos resultados se muestran en las Tablas 9 y 10. El anticuerpo 2-4A5 (Biosource), que es un anticuerpo anti-c-fms humano de rata, se usó como control positivo.

15 Cuatro anticuerpos IgG₁ de isotipo tenían una potencia <10 pM en el bioensayo de AML-5 y tres de los anticuerpos, los ID de Clon Nos. 1.2.1, 1.109.3 y 1.134.1, inhibieron la proliferación de las células de la médula ósea de cynomolgus. De los tres anticuerpos, los clones 1.2.1 y 1.109.3 tuvieron la mayor afinidad por c-fms en el ensayo de unión de Biacore. Dos anticuerpos isotipo IgG₂, 2.103.3 y 2.360.2, mostraron alta potencia en los bioensayos de AML-5 y de médula ósea de cynomolgus y afinidades similares por c-fms en el ensayo Biacore. Los cinco anticuerpos que mostraron alta potencia en los bioensayos de la médula ósea AML-5 y cynomolgus también mostraron diversidad en la secuencia. En función de estos factores de potencia, afinidad y diversidad, se eligieron los clones 1.2.1, 1.109.3 y 20 2.360.2 para un desarrollo y caracterización adicionales.

TABLA 9: Resumen de resultados de bioensayos para los sobrenadantes de hibridoma anti-C-fms

| Clon ID | Bioensayo de médula ósea de Cynomolgus (media, n=2) IC ₅₀ (pM) | Bioensayo de monocitos humanos CD14 ⁺ (n=1) IC ₅₀ (pM) | Bioensayo de AML-5 (media, n=3 o 4) IC ₅₀ (pM) |
|---------|---|--|---|
| 1.2.1 | 40 | <7 | 6 |
| 1.26.1 | 33 | 13 | 27 |
| 1.27.2 | 933 | 200 | 73 |
| 1.30.3 | 267 | 67 | 40 |
| 1.39.2 | 67 | 67 | 27 |
| 1.42.3 | 200 | 67 | 20 |
| 1.64.2 | NA* | 13 | 4 |
| 1.66.2 | 47 | 67 | 27 |
| 1.109.3 | 73 | 20 | 5 |
| 1.134.1 | 40 | <7 | 7 |
| 1.143.1 | 360 | ND** | 100 |
| 2.103.3 | 27 | 133 | 53 |
| 2.360.2 | 53 | 67 | 27 |
| 2.475.2 | 167 | 67 | 40 |
| 2.508.2 | NA* | 133 | 20 |

ES 2 650 224 T3

| Clon ID | Bioensayo de médula ósea de Cynomolgus (media, n=2) IC ₅₀ (pM) | Bioensayo de monocitos humanos CD14 ⁺ (n=1) IC ₅₀ (pM) | Bioensayo de AML-5 (media, n=3 o 4) IC ₅₀ (pM) |
|------------|---|--|---|
| 2.534.2 | NA* | 47 | 20 |
| 2-4A5 | 8333 | 667 | 187 |
| c-fms-Fc | 617 | 556 | 210 |
| Anti-CSF-1 | 3333 | 667 | 20 |

*NA=Sin Actividad, No cruzado-Reactivo; **ND = No hecho

TABLA 10: Sinopsis de los resultados de bioensayos para sobrenadantes de hibridoma anti-c-fms

| Clon | Concentración de media-máx. (IC ₅₀ , ng/ml) | | | |
|---------|--|--|-------------------------------------|--------------------|
| | Bioensayo de médula ósea de Cynomolgus (media, n=2) | Bioensayo de monocitos humanos CD14 ⁺ (n=1) | Bioensayo de AML-5 (media, n=3 o 4) | AML-5 x diferencia |
| 1.2 | 6 | <1 | 0.9 | 4 |
| 1.26.1 | 5 | 2 | 4 | 24 |
| 1.27.2 | 140 | 30 | 11 | 44 |
| 1.30.3 | 10 | 10 | 6 | 24 |
| 1.39.2 | 30 | 10 | 4 | 24 |
| 1.42.3 | | 10 | 3 | 9 |
| 1.64.2 | NA* | 2 | 0.6 | 8 |
| 1.66.2 | 7 | 10 | 4 | 12 |
| 1.109.3 | 11 | 3 | 0.7 | 1.4 |
| 1.134.1 | 6 | <1 | 1 | 3 |
| 1.143.1 | 54 | ND** | 15 | 119 |
| 2.103.1 | 4 | 20 | 8 | 19 |
| 2.360.2 | 8 | 10 | 4 | 11 |
| 2.475.2 | 25 | 10 | 6 | 18 |
| 2.508.2 | NA* | 20 | 5 | 20 |

| Clon | Concentración de media-máx. (IC ₅₀ , ng/ml) | | | |
|------------|--|--|-------------------------------------|--------------------|
| | Bioensayo de médula ósea de Cynomolgus (media, n=2) | Bioensayo de monocitos humanos CD14 ⁺ (n=1) | Bioensayo de AML-5 (media, n=3 o 4) | AML-5 x diferencia |
| 2.534.2 | NA* | 7 | 3 | 12 |
| 2-4A5 | 1250 | 100 | 28 | |
| c-fms-Fc | 100 | 90 | 34 | |
| Anti-CSF-1 | 500 | 100 | 3 (n=1) | |

*NA=Sin Actividad, No cruzado-Reactivo; **ND = No hecho

Ejemplo 3: Expresión y caracterización de anticuerpos

Se aislaron genes de cadena pesada y liviana para los clones de anticuerpo 1.2, 1.109 y 2.360 y se clonaron en constructos para expresión como cadenas pesadas IgG2 y cadenas livianas kappa. Los anticuerpos se expresaron mediante expresión transitoria en células COS/PKB y se purificaron mediante cromatografía de Proteína A. Los rendimientos de anticuerpos fueron 3.6-7.4 mg/l, que se encuentran dentro del rango esperado para este sistema de expresión.

Las actividades de los anticuerpos clonados y los anticuerpos expresados en hibridoma se compararon en el ensayo de proliferación de AML-5. Las células AML-5 se incubaron con 10 ng/ml de CSF-1 en presencia de concentraciones decrecientes de anticuerpo. Después de 72 horas, se midió la proliferación celular usando Alamar Blue (véase, Figura 3). Los anticuerpos recombinantes mostraron una actividad neutralizante similar a la de los sobrenadantes de hibridoma, y la conversión de 1.2 y 1.109 de IgG1 a IgG2 no tuvo efecto aparente. Los anticuerpos recombinantes también demostraron una buena actividad neutralizante en el ensayo de proliferación de cynomolgus como se muestra en la Figura 4. Similar al ensayo de proliferación AML-5, las células de médula ósea de cynomolgus se incubaron con 10 ng/ml de CSF-1 en presencia de concentraciones decrecientes de anticuerpo. Después de 72 horas, se midió la proliferación celular usando Alamar Blue.

La caracterización de los anticuerpos purificados mediante SDS-PAGE y cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) produjo resultados típicos, con la excepción de la cadena liviana del clon 1.109, que migró más de lo esperado en SDS-PAGE. Esta excepción no fue inesperada porque se notó previamente en CDR1 una secuencia del sitio de glicosilación ligada a N. La migración mayor a la esperada sugirió que este sitio de glicosilación estaba ocupado.

La secuenciación N-terminal de los anticuerpos confirmó que los péptidos señalados se procesaron como se esperaba, y que los residuos de glutamina N-terminal de la cadena pesada fueron probablemente ciclizados a ácido piroglutámico como sería de esperar. La espectrometría de masas se realizó en las cadenas de anticuerpos individuales después de la desglicosilación enzimática. Las masas de las cadenas pesadas confirmaron que los residuos de glutamina N-terminal se ciclizaron a ácido piroglutámico y que los residuos de lisina C-terminal estaban ausentes. No se notaron otras modificaciones postraduccionales. Las masas del clon 1.2 SM y 2.360 cadenas livianas confirmaron que estaban intactas sin modificaciones postraduccionales. No se obtuvo una masa para la cadena liviana del clon 1.109, probablemente porque el sitio de glicosilación era resistente a la eliminación enzimática y, por lo tanto, no se pudo obtener una masa precisa.

Ejemplo 4: Corrección de mutaciones somáticas (SM)

La comparación de secuencias de anticuerpos IgG2 clon 1.2, 1.109 y 2.360 para secuencias de línea germinal conocidas reveló las siguientes mutaciones somáticas, como se muestra en la Tabla 11, siendo la numeración en la tabla con respecto a la secuencia madura como se muestra en las Figuras 1A y 1B.

Tabla 11: Mutaciones somáticas relativas a la secuencia de línea germinal más cercana

| Cadena anticuerpos | de | Mutación somática | Residuo de línea germinal | Comentarios |
|--------------------|----|-------------------------------|---------------------------|--|
| 1.2 LC | | Ser-78 en FR3 | Thr | |
| 1.2 HC | | Ninguna | | |
| 1.109 LC | | Asn-28 en CDR1; Asn-45 en FR2 | Asp: Lys | Asn-28 crea un sitio de glicosilación ligado a N |
| 1.109 HC | | Ninguna | | |
| 2.360 LC | | Gln-45 en FR2 | Lys | |
| 2.360 HC | | Val-79 en FR3 | Ala | |

5 Para probar si las mutaciones somáticas se podían convertir en restos de línea germinal, se generaron los constructos relevantes y los anticuerpos se expresaron mediante expresión transitoria en células COS/PKB y se purificaron mediante cromatografía de Proteína A. Estos anticuerpos se denominaron IgG₂ clon 1.2 SM, 1.109 SM y 2.360 SM (SM = mutación somática curada). Para el LC 1.109, se hicieron dos constructos. En la primera construcción, Asn-28 se convirtió a Asp-28 para eliminar el sitio de glicosilación unido a N, y en la segunda construcción, Asn-28 se convirtió a Asp-28 y Asn-45 se convirtió a Lys-45. Los rendimientos fueron de 1.7-4.5 mg/l, que está dentro del rango esperado para este sistema de expresión.

10 La caracterización de los anticuerpos purificados mediante SDS-PAGE y cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) produjo resultados típicos. La SDS-PAGE de las dos formas del clon IgG₂ 1.109 SM mostró que la cadena liviana migró más rápido que la cadena liviana del anticuerpo parental, confirmando que el sitio de glicosilación unido a N fue eliminado. La secuenciación N-terminal mostró que los extremos N de las cadenas de anticuerpos estaban intactos, y la espectrometría de masas mostró que las mutaciones somáticas se habían convertido en residuos de la línea germinal.

15 Ejemplo 5: Caracterización de anticuerpos modificados por mutación somática

20 Después de la corrección de las mutaciones somáticas, los anticuerpos IgG₂ purificados se volvieron a analizar en los ensayos de proliferación de la médula ósea AML-5 y cynomolgus. La IC₅₀ en el ensayo de proliferación AML-5 no cambió para el clon IgG₂ 1.2 SM o 1.109 SM (SM = curado por mutación somática) en relación con los anticuerpos IgG₂ parentales, pero hubo una pérdida de potencia 10 veces para el clon IgG₂ 2.360 SM anticuerpo (véase, Tabla 12).

25 Se midieron las afinidades de unión de los anticuerpos corregidos por la mutación somática a la proteína monomérica c-fms por resonancia de plasmón superficial usando un instrumento Biacore 3000. La afinidad del anticuerpo IgG₂ clon 1.2 SM esencialmente no se modificó con respecto a los anticuerpos parentales, mientras que las afinidades de los anticuerpos IgG₂ clon 1.109 SM y 2.360 SM fueron ~2 veces menores que los anticuerpos parentales respectivos (véase la Tabla 12).

30 Los anticuerpos parentales (PT) y SM IgG₂ se probaron adicionalmente para determinar la capacidad de inhibir la unión de ¹²⁵I-hCSF-1 a células AML-5. La afinidad aparente de unión de ¹²⁵I-hCSF-1 a células AML-5 se determinó en primer lugar que era de 46 pM y el K_i de hCSF-1 no marcado era de 17.8 pM (véase el Ejemplo 10). Como se muestra en la Tabla 12, el valor de K_i para el anticuerpo 1.2 estaba en línea con el valor de IC₅₀ en el bioensayo de AML-5 y 1,2 SM dio resultados similares. El valor de K_i para el anticuerpo 1.109 también estaba en línea con el valor de IC₅₀ y no hubo cambio con el anticuerpo 1.109 SM a pesar de una pérdida de afinidad de 2 veces para las c-fms monoméricas medidas por Biacore. El anticuerpo 2.360 no inhibió tan bien como los anticuerpos 1.2 y 1.109, y 2.360 SM inhibió menos bien que el anticuerpo parental.

Tabla 12: Propiedades de los anticuerpos parentales (PT) frente a los de línea germinal (SM)

ES 2 650 224 T3

| Anticuerpo | Bioensayo AML-5 IC ₅₀ (pM) | Bioensayo de médula ósea de Cynomolgus IC ₅₀ (pM) | Inhibición (K _i) de unión de ¹²⁵ I-CSF-1 a AML-5 (pM) | Afinidad de unión (K _D) a c-fms monoméricas por Biacore (pM) |
|------------|---------------------------------------|--|--|--|
| 1.2 | 27 | 78 | 8.5 | 516 |
| 1.2 SM* | 12 | 81 | 11.5 | 548 |
| 1.109 | 27 | 16 | 13.5 | 51 |
| 1.109 SM* | | 23 | 9.7 | 102 |
| 2.360 | 60 | 67 | ~160 | 535 |
| 2.360 SM* | | | ~900 | 1200 |

*SM = mutación somática curada

5 La actividad del anticuerpo 1.2 SM se investigó adicionalmente en ensayos de proliferación usando células monocíticas de médula ósea de Cynomolgus o humanas. Para el ensayo humano, las células humanas se incubaron con 11.1 ng/ml de CSF-1 humana recombinante en presencia de concentraciones decrecientes de anticuerpo 1.2 SM. Para el ensayo en cynomolgus, las células de cynomolgus se incubaron con 29.63 ng/ml de CSF-1 humana recombinante en presencia de concentraciones decrecientes de anticuerpo 1.2 SM. El anticuerpo IgG2 humano se usó en experimentos de control. Después de 7 días, se midió la proliferación celular usando CellTiter-Glo (Promega, Madison WI) para determinar los niveles de ATP. El ajuste de la curva de regresión no lineal se realizó para determinar la IC₅₀ del anticuerpo. La Tabla 13 muestra los resultados de tres conjuntos de experimentos.

10 Tabla 13: Actividad del anticuerpo clonado 1.2 SM en ensayos de proliferación celular

| Célula monocítica de médula ósea | IC ₅₀ de 1.2 SM en presencia de hCSF-1 (pM) | | | | |
|----------------------------------|--|---------------|---------------|----------|-------|
| | Experimento 1 | Experimento 2 | Experimento 3 | Promedio | S. D. |
| Humana | 15.5 | 20.1 | 10.9 | 15.5 | 4.6 |
| Cynomolgus | 42.55 | 26.01 | 22.90 | 32.73 | 13.89 |

Ejemplo 6: Inhibición de la fosforilación de tirosina C-fms

15 Para mostrar que los mAb IgG₂ anti-c-fms, 1.109, 1.2 y 2.360, son capaces de una inhibición completa o casi completa de la respuesta de fosfotirosina (pTyr), se trataron células 293T/c-fms con estos mAbs durante 1 hora en diversas concentraciones a 37 °C antes de la estimulación de CSF-1.

20 Diversas concentraciones de los mAbs de IgG₂ usando diluciones de titulación fueron de 1.0, 0.1, 0.01, 0.001 y 0.0001 µg/ml. Como controles, se usaron un anticuerpo monoclonal anti-c-fms no bloqueante, mAb 3-4A4 (BioSource, Int.) y un anticuerpo no relevante, hCD39 M105, cada uno a 1.0 µg/ml. Se trataron células 293T/c-fms carentes de suero con cada uno de los mAb IgG₂ (PT) usando las diversas concentraciones mencionadas anteriormente, y cada concentración variando en una dilución de diez veces antes de una estimulación de CSF-1 de cinco minutos a 50 ng/ml durante 5 minutos. Tras la estimulación, se recogieron lisados de células completas, se inmunoprecipitaron a 4°C durante la noche con un anticuerpo policlonal C20 anti-c-fms (Santa Cruz Biotechnology, Inc.) y se examinaron mediante transferencia Western en la que se inmunosondeó la transferencia con un anticuerpo anti-pTyr genérico, 4G10 (Upstate Biotechnology), y un anticuerpo anti-C-fms C20 para los niveles de fosforilación de tirosina de c-fms y c-fms, respectivamente.

25 Para hacer crecer las células 293T/c-fms en placas de 24x10 cm, a 37 °C en 5% de CO₂, se recogieron once matraces T175 (~50-60% confluentes) a través de 4 ml de tripsina/matraz (Gibco-Invitrogen) y se transfirieron a 70 ml de DMEM

ES 2 650 224 T3

(Gibco)/10% de FBS (JRH Biosciences). A cada placa de 10 cm se le aplicaron luego 10 ml de medio y se inocularon con 2 ml de las células recolectadas. Se preparó medio DMEM/-FBS durante 1 hora a 37°C. Se retiró el medio de cultivo de placas de 10 cm mediante aspiración cuidadosa, eliminando tanto medio que contenga FBS como fue posible. Se añadieron diez ml de DMEM/-FBS y la mezcla se incubó durante 1 hora a 37°C.

- 5 Después de la privación de suero durante 1 hora a 37°C, se eliminó el medio. Los tratamientos con anticuerpos y los controles con menos-Ab se establecieron con 4.0 ml de las muestras que contenían Ab diluidas en serie o con DMEM/-FBS solo, y se incubaron durante otra hora más a 37°C para proporcionar un total de 2 horas de suero inanición. El pretratamiento del anticuerpo y la estimulación del ligando se ilustran en la Tabla 14.

Tabla 14

| Placa | Pretratamiento Ab | Estimulación del ligando |
|-------|--------------------------|--------------------------|
| #1 | DMEM/-FBS (menos Ab) | medio solo |
| #2 | DMEM/-FBS (menos Ab) | CSF-1 |
| #3 | CLON 1.109 @ 1.0 µg/ml | medio solo |
| #4 | CLON 1.2 @ 1.0 µg/ml | medio solo |
| #5 | CLON 2.360 @1.0 µg/ml | medio solo |
| #6 | 3-4A4 @ 1.0 µg/ml | medio solo |
| #7 | M105 @ 1.0 µg/ml | medio solo |
| #8 | CLON 1.109 @ 1.0 µg/ml | CSF-1 |
| #9 | CLON 1.109 @ 0.1 µg/ml | CSF-1 |
| #10 | CLON 1.109 @ 0.01 µg/ml | CSF-1 |
| #11 | CLON 1.109 @ 0.001 µg/ml | CSF-1 |
| #12 | CLON 1.109 @ 0.001 µg/ml | CSF-1 |
| #13 | CLON 1.2 @ 1.0 µg/ml | CSF-1 |
| #14 | CLON 1.2 @ 0.1 µg/ml | CSF-1 |
| #15 | CLON 1.2 @ 0.01 µg/ml | CSF-1 |
| #16 | CLON 1.2 @ 0.001 µg/ml | CSF-1 |
| #17 | CLON 1.2 @ 0.0001 µg/ml | CSF-1 |
| #18 | CLON 2.360 @ 1.0 µg/ml | CSF-1 |
| #19 | CLON 2.360 @ 0.1 µg/ml | CSF-1 |
| #20 | CLON 2.360 @ 0.01 µg/ml | CSF-1 |

| Placa | Pretratamiento Ab | Estimulación del ligando |
|-------|---------------------------|--------------------------|
| #21 | CLON 2.360 @ 0.001 µg/ml | CSF-1 |
| #22 | CLON 2.360 @ 0.0001 µg/ml | CSF-1 |
| #23 | 3-4A4 @ 1.0 µg/ml | CSF-1 |
| #24 | M105 @ 1.0 µg/ml | CSF-1 |

Se reconstituyó un nuevo vial de CSF-1 (R&D Systems/216-MC/lote CC093091) a 50 ng/µl (25 µg/vial) en 500 µl de PBS (Gibco)/0.1% de BSA (Sigma) y se mantuvo en hielo. Se preparó una dilución 1:1000 de reserva de CSF-1 (60 µl) en DMEM/-FBS (60 ml) aproximadamente 5 minutos antes del final del tratamiento con Ab. Las células 293T/c-fms se incubaron con 50 ng/ml de CSF-1 durante 5 minutos a 37°C. Los sobrenadantes se eliminaron y 2 ml de regulador de lisis frío (100 ml de PBS/1% de Triton, 100 µl de EDTA 0.5 M, 100 µl de NaF 1.0 M, 200 µl de fosfato de beta-glicerol 0.5 M, 500 µL de vanadato de sodio (100x), se añadieron 10.0 µL de ácido okadaico (10.000x) y 4 tabletas de inhibidor de proteasa completo). Los lisados (2.0 ml) se combinaron con 30 µl de proteína A/G Sepharose al 50% (Amersham) y se incubaron durante 1 hora a 4°C en una plataforma basculante para eliminar previamente proteínas de unión no específicas. Después de centrifugar las fracciones, los sobrenadantes se decantaron en tubos frescos de 15 ml.

Se inmunoprecipitaron los lisados celulares completos con 2.5 µg/ml de anti-c-fms C20 (25 µl, a 0.2 µg/µl). Las mezclas de lisado de anticuerpo-célula se incubaron durante la noche a 4°C en la plataforma de balancín para sondear las c-fms totales. Se añadió IgG/HRP anticonejo de asno (1:10.000 en solución de bloqueo, Jackson) y se incubó adicionalmente durante otros 30 minutos a 4°C. Los inmunocomplejos se corrieron en SDS-PAGE y se inmunotransfirieron. Los inmunoprecipitados Western se sondearon con anti-pTyr 4G10 o anti-c-fms C20 para la detección de pTyr c-fms y c-fms totales, respectivamente.

Como se muestra en la figura 5, los clones IgG₂ (PT) 1.109, 1.2 y 2.360 exhibieron la capacidad de inhibir pTyr/c-fms inducidos por ligando en el sistema de ensayo 293T3/c-fms. El tratamiento con 0.1 µg/ml (8.3 nM) del clon IgG₂ (PT) 1.109 o 1.2 durante 1 hora antes de la estimulación de CSF-1 redujo la señal de fosfotirosina a niveles de fondo. Por otro lado, el clon IgG₂ (PT) 2.360 produjo la misma inhibición a 1.0 µg/ml (83 nM). Sin embargo, el tratamiento de cualquiera de los anticuerpos a 0.01 µg/ml (0.83 nM) o menos no dio como resultado la inhibición de pTyr. Por el contrario, anti-c-fms 3-4A4 sin bloqueo y un anticuerpo hCD39 M105 no relevante, a la dosis más alta (1.0 µg/ml), no tuvieron efecto sobre la señal pTyr inducida por ligando en comparación con -mAb/+CSF-1 control. Por lo tanto, la inhibición de la formación de pTyr está directamente relacionada con el bloqueo de la unión de CSF-1.

Suponiendo que los transfectantes 293T/c-fms utilizados en estos ensayos conservan la densidad de la superficie celular c-fms medido previamente de ~30.000 receptores/célula, ~3 millón de células soportarían ~90x10⁶ c-fms, significativamente menos que el ~5.0x10¹¹ mAb en 4.0 ml de pretratamiento a 0.1 µg/ml. La presente invención del mAb con exceso de ~10.000 veces con respecto al objetivo hace probable la saturación de c-fms disponibles. Esto indica que clon (PT) 1.109 o 1.2 8.3 nM bloqueó efectivamente la señalización de CSF-1 a 50 ng/ml o 1.0 nM, o una relación molar aproximada de 10:1 (mAb:c-fms). El umbral de efectividad para los clones (PT) 1.109 y 1.2 probablemente se encuentre entre 0.1 y 0.01 µg/ml (0.83-8.3 nM) en este sistema de ensayo.

El tratamiento con mAbs de IgG₂ (PT) de 1.0 µg/ml en ausencia de la adición de CSF-1 no dio señal de pTyr por encima de los niveles de fondo. Experimentos previos con las tres formas IgG₂ (PT) utilizadas a 10 µg/ml tampoco revelaron señal de pTyr en las mismas condiciones. No hubo actividad agonística medida asociada con estos mAb.

Ejemplo 7: Inhibición de pTyr/c-fms inducida por ligando usando formas IgG₂ PT y SM

El propósito de este estudio fue determinar si hay algún cambio funcional en las formas revertidas de línea germinal (SM) de los clones de IgG₂ 1.109, 1.2 y 2.360, en comparación con sus respectivas formas parentales (PT). Para preparar las células 293T/c-fms para este experimento, se recogieron las células que crecían a partir de cinco T175 (~80-90% confluyente) a través de 4 ml de tripsina/matraz y se transfirieron a 75 ml de DMEM con 10% de SFB. A cada placa de 24X10 cm, se añadieron 9 ml de medio y se inocularon con 3 ml de las células recolectadas. Se preparó medio DMEM/-FBS y/o se calentó durante 1 hora a 37°C. El medio de cultivo se eliminó de las placas de 10 cm por medio de una aspiración cuidadosa para eliminar la mayor cantidad posible de medio que contenía FBS. Se añadió DMEM/-FBS (10 ml) y la mezcla se incubó durante 1 hora a 37°C. El regulador de lisis frío se preparó y se mantuvo en hielo.

Se prepararon titulaciones de anticuerpos monoclonales, como se representa en la Tabla 15, y se mantuvieron a

temperatura ambiente.

Tabla 15: Valoración de anticuerpos monoclonales IgG₂ C-fms

| mAb (µg/µL) | Volumen utilizado | DMEM/-FBS |
|----------------------------|-------------------|-----------|
| Clon 1.109 PT (0.41) | 14.6 µL | 6.0 ml |
| Clon 1.109 SM (G) (0.34) | 17.6 µL | 6.0 ml |
| Clon 1.109 SM (F/G) (0.58) | 10.3 µL | 6.0 ml |
| Clon 1.2 PT (1.57) | 3.8 µL | 6.0 ml |
| Clon 1.2 SM (0.35) | 17.1 µL | 6.0 ml |
| Clon 2.360 PT (0.41) | 14.6 µL | 6.0 ml |
| Clon 2.360 SM (0.55) | 10.9 µL | 6.0 ml |
| 3-4A4 (0.2) | 15 µL | 3.0 ml |

5 Se analizó una serie de diluciones de anticuerpos en serie (300 µL + 2.7 ml de DMEM/-FBS) dentro del intervalo de 1.0 µg/ml a 0.1 µg/ml para cada mAb. Después de 1 hora de privación de suero a 37°C, se eliminó el medio y se prepararon pretratamientos de anticuerpos y controles menos-Ab de manera similar a como se describe en la Tabla 13. Los pretratamientos de anticuerpos y la estimulación del ligando se describen en la Tabla 16 a continuación:

Tabla 16

| Placa No. | Ab-pretratamiento | Estimulación del ligando |
|-----------|-------------------------------|--------------------------|
| 1 | DMEM/-FBS (menos Ab) | medio solo |
| 2 | DMEM/-FBS (menos Ab) | CSF-1 |
| 3 | 3-4A4 @ 1.0 µg/ml | CSF-1 |
| 4 | Clon 1.109 @ 1.0 µg/ml | medio solo |
| 5 | Clon 1.109 @ 1.0 µg/ml | CSF-1 |
| 6 | Clon 1.109 @ 0.1 µg/ml | CSF-1 |
| 7 | Clon 1.109 SM-G @ 1.0 µg/ml | medio solo |
| 8 | Clon 1.109 SM-G @ 1.0 µg/ml | CSF-1 |
| 9 | Clon 1.109 SM-G @ 0.1 µg/ml | CSF-1 |
| 10 | Clon 1.109 SM-F/G @ 1.0 µg/ml | medio solo |

| Placa No. | Ab-pretratamiento | Estimulación del ligando |
|-----------|-------------------------------|--------------------------|
| 11 | Clon 1.109 SM-F/G @ 1.0 µg/ml | CSF-1 |
| 12 | Clon 1.109 SM-F/G @ 0.1 µg/ml | CSF-1 |
| 13 | Clon 1.2 @ 1.0 µg/ml | medio solo |
| 14 | Clon 1.2 @ 1.0 µg/ml | CSF-1 |
| 15 | Clon 1.2 @ 0.1 µg/ml | CSF-1 |
| 16 | Clon 1.2 SM @ 1.0 µg/ml | medio solo |
| 17 | Clon 1.2 SM @ 1.0 µg/ml | CSF-1 |
| 18 | Clon 1.2 SM @ 0.1 µg/ml | CSF-1 |
| 19 | Clon 2.360 @ 1.0 µg/ml | medio solo |
| 20 | Clon 2.360 @ 1.0 µg/ml | CSF-1 |
| 21 | Clon 2.360 @ 0.1 µg/ml | CSF-1 |
| 22 | Clon 2.360 SM @ 1.0 µg/ml | medio solo |
| 23 | Clon 2.360 SM @ 1.0 µg/ml | CSF-1 |
| 24 | Clon 2.360 SM @ 0.1 µg/ml | CSF-1 |

Se realizó pTyr inducido por ligando mediante mAbs anti-c-fms (formas SM) como se describe en el Ejemplo 6 para las formas de PT.

5 Los experimentos que usan las células 293T/c-fms para comparar los efectos de las formas PT frente a SM de los tres mAb IgG₂ a 1.0 y 0.1 µg/ml no revelaron diferencias en la capacidad de inhibir las pTyr/C-fms inducidas por ligando (ver la Figura 6). Los clones 1.109 y 1.2 (ambas formas PT y SM) mostraron inhibición a concentraciones más bajas que con las formas 2.360 (formas PT y SM).

10 Los clones 1.109 y 1.2 (PT o SM) pudieron prevenir pTyr/c-fms inducidos por ligando *in vitro* cuando se trataron células 293T/c-fms con 0.1 µg/ml (8.3 nM) o mAb mayor durante 1 hora a 37°C antes de la adición de CSF-1 a 50 ng/ml (1.0 nM). La capacidad de estos anticuerpos monoclonales para bloquear la formación de pTyr/c-fms conduciría a la inhibición de la señalización de CSF-1, la migración de monocitos y, posteriormente, la acumulación de TAM. No pareció asociarse actividad agonista con estos mAbs, para evitar la activación del receptor de una manera que no depende de CSF-1. Los mAbs no mostraron actividad agonista cuando se usaron a una concentración de 1.0 µg/ml y tan alta como 10 µg/ml (datos no mostrados).

15 Por consiguiente, los mAb fueron capaces de prevenir pTyr/c-fms inducidos por ligando *in vitro*.

Ejemplo 8: Inmunoprecipitación de C-fms por mAb anti-c-fms

20 La capacidad de los mAb IgG₂ anti-c-fms para unirse e inmunoprecipitar c-fms se logró utilizando las células 293T/c-fms transfectadas establemente tal como se describió anteriormente. Los lisados de células enteras de células no estimuladas se inmunoprecipitaron durante la noche con cada mAb (PT y SM) y anticuerpo C20 anti-c-fms y se examinaron por inmunoprecipitación Western sobre C20 Ab (Santa Cruz Biotechnology, Inc.) como la sonda para detección de c-fms. C-fms fue inmunoprecipitado por anticuerpos monoclonales. Se prepararon lisados de 293T/c-fms

transfectados establemente crecidos a 37°C/5% de CO₂ a aproximadamente 75% de confluencia y se combinaron con los anticuerpos monoclonales, como se muestra en la Tabla 17.

Tabla 17

| Tubo No. | Ab (µg/µL) | Ab (µL) |
|----------|--------------------------|---------|
| 1 | Clon 1.109 (0.41) | 6.1 |
| 2 | Clon 1.109 SM F/G (0.58) | 4.3 |
| 3 | Clon 1.2 (1.57) | 1.6 |
| 4 | Clon 1.2 SM (0.35) | 7.1 |
| 5 | Clon 2.360 (0.41) | 6.1 |
| 6 | Clon 2.360 SM (0.52) | 4.8 |
| 7 | C20 (0.2) | 12.5 |
| 8 | C19 (0.2) | 12.5 |

- 5 Los experimentos de inmunoprecipitación usando lisados de células enteras no tratadas de 293T/c-fms estable demostraron una capacidad comparable de los diversos mAbs (excepto 2.360 SM) para unir y precipitar c-fms, en comparación con el control policlonal anti-c-fms C20; el clon 2.360-SM, sin embargo, exhibió una capacidad reducida en este ensayo (véase la Figura 7).

Ejemplo 9: Inmunoprecipitación de variantes de SNP por mAbs de IgG₂

- 10 Los polimorfismos de un solo nucleótido o SNP son variaciones de la secuencia de ADN que se producen cuando se ha cambiado un único nucleótido (A, G, T o C) en la secuencia genómica. Los SNP pueden ocurrir tanto en las regiones codificadoras como no codificadoras del genoma humano. Muchos SNP no tienen ningún impacto en la función celular, pero los científicos consideran que otros SNP pueden predisponer a las personas a la enfermedad o tener un efecto en su respuesta a fármacos. Las variaciones en la secuencia de ADN pueden tener una gran influencia en la forma en que una persona responde a una enfermedad, agresiones ambientales (por ejemplo, bacterias, virus, toxinas y productos químicos), fármacos y otras terapias. Por esta razón, los SNP son de gran valor para la investigación biomédica, el desarrollo de productos farmacéuticos y el diagnóstico médico. Además, los mapas de SNP le permitirán al científico identificar múltiples genes que están asociados con enfermedades complejas como cáncer, diabetes y enfermedades vasculares.

- 20 La región extracelular de c-fms humanas se puede dividir en cinco dominios repetidos similares a inmunoglobulina (Ig) (designados de A a E). Véase, por ejemplo, Hampe, A. et al. (1989) *Oncogene Res.* 4: 9-17 para una discusión sobre los dominios humanos. Véase, por ejemplo, Wang, et al. (1993) *Molecular and Cell Biology* 13: 5348-5359 para los dominios correspondientes en la proteína de ratón. Se ha demostrado que los dominios A-C comprenden la región de unión a CSF-1, mientras que se ha demostrado que el dominio D ayuda a regular la dimerización del receptor tras la unión del ligando. Se prepararon tres variantes de SNP de origen natural de c-fms humanas, a saber, A245S, V279M en el dominio de Ig C y H362R en el dominio de Ig D (véase la Figura 8 para la secuencia de aminoácidos del dominio extracelular de c-fms). Estos SNP se encuentran en o cerca de la región de unión a CSF-1 y el examen por inmunoprecipitaciones Western sondeados con anti-c-fms H-300 (un anticuerpo policlonal de conejo generado contra los aminoácidos 11-310 que mapean cerca del N-terminal de c-fms humano/CSF-1R; Santa Cruz Biotech., Inc., Cat. No. sc-13949).

- 35 Para estudiar cómo las variantes humanas de c-fms SNP interactúan con los diversos anticuerpos c-fms proporcionados en el presente documento, se usaron células 293T transfectadas transitoriamente que expresan los tres tipos de variantes SNP c-fms, como se discutió anteriormente, y (WT) c-fms tipo silvestre (así como un control irrelevante, compatible con el vector) para evaluar la capacidad de cada mAb anti-c-fms para unirse a variantes de SNP mediante inmunoprecipitación.

ES 2 650 224 T3

Se transfectaron células 293T en placas duplicadas de 10 cm con c-fms A245S, V279M, H362R, WT c-fms y una construcción de control irrelevante en el vector de expresión de mamíferos pCIneo y se cultivaron durante 48 horas a 37 °C/5% CO₂. Los lisados celulares se prepararon como se describió anteriormente. Se añadieron mAbs anti-c-fms y anti-c-fms policlonales C20 o anti-c-*kit* C19 a 2.5 µg/ml en alícuotas de 1.0 ml a cada lisado como se ilustra en la Tabla 18.

5

Tabla 18

| Tubo | Transfectante | IP Ab (µg/µL) | IP Ab (µL) |
|------|---------------|---------------------|------------|
| 1 | c-fms | Clon 1.2 (1.57) | 1.6 |
| 2 | c-fms | Clon 1.2 SM (0.5) | 5.0 |
| 3 | c-fms | Clon 1.109 (0.41) | 6.1 |
| 4 | c-fms | Clon 1.109 SM (0.5) | 5.0 |
| 5 | c-fms | Clon 2.360 (0.41) | 6.1 |
| 6 | c-fms | Clon 2.360 SM (0.5) | 5.0 |
| 7 | c-fms | C20 (0.2) | 12.5 |
| 8 | c-fms | C19 (0.2) | 12.5 |
| 9 | A245S | Clon 1.2 (1.57) | 1.6 |
| 10 | A245S | Clon 1.2 SM (0.5) | 5.0 |
| 11 | A245S | Clon 1.109 (0.41) | 6.1 |
| 12 | A245S | Clon 1.109 SM (0.5) | 5.0 |
| 13 | A245S | Clon 2.360 (0.41) | 6.0 |
| 14 | A245S | Clon 2.360 SM (0.5) | 5.0 |
| 15 | A245S | C20 (0.2) | 12.5 |
| 16 | V279M | Clon 1.2 (1.57) | 1.6 |
| 17 | V279M | Clon 1.2 SM (0.5) | 5.0 |
| 18 | V279M | Clon 1.109 (0.41) | 6.1 |
| 19 | V279M | Clon 1.109 SM (0.5) | 5.0 |
| 20 | V279M | Clon 2.360 (0.41) | 6.1 |
| 21 | V279M | Clon 2.360 SM (0.5) | 5.0 |

ES 2 650 224 T3

| Tubo | Transflectante | IP Ab ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) | IP Ab (μL) |
|------|----------------|-------------------------------------|-------------------------|
| 22 | V279M | C20 (0.2) | 12.5 |
| 23 | H362R | Clon 1.2 (1.57) | 1.6 |
| 24 | H362R | Clon 1.2 SM (0.5) | 5.0 |
| 25 | H362R | Clon 1.109 (0.41) | 6.1 |
| 26 | H362R | Clon 1.109 SM (0.5) | 5.0 |
| 27 | H362R | Clon 2.360 (0.41) | 6.1 |
| 28 | H362R | Clon 2.360 SM (0.5) | 5.0 |
| 29 | H362R | C20 (0.2) | 12.5 |
| 30 | Menos-control | Clon 1.2 (1.57) | 1.6 |
| 31 | Menos-control | Clon 1.2 SM (0.5) | 5.0 |
| 32 | Menos-control | Clon 1.109 (0.41) | 6.1 |
| 33 | Menos-control | Clon 1.109 SM (0.5) | 5.0 |
| 34 | Menos-control | Clon 2.360 (0.41) | 6.1 |
| 35 | Menos-control | Clon 2.360 SM (0.5) | 5.0 |
| 36 | Menos-control | C20 (0.2) | 12.5 |
| 37 | Menos-control | C19 (0.2) | 12.5 |

Las células se incubaron durante la noche a 4 °C en un balanceador como se describe en el Ejemplo 6.

Los anticuerpos no revelaron pérdida de capacidad para unirse a las formas de SNP en comparación con el control de WT (Figura 9). Los mAb parecen tener la capacidad de unirse al rango de variantes de c-fms naturales.

- 5 La inmunoprecipitación a partir de lisados de células enteras no tratadas de 293T/c-fms estable demostró la misma capacidad de todos los diversos mAb (excepto 2.360 SM) para unir y precipitar c-fms en comparación con el control policlonal anti-c-fms; el clon 2.360 SM exhibió una capacidad claramente reducida en este ensayo. El examen de la capacidad de los diversos mAbs para inmunoprecipitar c-fms y variantes de SNP de células 293T/c-fms transfectadas transitoriamente no reveló pérdida de capacidad para unirse a las formas de SNP. La capacidad de los diversos mAb para unir los SNP de c-fms indicó que reconocen las proteínas c-fms en todo el espectro de variantes conocidas que existen para los humanos.

Ejemplo 10: Inhibición de la unión de ^{125}I -hCSF-1 por mAb anti-c-fms

La afinidad de los mAbs anti-c-fms por las c-fms humanas expresadas en la superficie celular se determinó midiendo la inhibición de la unión de ^{125}I -hCSF-1 a células AML-5.

- 15 Se yodó hCSF-1 recombinante (Amgen) usando ^{125}I (Amersham) e IODO-GEN® (Pierce). Se añadieron setenta y cinco μl de PBS, 10 μg de hCSF-1 y 1 mCi de ^{125}I a un tubo de yodación prerrecubierto IODO-GEN® y se dejaron en hielo durante 15 minutos. La mezcla se transfirió a una columna P6 equilibrada de 2 ml en la que ^{125}I -hCSF-1 se separó del ^{125}I libre por filtración en gel. Las fracciones que contenían hCSF-1 yodado se agruparon, luego se diluyeron hasta

una concentración de 100 nM en medio de unión (RPMI-1640 con 2.5% de albúmina bovina Fracción V, Hepes 20 mM y azida sódica al 0.2%, pH 7.2). Se calculó una actividad específica de 4.8×10^{15} cpm/mmol basada en la concentración de proteína inicial de hCSF-1 y una recuperación del 80% de un experimento control en el que se pasó una alícuota de ^{125}I -hCSF-1 a través del protocolo de yodación con omisión de ^{125}I adicional.

5 Se realizó un experimento de unión de radioligando de saturación junto con cada ensayo de inhibición con el fin de determinar tanto una K_D como una K_I para la unión de hCSF-1 a c-fms expresadas en la superficie de las células AML-5. Las mezclas se prepararon en placas de microtitulación de fondo redondo de 96 pozos con volúmenes totales de 150 μl /pozo. Todos los reactivos se diluyeron en medio de unión que contenía azida sódica al 0.2% y los experimentos se realizaron a 4°C para minimizar la posible internalización y desprendimiento del receptor.

10 Para el ensayo de unión por saturación, ^{125}I -hCSF-1 se diluyó en serie 2 veces, comenzando a una concentración de $\sim 1,7$ nM y saliendo 12 pozos a una concentración de ~ 1.5 pM. La unión no específica se midió a una sola concentración de ^{125}I -hCSF-1 (~ 80 pM, por triplicado) en presencia de un exceso molar de 1.000 veces de hCSF-1 no marcado, y se asumió que era una función lineal de la concentración de radiomarcado hCSF-1 presente.

15 Para el ensayo de inhibición de ^{125}I -hCSF-1, se estableció hCSF-1 no marcado a una concentración inicial de 5 nM. Las concentraciones iniciales para anti-c-fms 1.2, 1.109 y 2.360 (PT y SM para cada uno) fueron 0.312 nM, 1.25 nM y 20 nM, respectivamente. Cada muestra se diluyó en serie 2 veces en 15 pozos. Los pozos por triplicado de los medios de unión solos y los pozos por triplicado de un exceso molar de 1.000 veces sin marcar hCSF-1 se establecieron al comienzo, en el medio y al final del ensayo como controles para determinar el porcentaje de inhibición. Se añadió una concentración única de ^{125}I -HCSF-1 (~ 9 pM) a cada pozo.

20 Las células AML-5 se lavaron dos veces con PBS y se añadieron a cada placa de ensayo a 1×10^5 células/pozo justo antes de la incubación.

25 Ambos ensayos se incubaron a 4°C en un agitador miniorbital durante 4 horas, el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio como se determinó en los experimentos de curso de tiempo. Se transfirieron dos alícuotas de 60 μl de cada mezcla de incubación a tubos de centrifuga de polietileno enfriados de 400 μl que contenían 200 μl de aceite de ftalato y se centrifugaron durante 1.5 minutos en una microcentrifuga de mesa a 4°C (Sorvall) a 9615x g para separar el ^{125}I -hCSF-1 asociado a la célula del ^{125}I -hCSF-1 libre. Los tubos de aceite se cortaron, y cada sedimento celular y sobrenadante se recogieron en tubos de vidrio individuales de 12 x 75 mm y se cargaron en un contador gamma COBRA (Packard Instrument Company) para las mediciones de cpm. Se promediaron las cpm de las alícuotas duplicadas tomadas de cada pozo para el análisis.

30 Los datos de unión de saturación se ajustaron a una ecuación de unión simple de 1 sitio mediante regresión no lineal en Prism versión 3.03 (GraphPad Software, Inc.) para obtener una K_D media aparente de 46 pM para la unión de ^{125}I -hCSF-1 a c-fms humana expresada en superficie celular c-fms. Los datos de inhibición se ajustaron a una ecuación de inhibición competitiva de sitio único mediante regresión no lineal en Prism utilizando el valor de K_D para ^{125}I -hCSF-1 obtenido en el ensayo de unión concurrente para generar un valor de K_I para hCSF-1 no marcado (K_I medio aparente = 17.8 pM) así como también para cada mAb anti-c-fms. Se informaron los valores medios de K_I de 2 experimentos

(véase, Tabla 13).

Ejemplo 11: Determinación de las constantes de frecuencia y afinidad para la unión monomérica de C-fms a mAb anti-c-fms

40 La afinidad de c-fms (1-512).pHIS humano (Amgen) por los mAb anti-c-fms se midió mediante Biacore. Los experimentos se llevaron a cabo a 25°C usando un instrumento Biacore 3000 (Biacore AB) equipado con un chip sensor CM4. Los chips de sensores, reactivos de acoplamiento de amina (EDC (hidrocloruro de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida), NHS (N-hidroxisuccinimida) y etanolamina-HCl, pH 8.5), acetato de sodio 10 mM, pH 5.5, HBS-EP (0.01 M HEPES pH 7.4, 0.15 M NaCl, 3 mM EDTA, 0.005% v/v Surfactante P20), y 10 mM glicina-HCl, pH 1.5 se adquirieron de Biacore AB. Se adquirió albúmina sérica bovina (BSA, Bovuminar Standard Powder) de Serological Corporation. AffiniPure Goat Anti-Human IgG, Fc γ Fragment Specific se adquirió de Jackson ImmunoResearch Laboratories.

45 Se inmovilizó covalentemente un anticuerpo de captura específico de IgG anti-humana, Fc γ en un chip CM4 usando química de acoplamiento de aminas estándar con HBS-EP como regulador de ejecución. Brevemente, cada celda de flujo se activó durante 7 minutos con una mezcla 1:1 (v/v) de NHS 0.1 M y 0.4 M EDC a un caudal de 5 $\mu\text{l}/\text{min}$. La IgG antihumana de cabra a 28 $\mu\text{g}/\text{ml}$ en acetato de sodio 10 mM, pH 5.5 se inmovilizó a una densidad de ~ 2700 RU. Las superficies reactivas residuales se desactivaron con una inyección de 7 minutos de etanolamina 1 M a 5 $\mu\text{l}/\text{min}$. Se usaron tres inyecciones de 50 μl de glicina HCl 10 mM, pH 1.5 a 100 $\mu\text{l}/\text{min}$ para eliminar cualquier anticuerpo de captura no unido de forma no covalente restante y para acondicionar cada superficie. El regulador de ejecución se cambió a HBS-EP con 0.1 mg/ml de BSA para todos los pasos restantes.

55 Se inyectó anti-c-fms 1.2 o 1.2 SM a 0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ sobre IgG de cabra antihumana, Fc γ en una celda de flujo durante 2 minutos a 10 $\mu\text{l}/\text{min}$ para obtener una densidad superficial de ~ 47 RU. Se usó otra célula de flujo con IgG antihumana de cabra, Fc γ solo como superficie de referencia. Cada ensayo comenzó con diez ciclos de regulador como el analito

para estabilizar la señal. Se prepararon muestras monoméricas c-fms monoméricas (1-512).pHIS a concentraciones de 30, 10, 3.33, 1.11, 0.37 y 0.12 nM por triplicado y se inyectaron junto con 6 espacios en blanco del regulador en orden aleatorio a 100 µl/min en ambos las anti-c-fms capturadas y las superficies de referencia. Se permitió que cada complejo se asociara durante 2 minutos y se disocie durante 5 minutos. Las superficies se regeneraron después de cada inyección c-fms o regulador con un pulso de 30 segundos de glicina HCl 10 mM, pH 1.5 a 100 µl/min, seguido de una inyección de regulador de 30 segundos.

Se probaron de manera similar otros anticuerpos anti-c-fms, pero se realizaron cambios en el protocolo para tener en cuenta las diferencias en las características de unión. Se inyectaron anti-c-fms 1.109 y 1.109 SM cada uno sobre IgG de cabra antihumana a 0.5 µg/ml durante 1.5 minutos a 10 µL/min para obtener densidades superficiales de 59 y 91 RU, respectivamente. Se prepararon muestras de c-fms humanas (1-512).pHIS a concentraciones de 10, 3.33, 1.11, 0.37, 0.12 y 0.041 nM para la unión anti-c-fms 1.109, y el mismo conjunto con la excepción de 0.041 nM la muestra se preparó para unión anti-c-fms 1.109 SM. Se permitió que las c-fms monoméricas humanas (1-512).pHIS se disociaran de anti-c-fms 1.109 durante 20 minutos, y 1.109 SM durante 15 minutos. Se inyectaron anti-c-fms 2.360 y 2.360 SM cada uno sobre IgG antihumana de cabra, Fcy a 1 µg/ml durante 1.5 o 2 minutos, respectivamente, a 10 µl/min para obtener densidades superficiales de ~100 RU. Se prepararon muestras de c-fms (1-512).pHIS humanas a concentraciones de 30, 10, 3.33, 1.11 y 0.37 nM para la unión anti-c-fms 2.360, y se estableció el mismo conjunto con la adición de una muestra de 0.12 nM preparado para el enlace anti-c-fms 2.360 SM. Se permitió que las c-fms monómeras humanas (1-512).pHIS se disociaran de anti-c-fms 2.360 durante 8 minutos, y 2.360 SM durante 5 minutos.

Se hizo referencia doble a los datos restando las respuestas de la superficie de referencia para eliminar los cambios del índice de refracción masivo, y luego restando la respuesta del blanco del regulador promediado para eliminar los artefactos sistemáticos de las células de flujo experimentales. Los datos se procesaron y ajustaron globalmente a un modelo de interacción 1:1 con Rmax local en BIAevaluation (versión 4.1, Biacore AB) para obtener las constantes de velocidad cinética k_a y k_d . Aunque se recogieron datos de muestras triplicadas en cada concentración de c-fms, solo se pudieron analizar los datos de las muestras duplicadas debido a las restricciones de número de parámetros inherentes al software BIAevaluation. El K_D se calculó a partir del cociente k_d/k_a . Los resultados se muestran en la Tabla 19. Los datos de los diversos ejemplos proporcionados anteriormente se resumen en la Tabla 20.

Tabla 19: Afinidad de unión de mAbs anti-c-fms a proteína monomérica C-fms soluble medida por Biacore 3000

| Anticuerpo | k_a (1/Ms) | k_d (1/s) | K_D (pM) |
|------------|--------------------|-----------------------|------------|
| 1.2 | 3.84×10^6 | 1.98×10^{-3} | 516 |
| 1.2 SM* | 3.62×10^6 | 1.99×10^{-3} | 548 |
| 1.109 | 2.54×10^6 | 1.29×10^{-4} | 51 |
| 1.109 SM* | 2.66×10^6 | 2.71×10^{-4} | 102 |
| 2.360 | 1.25×10^6 | 6.67×10^{-4} | 535 |
| 2.360 SM* | 7.94×10^5 | 9.55×10^{-4} | 1200 |

*SM = Mutaciones somáticas eliminadas

Tabla 20: Resumen de mAbs 1.2,1.109 y 2.360

| Anticuerpo monoclonal | Proliferación de AML-5 IC ₅₀ (pM)* | Proliferación de la médula ósea de Cynomolgus IC ₅₀ (pM) | Inhibición (KI) de unión de ¹²⁵ I-CSF-1 a células AML-5 (pM) | Afinidad de unión (K_D) a c-fms por Biacore (pM) | IP de células 293T que expresan Wt c-fms y SNP | Inhibición sobre la inducción del ligando de pTyr de c-fms |
|-----------------------|---|---|---|--|--|--|
| 1.2 | 27 | 78 | 8.5 | 516 | +++ | +++ |

| Anticuerpo monoclonal | Proliferación de AML-5 IC ₅₀ (pM)* | Proliferación de la médula ósea de Cynomolgus IC ₅₀ (pM) | Inhibición (KI) de unión de ¹²⁵ I-CSF-1 a células AML-5 (pM) | Afinidad de unión (K _D) a c-fms por Biacore (pM) | IP de células 293T que expresan Wt c-fms y SNP | Inhibición sobre la inducción del ligando de pTyr de c-fms |
|-----------------------|---|---|---|--|--|--|
| 1.2 SM** | 12 | 81 | 11.5 | 548 | +++ | +++ |
| 1.109 | 27 | 16 | 13.5 | 51 | +++ | +++ |
| 1.109 SM** | | 23 | 9.7 | 102 | +++ | +++ |
| 2.360 | 60 | 67 | ~160 | 535 | +++ | ++ |
| 2.360 SM** | | | ~900 | 1200 | ++ | ++ |

* Ensayo de células primarias en diana humana; ** SM = mutaciones somáticas eliminadas.

Ejemplo 12. Mapeo de epítomos de anticuerpos anti C-fms clones IgG₂ 1.109, 1.2 y 2.36

Preparación de constructos de fusión C-fms-avidina

5 Los constructos de expresión de fusión c-fms avidina se muestran en la Figura 10. Para expresar cada proteína de fusión, la secuencia codificante para el dominio extracelular c-fms humano se amplificó por PCR y se clonó en pCEP4-Avidina (N), de manera que la secuencia c-fms se unió al extremo C de la secuencia de avidina de pollo usando la enzima de restricción XhoI. La secuencia de señal de c-fms no se incluyó, ya que la secuencia de señal para avidina de pollo se dejó intacta en el vector pCEP4-avidina (N).

10 Como se indicó anteriormente, el dominio extracelular contiene cinco regiones diferentes similares a Ig. Los diferentes dominios en c-fms humanos se discuten, por ejemplo, en Hampe et al., 1989, Oncogene Res. 4: 9-17. Para una discusión de los dominios correspondientes en c-fms de ratón, véase, por ejemplo, Wang et al., 1993, Molecular and Cell Biology 13: 5348-5359. Se prepararon las siguientes constructos de avidina diferentes para que se correspondan con el dominio similar a Ig indicado (véase la Figura 8 para la secuencia de aminoácidos del dominio extracelular, SEQ ID No 1).

15 Señal: aminoácidos 1-19

Dominio similar a Ig 1: aminoácidos 20-126

Dominio 1-similar a Ig 2: aminoácidos 20-223

Dominio similar a Ig 1-3: aminoácidos 20-320

Dominio similar a Ig 1-4: aminoácidos 20-418

20 Dominio similar a Ig 1-5: aminoácidos 20-512

dominio 2 solo similar a Ig 2: aminoácidos 85-223.

25 Por lo tanto, para crear regiones específicas de c-fms humanas (truncamientos) para el mapeo de epítomos, se realizó la amplificación por PCR para dirigirse a los siguientes aminoácidos: bucle similar a Ig1 (IPVI-ALLP), bucles similares a Ig 1 y 2 (IPVI-AQIV), bucles similares a Ig 1-3 (IPVI-EGLN), bucles similares a Ig 1-4 (IPVI-GTLL), y bucles similares a Ig 1-5 (IPVI-PPDE), así como bucle similar a Ig 2 solo (TEPG-AQIV). Las secuencias identificadas entre paréntesis indican la secuencia de inicio y finalización respectivamente para cada uno de los dominios (véase la Figura 8). Las regiones particulares indicadas se seleccionaron para mantener los residuos de cisteína implicados en la formación del enlace disulfuro, ya que estos enlaces son importantes para mantener la estructura tridimensional nativa de los dominios. Además, la construcción para el bucle similar a Ig 2 solo incluye alguna secuencia del bucle similar a Ig 1 por la misma razón. En consecuencia, los aminoácidos iniciales y finales de los dominios que se enumeran difieren un tanto de las regiones de dominio especificadas en los artículos de Hampe y Wang enumerados anteriormente.

30 Expresión de proteínas de fusión de avidina

La expresión de proteínas de fusión de avidina se logró por transfección transitoria de células adherentes 293T humanas en matraces de cultivo de tejidos T75. Las células se cultivaron y se mantuvieron en DMEM (alto contenido de glucosa) con 10% de FBS dializado y 1x Pen-strep-glutamina (medio de crecimiento), a 37°C y 5% de CO₂. Aproximadamente 3x10⁶ células 293T se inocularon en matraces T75 que contenían 15 ml de medio de crecimiento y se dejaron crecer durante la noche durante aproximadamente 20 horas. Las células se transfectaron luego con constructos de pCEP4-Avidina(N) -c-fms. En cada matraz, se mezclaron 15 µg de ADN con 75 µl de Lipofectamine 2000 (Invitrogen) en presencia de medio Opti-MEM (Invitrogen) y el complejo se incubó durante 20 minutos. El complejo de transfección se inoculó en el matraz correspondiente y se incubó a 37°C durante 4-5 horas en medio Opti-MEM. Al final del tiempo de incubación, el medio Opti-MEM fue reemplazado por medio de crecimiento fresco. Aproximadamente 48 horas después de la transfección, el medio acondicionado se recogió y se centrifugó a 2000 x g durante 10 minutos a 4°C para eliminar las células y los desechos, y se transfirió a tubos de 50 ml. También se realizó un matraz de control siguiendo el mismo protocolo, pero no se usó ADN (transfección simulada), produciendo medios condicionados de control negativo para experimentos de unión.

Detección de proteínas de fusión

La concentración de cada proteína de fusión c-fms-avidina se determinó usando un ensayo cuantitativo basado en FACS. Las proteínas de fusión c-fms avidina se capturaron en perlas de poliestireno biotina de 6.7 µm (Spherotech, Inc., Libertyville Ill.). Se añadieron medios acondicionados 1X (20 y 200 µl) a 5 µl (-3.5 x 10⁵) perlas, y se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente con rotación. Los medios acondicionados se eliminaron por centrifugación y las muestras se lavaron con PBS que contenía 0.5% de BSA (BPBS). Las perlas de avidina se tiñeron con 200 µl de una solución de 0.5 µg/ml de un anticuerpo anti-avidina marcado con FITC de cabra (Vector Labs, Burlingame, CA) en BPBS durante 45 minutos a temperatura ambiente cubierta con papel de aluminio. Después de la incubación, las perlas se recogieron por centrifugación, se lavaron con BPBS y se resuspendieron para su análisis en 0.5 ml de BPBS. La fluorescencia de FITC se detectó usando un FACScan (Becton Dickinson Bioscience, Franklin Lakes, NJ). La señal se convirtió a masa de proteína usando una curva estándar derivada con rAvidina. Para el mapeo de epítomos, las perlas de biotina se cargaron con ~100 ng de proteína de fusión de avidina c-fms por 3.5x 10⁵ perlas y se elevaron al volumen con medio de crecimiento.

Ensayo FACS de unión de anticuerpo

Se mezclaron perlas de poliestireno revestidas con biotina (Spherotech, Inc.) cargadas con cantidades normalizadas de proteínas de fusión del subdominio C-FMS con 1 µg de anticuerpo monoclonal anti-c-fms conjugado con FITC (1.109, 1.2 y 2.36) en 0.2 ml de BPBS. Después de la incubación durante 1 hora a temperatura ambiente, se añadieron 3 ml de regulador de lavado (BPBS) y los complejos de anticuerpo y perlas se recogieron mediante centrifugación durante 5 minutos a 750x g. El sedimento se lavó en 3 ml de BPBS. El anticuerpo unido a complejos de avidina-perla se detectó por análisis FACS (Becton Dickinson). La intensidad fluorescente media (X) se registró para cada muestra.

Ensayo de competencia de anticuerpos

Para preparar la marcación con fluoresceína, los anticuerpos monoclonales se dializaron o resuspendieron a una concentración de 1 mg/ml en PBS (pH 7.4). Los isómeros mixtos de etiqueta (ácido [6-fluoresceína-5-(γ-6)-carboxamido]hexanoico, éster succinimidílico 5(6)-SFX) de Molecular Probes (F-2181) se añadieron a la proteína a una relación molar de 9.5:1 (etiqueta:proteína) de una solución de reserva de etiquetas de 5 mg/ml en DMSO. La mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora en la oscuridad. El anticuerpo marcado se separó de la etiqueta libre mediante diálisis en PBS. Para cada experimento de competición, se ensambló una reacción de unión que contenía un exceso de 20 veces (20 µg/ml) de anticuerpo competidor no marcado, 3.5x 10⁵ bolas de biotina recubiertas con la proteína de fusión de avidina en BPBS. El anticuerpo marcado con FITC (1 µg/ml) se añadió después de una preincubación de 30 minutos de anticuerpo competidor no marcado. El proceso siguió el método de un color de ahora en adelante.

Todas las proteínas de fusión (Figura 11) expresadas en células 293T se pueden detectar con anticuerpo anti-avidina marcado con FITC mediante FACScan. Para determinar qué dominio similar a Ig de c-fms es el sitio de unión al anticuerpo, se usaron las seis proteínas de fusión en un ensayo de unión. Los clones de anticuerpo 1.109, 1.2 y 2.36 se unen a las proteínas de fusión del subdominio humano c-fms similar a Ig 1, similar a Ig 2, similar a Ig 1-3, similar a Ig 1-4 y similar a Ig 1-5. No se unen a las proteínas de fusión c-fms similares a Ig 1 y 2 de dominio único. Para comparación, ECD de c-fms humano se usa como control positivo (Figuras 11 y 12). Estos resultados indican que los epítomos de estos tres anticuerpos se localizan principalmente en el bucle N-terminal similar a Ig 1 y en el bucle similar a Ig 2 de c-fms humanos, y requieren la presencia tanto del bucle similar a Ig 1 como del similar a Ig regiones de bucle 2. Los resultados también indican que el anticuerpo puede no bloquear directamente el sitio de unión de alta afinidad del ligando que está localizado principalmente en un bucle similar a Ig 3. Puede afectar indirectamente la unión del ligando debido a los bucles similares a Ig 1 y 2, que son regiones críticas para la unión del ligando (Wang, et al., 1993, Molecular Cell Biology 13: 5348-5359).

Entre los tres anticuerpos, el clon 1.109 tiene la señal de unión más alta en comparación con los otros dos anticuerpos en 1 µg/ml. Los datos de competición demostraron que tres de los anticuerpos pueden bloquearse entre sí con un exceso de 20 veces de anticuerpo no marcado (véase, Figuras 13, 14 y 15). Los datos de competición también indican

ES 2 650 224 T3

que el epítipo de estos tres anticuerpos es similar o adyacente dentro de los bucles tipo Ig 1 y 2.

Ejemplo 13: Mapeo de epítopos de anticuerpo anti-c-fms 1.2 SM frente a anticuerpos comerciales

Este experimento se realizó para determinar si algunos de los anticuerpos humanos descritos en este documento se unían al mismo o a un epítipo diferente que una cantidad de anticuerpos comercialmente disponibles.

5 Materiales y métodos: Anticuerpos comerciales C-fms probados

Los anticuerpos de rata y ratón ensayados se muestran en la Tabla 21 y la Tabla 22.

Tabla 21: Anticuerpos de rata

| Fuente | Cat. No. y Clon No. | Designación abreviada | Región de unión por fabricante |
|---------------|----------------------------------|-----------------------|--------------------------------|
| Biosource | Cat. No. AHT1512, clon 2-4A5-2 | 2-4A5-2 | Entre aminoácidos 349-512 |
| US Biological | Cat. No. C2447-53, clon 5J15 | 5J15 | Entre aminoácidos 349-512 |
| US Biological | Cat. No. C2447-50, clon O.N. 178 | 0N178 | No descrito |

Tabla 22: Anticuerpos de ratón

| Fuente | Cat. No. y Clon No. | Designación abreviada | Región de unión por fabrica |
|-------------|------------------------------|-----------------------|--|
| R&D Systems | Cat. No. MAB329, clon 61708 | MAB329 | Dominio extracelular utilizado como inmunógeno |
| R&D Systems | Cat. No. MAB3291, clon 61701 | MAB3291 | Dominio extracelular utilizado como inmunógeno |
| R&D Systems | Cat. No. MAB3292, clon 61715 | MAB3292 | Dominio extracelular utilizado como inmunógeno |

10

Constructos de Fusión C-fms-Avidina y Expresión de Proteínas de Fusión de Avidina

Se prepararon constructos de expresión de fusión c-fms humana de avidina como se describe en el Ejemplo 12. La expresión de proteínas de fusión de avidina se logró por transfección transitoria de células adherentes 293T humanas en placas de cultivo de tejidos de 10 cm. Las células se cultivaron y mantuvieron en DMEM (glucosa alta) que contenía 5% de FBS calificado y suplementado con 1x Pen-strep-glutamina (Invitrogen), 1x aminoácidos no esenciales (Invitrogen) y 1x piruvato de sodio (Invitrogen) (medio de crecimiento), a 37°C y 5% de CO₂. Se inocularon aproximadamente 2,5x10⁶ células 293T en placas de 10 cm que contenían 10 ml de medio de crecimiento y se cultivaron durante la noche durante aproximadamente 20 horas. Las células se transfectaron luego con constructos de pCEP4-Avidina(N)-c-fms. Para cada transfección, se mezclaron 7.5 µg de ADN con 45 µl de FuGene6 (Roche) en presencia de medio DMEM sin complemento (Invitrogen) y el complejo se incubó durante 20 minutos. El complejo de transfección se añadió a la placa correspondiente y se incubó a 37°C durante la noche. A la mañana siguiente, las células se lavaron dos veces con 1X solución tamponada de fosfato de Dulbecco (PBS) (Invitrogen) y se alimentaron con 5 ml de DMEM libre de suero que contenía los suplementos antes mencionados más insulina, transferrina, selenio-X (ITS-X) (Invitrogen). Aproximadamente 48 horas después de la transfección, el medio acondicionado se recogió y se centrifugó a 2000 x g durante 10 minutos a 4°C para eliminar las células y los desechos, y se transfirió a tubos de 15 ml. También se realizó una placa de control siguiendo el mismo protocolo, pero no se usó ADN (transfección simulada), produciendo medios condicionados de control negativo para experimentos de unión.

15

20

25

Detección de proteínas de fusión

La concentración de cada proteína de fusión c-fms-avidina se determinó usando un ensayo cuantitativo basado en FACS. Las proteínas de fusión de avidina se capturaron en perlas de poliestireno de biotina de 6.7 µm (Spherotech, Inc., Libertyville Ill.). Se añadieron medios condicionados 1X (2, 20 y 200 µl) a 5 µl (~3, 5x10⁵) perlas, y se incubaron

30

durante 1 hora a temperatura ambiente con rotación. Los medios acondicionados se eliminaron por centrifugación y las muestras se lavaron con PBS que contenía FBS al 2% (FPBS). Las perlas de avidina se tiñeron con 500 µl de una solución de 1.0 µg/ml de un anticuerpo de cabra anti-avidina marcado con FITC (Vector Labs, Burlingame, CA) en FPBS durante 30 minutos a temperatura ambiente con rotación. Después de la incubación, las perlas se recogieron por centrifugación, se lavaron con SBBS y se resuspendieron para su análisis en 0,5 ml de FPBS. La fluorescencia de FITC se detectó usando un FACScan (Becton Dickinson Bioscience, Franklin Lakes, NJ). La señal se convirtió a masa de proteína usando una curva estándar derivada con rAvidina. Para el mapeo de epítomos, las perlas de biotina se cargaron con -200 ng de proteína de fusión c-fms-avidina por 3.5×10^5 perlas y se elevaron hasta volumen con FPBS.

Ensayo FACS de unión a anticuerpo

Se mezclaron perlas de poliestireno recubiertas con biotina (Spherotech, Inc.) cargadas con cantidades normalizadas de proteínas de fusión del subdominio c-fms con 1 µg de anticuerpo monoclonal anti-c-fms de ratón humano anti-c-fms (1.2) (MAB 329, MAB 3291 y MAB3292 [R&D Systems]) o anticuerpo monoclonal anti-c-fms de rata (2-4A5-2 [Invitrogen], O.N.178 y 5J15 [U.S. Biological]) en 0.2 ml de FPBS. Después de incubación durante 1 hora a temperatura ambiente, los complejos anticuerpo-perla se lavaron tres veces con 1.25 ml de regulador de lavado (FPBS) con recolección por centrifugación durante 1 minuto a $18.000 \times g$ entre lavados. A continuación, los anticuerpos se tiñeron con un anticuerpo secundario de cabra apropiado para especies conjugado con FITC (Southern Biotech) a 1.0 µg/ml durante 30 minutos. Las etapas de lavado se repitieron y los complejos anticuerpo-perla se resuspendieron en 0.5 ml de FPBS para el análisis. El anticuerpo unido a complejos de avidina-perla se detectó por análisis FACS (Becton Dickinson). La intensidad fluorescente media (X) se registró para cada muestra.

Ensayo de competencia de anticuerpos

Para preparar la marcación con fluoresceína, los anticuerpos monoclonales se dializaron o resuspendieron a una concentración de 1 mg/ml en PBS (pH 7.4). Se añadió isómero mixto de etiqueta (ácido [6-fluoresceína-5- (y -6)-carboxamido]hexanoico, éster succinimidílico 5(6)-SFX) de las sondas moleculares (F-2181) a la proteína a una concentración de 10:1 relación molar (marcador:proteína) de una reserva de 10 mg/ml en DMSO. La mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora en la oscuridad. El anticuerpo marcado se separó del marcador libre mediante cromatografía en columna NAP 5 en PBS seguido de filtración de 0.2 µm. Para cada experimento de competición, se dispuso una reacción de unión que contenía un exceso de 25 veces (25 µg/ml) de anticuerpo competidor no marcado, 3.5×10^5 perlas de biotina recubiertas con la proteína de fusión de avidina en FPBS. El anticuerpo marcado con FITC (1 µg/ml) se añadió después de una preincubación de 15 minutos. El proceso siguió el método de un color de este punto en adelante.

Resultados y discusión

Todas las proteínas de fusión expresadas en células 293T se pueden detectar con anticuerpo anti-avidina marcado con FITC mediante FACScan. Como se describe en el Ejemplo 12, varios anticuerpos que se probaron se unen a epítomos similares que requieren la presencia de regiones similares al bucle similar a Ig 1 y bucle similar a Ig 2 encontradas en la construcción de fusión de avidina Ig1-2. Consecuentemente, se realizaron experimentos de unión y competición con uno de los anticuerpos humanos proporcionados en el presente documento, los anticuerpos anti-c-fms humanos disponibles comercialmente y los miembros seleccionados del panel de constructos de fusión de avidina.

Todos los anticuerpos comerciales pudieron unirse con éxito al constructo ECD Ig1-5 de c-fms de longitud completa como se esperaba. De los seis anticuerpos comerciales, uno (MAB 3291) fue capaz de unirse al constructo Igl-2, lo que indica un posible competidor para los epítomos anti-c-fms humanos. Se realizaron experimentos de unión adicionales usando la construcción Ig1. Se demostró que MAB3291 se une al constructo de Ig1, lo que indica que su epítomo estaba ubicado completamente dentro del dominio de tipo Igl. Se confirmó que la ligera señal observada para MAB329 en los constructos Ig1 e Igl-2 es la unión de fondo del anticuerpo a las perlas.

Los datos de competición demostraron que ninguno de los anticuerpos de origen comercial puede bloquear el anticuerpo humano representativo incluso en un exceso de 25 veces del anticuerpo competidor.

Los datos combinados de los experimentos de unión y competición demuestran que los anticuerpos comerciales se unen a epítomos que no son utilizados por los anticuerpos anti-c-fms humanos.

Ejemplo 14: Mapeo de epítomos de anticuerpos anti C-fms mediante barrido con arginina/ácido glutámico de c-fms

Se usó una estrategia de barrido de arginina/ácido glutámico para mapear la unión del anticuerpo a c-fms. Las cadenas laterales de arginina y ácido glutámico están cargadas y son voluminosas, y pueden alterar la unión del anticuerpo a c-fms. Este método puede indicar residuos que cuando se mutan afectan negativamente la unión de la proteína de unión al antígeno a c-fms. Esto indica que los residuos correspondientes en la proteína de unión al antígeno no mutada pueden estar en contacto con la proteína de unión al antígeno o muy cerca del anticuerpo, de modo que la sustitución con arginina o ácido glutámico es suficiente para afectar la unión.

Construcción, expresión y caracterización de mutantes de arginina/ácido glutámico

Se seleccionaron noventa y cinco aminoácidos distribuidos a lo largo de los primeros tres dominios de Ig de c-fms para la mutación. La selección fue sesgada hacia aminoácidos cargados o polares, excluyendo cisteína y prolina con el fin de reducir la probabilidad de que la mutación produzca una proteína mal plegada. Los aminoácidos no arginina se mutaron a arginina; la arginina y la lisina se mutaron a ácido glutámico.

5 Los oligonucleótidos sentido y antisentido que contienen los residuos mutados se sintetizaron en un formato de 96 pozos. La mutagénesis del constructo marcado con el marcador del dominio extracelular c-fms-Flag-His ("tipo salvaje") se realizó usando un kit Quikchange II (Stratagene, # 200523). Todos los constructos mutantes de c-fms marcado con Flag-His en el vector pTT5, se expresaron en células en suspensión 293-6E transfectadas transitoriamente (NRCC) en placas de 96 pozos. Los niveles de expresión y la integridad de la proteína recombinante en medios acondicionados se caracterizaron mediante transferencia Western contra la etiqueta His seguida de un anticuerpo anti-isotipo Alexa-fluor. Los experimentos subsiguientes de mapeo de epítomos se realizaron utilizando proteína en medios acondicionados.

15 La expresión mutante se caracterizó por la operación de sobrenadantes de cada pozo en un aparato de electroforesis ePage SDS-PAGE (Invitrogen), transferencia y sondeo con un anticuerpo anti-His (Novagen) seguido de un anticuerpo anti-isotipo Alexa-fluor. Cada construcción mutante fue expresada.

Determinación de epítomos conformacionales

20 Para determinar si los anticuerpos anti-c-fms se unen a un epítopo conformacional en c-fms, tres anticuerpos anti-c-fms (1.2 SM, 1.109 SM y 2.360) y c-fms se corrieron individualmente en transferencias Western bajo reducción y condiciones no reductoras. Se demostró que los anticuerpos 1.2 SM y 2.360 se unen a un epítopo conformacional como se evidencia por la falta de bandas en transferencias Western en condiciones reductoras, mientras que se observó una banda ligera con el anticuerpo 1.109 SM, lo que indica que puede unirse a un epítopo lineal.

Ensayo de unión BioPlex

25 Se usó un ensayo multiplexado basado en perlas para medir la unión del anticuerpo a los mutantes de 95 c-fms, tipo salvaje, y un control negativo simultáneamente. Se unieron cien conjuntos de perlas de LumAvidina recubiertas con estreptavidina codificadas por colores (Luminex) con anticuerpo anti-pentaHis biotinilado (Qiagen, #1019225) durante 1 hora a temperatura ambiente (RT) y luego se lavaron. A continuación, se permitió que cada conjunto de perlas codificadas por colores se uniera a un mutante c-fms, tipo silvestre o control negativo en 100 µl de sobrenadante durante 1 hora a temperatura ambiente y se lavó.

30 Se combinaron los conjuntos de perlas codificadas por colores, cada uno asociado a una proteína específica. Las perlas reunidas se dividieron en alícuotas en 96 pozos de una placa de filtro de 96 pozos (Millipore, #MSBVN1250). Se añadieron 100 µl de anticuerpos anti-c-fms (1.2 SM, 1.109 SM y 2.360) en diluciones 3 veces a tres columnas por puntos triplicados y se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente y se lavaron. Se añadieron 100 µl de Fc de IgG antihumano conjugado con ficoeritrina (PE) a 1:200 (Jackson Immunoresearch, #109-116-170) a cada pozo y se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente y se lavaron.

35 Las perlas se resuspendieron en BSA al 1% en PBS, se agitaron durante 10 minutos y se leyeron en el instrumento BioPlex (Bio-Rad). El instrumento identificó cada perla por su código de color y midió la cantidad de anticuerpo unido a las perlas de acuerdo con la intensidad fluorescente del colorante PE. La unión del anticuerpo a cada mutante se comparó directamente con su unión al tipo silvestre en el mismo grupo.

Identificación de la unión del anticuerpo a c-fms mutantes

40 La variabilidad del sistema de ensayo y la importancia de los cambios en la unión se determinaron empíricamente. La variabilidad de perla a perla y de pozo a pozo se determinó experimentalmente uniendo c-fms de tipo silvestre a todos los 100 conjuntos de perlas codificadas por colores. Se dispensaron perlas a cada pozo de una placa de 96 pozos y se sondearon con anticuerpo anti-c-fms 1.2 SM en diluciones de 3 veces por cada columna de la placa, a través de las 12 columnas de la placa. EC50 se obtuvieron utilizando ajustes de curvas para medir la variabilidad de las señales máximas, las señales mínimas y la pendiente. Las mediciones de variabilidad se usaron para determinar si un cambio de magnitud en EC50 era significativo.

50 La intensidad de fluorescencia media (MFI) de la unión del anticuerpo se graficó utilizando un ajuste de curva logística de 4 parámetros ponderado (4PL con VarPower en Splus). La variabilidad experimental se determinó usando tres controles de tipo salvaje en cada conjunto. La unión del anticuerpo al antígeno mutante se comparó con cada control de tipo salvaje. Se calculó un intervalo de confianza (IC) del 99% del cambio de EC50 veces entre el mutante y cada control de tipo salvaje y se informó la comparación con el control de tipo salvaje que proporcionaba el mayor valor de p. Se aplicó el ajuste de multiplicidad utilizando el control de Tasa de descubrimiento falso (FDR) de Benjamini-Hochberg. Las mutaciones cuyo 99% CI de EC50 es significativamente diferente de EC50 de tipo silvestre, que tiene un valor de p ajustado de FDR de 0.02 o menos, se consideraron importantes en la reacción de unión específica entre el antígeno de proteína y la proteína de unión al antígeno. Además, se consideró que las mutaciones que reducían la unión según se evidenciaba por una reducción en la señal de MFI máxima a 30% o menos de tipo silvestre influían significativamente en la unión entre el antígeno de proteína y la proteína de unión a antígeno. La Tabla 23 resume los

"aciertos" o la posición de las mutaciones que reducen significativamente la capacidad de los anticuerpos 1.2 SM, 1.109 y 2.36 para unirse al dominio extracelular de las c-fms humanas. La notación utilizada en la Tabla 23 es: (residuo de tipo salvaje: posición en el polipéptido: residuo mutante), donde la numeración es como se muestra en la SEQ ID NO: 1.

5 TABLA 23: Resumen de mutaciones que afectan la unión del anticuerpo.

| | | |
|------------|--------------------|---|
| Anticuerpo | | Aciertos |
| 1.2 SM | | E29R, Q121R, T152R, K185E |
| 1.109 | | E29R, Q121R, S172R, G274R, Y276R |
| 2.36 | | R106E, H151R, T152R, Y154R, S155R, W159R, Q171R, S172R, Q173R, G183R, R184E, K185E, E218R, A220R, S228R, H239R, N240R, K259E, G274R, N275R, Y276R, S277R, N282R |
| TODAS | Desviación EC50 | K102E, R144E, R146E, D174R, A226R |
| | bajo/ningún enlace | W50R, A74R, Y100R, D122R, T130R, G161R, Y175R, A179R |

Debido a que la unión de al menos un anticuerpo se mantiene en presencia de las mutaciones particulares mostradas en la Tabla 23, es poco probable que las proteínas mutantes se pleguen erróneamente o se agreguen debido a la mutación introducida. Esto también es cierto para aquellas mutaciones que causaron un desplazamiento de EC50 para todos los anticuerpos ya que los anticuerpos todavía son capaces de unirse al antígeno. Aunque cada uno de los anticuerpos ensayados se une a una región similar a la mostrada por el análisis de agrupamiento, cada anticuerpo puede distinguirse por las mutaciones que inhiben la unión del anticuerpo al antígeno mutante. Que algunas de las mutaciones afecten a múltiples anticuerpos es consistente con el hecho de que los anticuerpos pertenecen a contenedores similares.

15 Ejemplo 15: Inhibición del crecimiento del xenoinjerto de adenocarcinoma de mama MDAMB231

Debido a que las proteínas de unión a antígeno proporcionadas en este documento se unen a c-fms humanas pero no a c-fms de ratón, se realizó una serie de experimentos *in vivo* con un anticuerpo que se une a c-fms murinas para demostrar la utilidad de un anticuerpo anti-cfms para tratar el cáncer

Se implantaron ratones atómicos por vía subcutánea con 10 millones de células de adenocarcinoma de mama humano MDAMB231 en presencia de Matrigel (1:1). Comenzando al cabo de un día de la implantación de la célula tumoral, a los ratones se les inyectaron intraperitonealmente 400 µg de anticuerpo c-fms murino o 400 µg de IgG antirratón de rata de control en 100 µl de PBS 3 veces por semana durante la duración del estudio. Las mediciones del tumor y los días de tratamiento se muestran en la Figura 16. Después de 51 días, se sacrificaron los ratones y se recolectaron los tumores y se fijaron con formalina. Se evaluaron las secciones teñidas con H&E y las secciones de inmunohistoquímica dirigida F4/80 (marcador de macrófagos). Todos los puntajes se hicieron ciegos al tratamiento y al grupo. Las secciones de ratones tratados con anticuerpo anti-c-fms murino mostraron significativamente menos tinción que los ratones tratados con el control, lo que indica una reducción significativa en el número de macrófagos asociados a tumores. Para evaluar de forma más objetiva la extensión de la necrosis, se capturaron imágenes digitales de secciones teñidas con AFOG usando el software Metavue, se midieron el área transversal completa y el área de sección transversal necrótica de los tumores. El porcentaje de necrosis de cada tumor se calculó a partir de estas mediciones y se muestra en la Figura 16. Estos resultados demuestran que un anticuerpo anti-c-fms puede disminuir los macrófagos asociados a tumores, aumentar la necrosis e inhibir el crecimiento de xenoinjertos de adenocarcinoma de mama MDAMB231.

Ejemplo 16: inhibición del crecimiento del xenoinjerto de adenocarcinoma pulmonar NCIH1975 establecido

Se implantaron a ratones atómicos desnudos, por vía subcutánea, 10 millones de células de adenocarcinoma de pulmón humano NCIH1975 en presencia de Matrigel (1:1). Después de permitir que los tumores crecieran a 250-300 mm³, a los ratones se les inyectaron intraperitonealmente 400 µg de anticuerpo c-fms murino o 400 µg de IgG anti ratón de rata en 100 µl de PBS 3 veces por semana durante todo el tiempo del estudio. Un tercer grupo de ratones se trató con 30 mg/kg de Taxotere (control positivo) una vez por semana. Las mediciones de los tumores y los días de tratamiento se muestran en la Figura 17, que muestra que un anticuerpo anti-cfms puede inhibir el crecimiento de un

xenoinjerto de adenocarcinoma de pulmón NCIH1975 establecido.

Los modelos tumorales anteriores demuestran la utilidad de un anticuerpo anti-cfms que inhibe la actividad del eje CSF-1/cfms, tal como los descritos en este documento, para uso en el tratamiento del cáncer. La capacidad de tales anticuerpos para disminuir los macrófagos infiltrantes en el tejido enfermo significa que los anticuerpos también se pueden usar en enfermedades metabólicas e inflamatorias.

Ejemplo 17: Modulación de la interacción CSF-1/CSF-1R para controlar la angiogénesis

Para probar si el reclutamiento, diferenciación y estimulación de macrófagos mediados por CSF-1 puede participar en la promoción de la angiogénesis en tumores u otros tejidos normales, se evaluaron los efectos de dos anticuerpos monoclonales de CSF-1R antimurina de rata neutralizantes diferentes (M279 se generó internamente; el otro, FS98, se obtuvo de Ebiosciences), sobre la angiogénesis corneal de ratón *in vivo*. El día cinco después de una sola dosis sistémica de mAb de control, M279 o AFS98, se midieron y analizaron los siguientes parámetros: 1) densidad vascular asociada con la respuesta de angiogénesis corneal de ratón, 2) niveles circulantes de CSF-1 de ratón y 3) niveles de infiltración de macrófagos en la córnea y otros tejidos.

Ensayo de bolsillo corneal de ratón

Una esponja PVA de 4 mm (M-PACT Worldwide, Eudora, KS) se cortó con precisión en dos piezas iguales y se sumergió en 8 µl de PBS que contenía 2.4 µg de FGF-2 humano recombinante o 48 µg de VEGF humano recombinante (R&D Systems, Minneapolis, MN). La esponja se procesó asépticamente adicionalmente en 48 fragmentos de miniesponja de tamaño similar (gránulos) adecuados para implantación de cavidades corneales. Cada fragmento de esponja contenía aproximadamente 50 ng de FGF-2 humano recombinante o 1 µg de VEGF humano recombinante. Ratones hembra C57 BL/6 (7-10 semanas de edad) se anestesiaron usando anestesia sistémica y se prepararon los ojos para la incisión corneal colocando una sola gota de anestésico tópico de proparacaína en cada ojo. Se creó una pequeña hendidura en el centro de la córnea y se creó una abertura ("bolsillo") en el estroma corneal que siguió la curvatura del ojo, aproximadamente a 1 mm del limbo. Se colocaron pellas que contenían PBS, VEGF o FGF-2 en las bolsas de la córnea y los animales tratados con IgG de rata (Sigma, St. Louis, MO) IP a una dosis de 250 µg en 200 µl de PBS libre de pirógenos o con 250 µg de CSF-1R de rata antirratón purificada. El día 5 después de la implantación del sedimento, los ratones se anestesiaron con anestesia sistémica y cada ojo (córnea) fue fotografiado bajo un estereomicroscopio equipado con una cámara digital Insight Spot equipada con un iluminador casi vertical en un ángulo incipiente de 45 grados desde el eje polar en el meridiano que contenía la pella. Estas imágenes digitales adquiridas se procesaron mediante filtros de color sustractivos (Adobe Photoshop) y se analizaron utilizando el software de análisis de imágenes Bioquant (Nashville, TN) para determinar la fracción de píxeles dentro de la densidad total del perímetro corneal que excedía un umbral que coincidía con los capilares visibles. La densidad vascular total de la córnea se determinó usando la fracción de píxeles, cuyo resultado se expresó como una relación entre el número de píxeles del área de los vasos sanguíneos y el número de píxeles del área total del ojo.

ELISA de CSF-1 de ratón

Se determinaron los niveles séricos de CSF-1 de ratón como un biomarcador de la actividad del anticuerpo anti CSF-1R usando el sistema ELISA de anticuerpo DUOSET (R&D Systems) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Inmunolocalización de macrófagos y vasos sanguíneos en hígado y tejidos corneales de ratones

Para determinar los efectos de los anticuerpos anti-CSF-1R antirratón sobre los niveles de macrófagos y vasos sanguíneos en el tejido, se usó la F4/80 antirratón de rata (una glucoproteína de superficie celular restringida a macrófagos), conjugada con Alexa 488, clon BM8 (1:1000) para detectar macrófagos tisulares. Se usó CD31, PECAM-1 IgG2a antirratón de rata, conjugado con PE, clon 390 (uso de 1 µg/ml) para detectar células endoteliales. Después de que el tejido fue recolectado, se congeló en OCT para su posterior procesamiento. Se fijaron secciones de 5 micras de hígado o córnea con acetona fría durante 15 minutos a temperatura ambiente y luego se lavaron dos veces con PBS. Después del lavado, las secciones se incubaron en solución de bloqueo (BS) durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se añadieron F4/80-488 y CD31-PE a las concentraciones anteriores en BS y se incubaron secciones durante 30 minutos a temperatura ambiente seguido de lavado dos veces con PBS. Las secciones se montaron en medios de montaje y se adquirieron las imágenes fluorescentes con el sistema Leica-Hamamatsu-Openlab.

Resultados y Conclusión:

Los anticuerpos neutralizantes anti-muCSF-1R de rata, M279 y AFS98, inhibieron significativamente la angiogénesis de la córnea de ratón inducida por FGF-2, pero no la inducida por VEGF en aproximadamente 80% ($P < 0.01$). Una sola dosis de 250 µg de M279 o AFS98 aumentó significativamente los niveles séricos de muCSF-1 en comparación con los niveles observados en ratones tratados con IgG de rata (aumento de 45-83 veces). La tinción/localización por inmunofluorescencia (IMF) da como resultado secciones de córnea de ratón que mostraron que la implantación de gránulos de FGF-2 y VEGF aumenta la infiltración de macrófagos en la córnea en comparación con la implantación quirúrgica/de pellas de PBS solos. El tratamiento con M279 disminuyó de manera importante la infiltración de macrófagos corneales inducida por estímulo (tanto FGF-2 como VEGF) en comparación con el tratamiento de IgG de rata de control en aproximadamente 85 a 96 por ciento. Los resultados del FMI en secciones de hígado de ratón

también mostraron que el único tratamiento con M279 o AFS98 disminuyó significativamente el número de macrófagos positivos para F4/80 en aproximadamente 60% en el hígado de ratón sin alterar apreciablemente la densidad vascular evaluada por CD31 IMF ($P < 0.01$). Los macrófagos siguen la red de vasos sanguíneos pero, en general, no se colocalizan con microvasos en la córnea del ratón vascularizada.

- 5 Al evaluar ambos estímulos angiogénicos (FGF-2 y VEGF), el bloqueo de la interacción CSF-1/CSF-1R disminuyó la infiltración de macrófagos al tejido mientras que solo inhibía la angiogénesis de FGF-2 basándose en la formación de imágenes de la densidad de los vasos corneales. En base a estos resultados, parece que el entorno inflamatorio determina cuándo los macrófagos tisulares sensibles a CSF-1 pueden facilitar/promover la angiogénesis, mientras que al mismo tiempo ilustra que los macrófagos tisulares en los sitios inflamatorios múltiples requieren una interacción
- 10 CSF-1/CSF-1R constante para mantener su presencia en la lesión inflamatoria. Los resultados indican que en casos donde la angiogénesis inflamatoria es impulsada principalmente por FGF-2 que inhibir la interacción CSF-1/CSF-1R puede ser beneficioso para disminuir la formación de nuevos vasos sanguíneos, especialmente en tumores donde los niveles de VEGF no son altos pero la densidad vascular tumoral lo es.

Ejemplo 18: Estudios de toxicología en monos *Cynomolgus*

- 15 Se administró a monos *Cynomolgus* el anticuerpo 1.2 SM y se midieron los marcadores farmacodinámicos. La cohorte utilizada para estudiar los efectos de una proteína de unión al antígeno c-fms se muestra en la Tabla 24. Se administró anticuerpo 1.2 SM semanalmente mediante inyección intravenosa a monos *Cynomolgus* durante 4 semanas seguido de un período de recuperación de 11 semanas, con necropsia terminal en el día 29 y necropsia de recuperación a los
- 20 3 meses. Se midieron los marcadores farmacodinámicos, incluidos los niveles séricos de CSF-1, las concentraciones de fosfatasa ácida resistente a tartrato 5b (Trap5b) y la cantidad de macrófagos de colon. Como se describe en mayor detalle a continuación, la medición de cada uno de estos marcadores demostró la capacidad del anticuerpo para unir c-fms e inhibir el eje c-fms/CSF-1. El nivel de los marcadores también se correlaciona con el nivel de anticuerpos en la sangre.

Tabla 24: Cohorte para estudio de toxicología

| Grupo | Dosis (mg/kg) | No. Machos/Hembras | No. M/F Necropsia Terminal | No. M/F Necropsia de recuperación |
|-------|---------------|--------------------|----------------------------|-----------------------------------|
| 1 | 0 | 5/5 | 3/3 | 2/2 |
| 2 | 20 | 5/5 | 3/3 | 2/2 |
| 3 | 100 | 5/5 | 3/3 | 2/2 |
| 4 | 300 | 5/5 | 3/3 | 2/2 |

25

Respuesta de los niveles séricos de CSF-1 al tratamiento con anticuerpo 1.2 SM

- Los niveles séricos de CSF-1 proporcionan un biomarcador para la presencia y actividad del anticuerpo anti-c-fms. Esto se evidencia por la degradación selectiva por macrófagos de CSF-1 marcado con ¹²⁵I en ratones (Tushinski RJ et al., Cell (1982) 28: 71-81); por las observaciones de que CSF-1 está elevado en suero de los ratones mutados de c-fms (Dai XM et al., Blood (2002) 99: 111-120); y por las demostraciones de que los niveles séricos de CSF-1 son elevados en ratones tratados con un anticuerpo c-fms antirratón.
- 30

- Se determinaron las concentraciones relativas de CSF-1 de *cynomolgus* para las muestras de suero recolectadas a - 7, 8, 29, 57, 85 y 99 días. Las muestras se analizaron usando un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) siguiendo el protocolo proporcionado por el fabricante del ensayo (R&D Systems Human CSF-1 DuoSet ELISA kit, Minneapolis, MN). Las concentraciones de CSF-1 de *cynomolgus* se determinaron por comparación con una curva estándar de CSF-1 humana.
- 35

- Para medir la concentración de anticuerpo sérico 1.2 SM, se adsorbió pasivamente un anticuerpo anti-1.2 SM de ratón a pozos de microplaca Maxisorp (Nunc). Los pozos de la microplaca se bloquearon con SuperBlock®T20 (Pierce, Rockford, IL) después de eliminar el exceso de anticuerpo anti-1.2 SM de ratón. Los estándares y los controles de calidad (QCs) se prepararon añadiendo anticuerpo 1.2 SM en un conjunto de suero de mono *Cynomolgus* al 100%. Los pozos de la microplaca se lavaron después del bloqueo. Los estándares, matriz en blanco (NSB), QC y muestras de estudio se descongelaron a temperatura ambiente y luego se cargaron en los pozos de la microplaca después de pretratar 1/50 con SuperBlock®T20. El anticuerpo 1.2 SM en las muestras fue capturado por el anticuerpo inmovilizado de ratón anti-1.2 SM. El anticuerpo no unido 1.2 SM se eliminó lavando los pozos de la microplaca. Después del lavado, se añadió un segundo anticuerpo anti-1.2 SM de ratón conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP) a los pozos de la microplaca para unirse al anticuerpo capturado 1.2 SM. El anticuerpo conjugado con HRP no unido se
- 40
- 45

eliminó mediante lavado. Se añadió una solución de sustrato de 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) de 2 componentes a los pozos. La solución de sustrato de TMB reaccionó con peróxido, y en presencia de HRP creó una señal colorimétrica que era proporcional a la cantidad de anticuerpo 1.2 SM unido por el reactivo de captura en la etapa inicial. El desarrollo del color se detuvo y la intensidad del color (densidad óptica, OD) se midió a 450 nm a 650 nm. Los datos se redujeron utilizando el paquete de reducción Watson versión 7.0.0.01 utilizando un modelo de regresión Logístico (autoestimado) (4 parámetros logísticos; 4-PL) con un factor de ponderación de 1/Y.

El tratamiento de monos con anticuerpo 1.2 SM dio como resultado un aumento significativo en los niveles séricos de CSF-1 y esto se correlacionó con la concentración sérica de anticuerpos. Por lo tanto, se encontró que los niveles séricos de CSF-1 aumentaban después de la administración del anticuerpo y su acumulación en el suero y luego disminuían después de que se completaba la administración y disminuían los niveles de anticuerpos séricos. Estas observaciones son consistentes con el anticuerpo que actúa en el eje c-fms/CSF-1.

Respuesta de los niveles de Trap5b al tratamiento con anticuerpo 1.2 SM

Los niveles de Trap5b proporcionan un marcador para anticuerpos anti-c-fms. Trap5b se expresa específicamente por los osteoclastos y es un indicador del número de osteoclastos. Los osteoclastos, que se derivan del linaje mieloide de células hematopoyéticas expresan c-fms y utilizan CSF-1. De acuerdo con esto, es la observación de que la pérdida de CSF-1 da como resultado una disminución de los osteoblastos y los niveles de Trap5b en ratones mutados CSF-1 (Dai XM et al., Blood (2002) 99: 111-120).

El ensayo BoneTRAP® (Immunodiagnostic Systems Limited, Fountain Hills, AZ) se usó para cuantificar TRAP5b en sujetos. Las concentraciones en suero de anticuerpo 1.2 SM se determinaron como se describió anteriormente. Se determinaron los niveles de TRAP5b y anticuerpo 1.2 SM en el suero para las muestras de suero recolectadas a -7, 8, 29, 57, 85 y 99 días.

En el día 29 de la fase de dosificación, todos los sujetos tratados con anticuerpo 1.2 SM tenían una Trap5b disminuida. Después del tratamiento con anticuerpo 1.2 SM, las concentraciones séricas de Trap5b aumentaron a medida que disminuyeron las concentraciones séricas de anticuerpos. El tratamiento con anticuerpo 1.2 SM se correlacionó con una concentración sérica disminuida de Trap5b.

Respuesta de macrófagos al tratamiento con anticuerpo 1.2 SM

Como indicador adicional de la actividad del anticuerpo 1.2 SM en monos Cynomolgus, se cuantificó el número de macrófagos presentes en el tejido del colon mediante citometría de barrido con láser (LSC) de tejido teñido con CD-68. Se recogieron muestras de colon de 3 animales/sexo/grupo el día 29 necropsia y 2 animales/sexo/grupo en la necropsia del día 100. Se recogió una muestra de cada tejido en medio OCT (temperatura óptima de corte) (Sakura Finetek, Torrance, California) y se congeló en un baño de hielo seco/butano. Los macrófagos se tiñeron usando inmunohistoquímica convencional con anti-CD68 o un anticuerpo de isotipo. Los eventos positivos de diaminobenzidina (DAB) se enumeraron usando citometría de barrido láser (LSC). Se utilizó un método de escaneo 2 en el que la absorción de la luz láser se cuantificó mediante el detector de fotodiodos por encima del escenario. El primer pase de baja resolución identificó la posición de la sección en la sección y las posteriores imágenes de campo de paso de alta resolución adquiridas. El análisis cuantitativo de la tinción de DAB se realizó usando el software iCyte asociado a LSC.

La Tabla 25 resume los cambios en el número de macrófagos de colon inmediatamente después del tratamiento (Día 29) y después de un período de recuperación en el que ya no se administró el anticuerpo 1.2 SM (Día 99). Como puede verse a partir de esta tabla, la administración de anticuerpo 1.2 SM redujo el número de macrófagos de colonias, mientras que el número de macrófagos aumentó después de que se interrumpió el tratamiento, demostrando así la actividad del anticuerpo.

Tabla 25: Efecto de Anticuerpo 1.2 SM en la población de macrófagos

| ANOVA | | | Comparación de grupo | | | |
|-------|--------|---------|----------------------|-----------------|---------------------------|------------------------|
| Día | Efecto | valor p | Dosis (mg/kg) | Media del grupo | %disminución(vs. Control) | valores p(vs. Control) |
| 29 | género | 0.4461 | 0 | 11.05 | | |
| | dosis | 0.0005 | 20 | 1.75 | 84.16% | 0.0013 |
| | | | 100 | 2.36 | 78.64% | 0.0037 |

ES 2 650 224 T3

| ANOVA | | | Comparación de grupo | | | |
|-------|--------|---------|----------------------|-----------------|---------------------------|------------------------|
| Día | Efecto | valor p | Dosis (mg/kg) | Media del grupo | %disminución(vs. Control) | valores p(vs. Control) |
| | | | 300 | 1.94 | 82.44% | 0.0003 |
| 99 | género | 0.8172 | 0 | 10.62 | | |
| | dosis | 0.1043 | 20 | 12.12 | -14.12% | 0.9953 |
| | | | 100 | 9.23 | 13.09% | 0.8493 |
| | | | 300 | 2.67 | 74.86% | 0.0975 |

Ejemplo 19: Tratamiento de un tumor en un paciente usando una proteína de unión c-fms

5 Un paciente humano es diagnosticado con un tumor maligno. El paciente se trata con una cantidad efectiva de una proteína de unión c-fms descrita en este documento. Después de la administración de la proteína de unión c-fms, se mide el tamaño y/o la actividad metabólica del tumor (por ejemplo, mediante escáneres de MRI o PET). Se encuentran reducciones significativas en el tamaño y/o la actividad metabólica u otros indicadores de crecimiento tumoral, viabilidad, metástasis en respuesta a la administración de la proteína de unión c-fms.

Ejemplo 20: Reducción de TAM en un paciente con un tumor maligno usando una proteína de unión c-fms

10 Un paciente humano es diagnosticado con un tumor maligno. El paciente se trata con una cantidad efectiva de una proteína de unión c-fms descrita en este documento. Después de la administración de la proteína de unión c-fms, se mide el número de TAM. Se encuentran reducciones significativas en el número de TAM en respuesta a la administración de la proteína de unión c-fms.

Ejemplo 21: Tratamiento de caquexia usando una proteína de unión c-fms

15 Un paciente humano es diagnosticado con cáncer. El paciente se trata con una cantidad efectiva de una proteína de unión c-fms descrita en este documento. Después de la administración de la proteína de unión c-fms, se evalúa el nivel de caquexia. Se encuentra una reducción significativa en el nivel de caquexia en respuesta a la administración de la proteína de unión c-fms.

Ejemplo 22: Reducción de la vascularización usando una proteína de unión c-fms

20 Un paciente humano es diagnosticado con un tumor maligno. El paciente se trata con una cantidad efectiva de una proteína de unión c-fms descrita en este documento. Después de la administración de la proteína de unión c-fms, se toma una biopsia del tumor y se evalúa el nivel de vascularización. Se encuentra una reducción significativa en el nivel y/o función de la vascularización del tumor en respuesta a la administración de la proteína de unión a c-fms.

Ejemplo 23: Tratamiento de artritis inflamatoria usando una proteína de unión c-fms

25 Un paciente humano es diagnosticado con artritis inflamatoria. El paciente se trata con una cantidad efectiva de una proteína de unión c-fms descrita en este documento. Después de la administración de la proteína de unión c-fms, se evalúa el nivel de inflamación y/o densidad ósea. Se encuentra una reducción significativa en el nivel de inflamación y/o osteólisis ósea en respuesta a la administración de la proteína de unión a c-fms.

30 Todas las afirmaciones en cuanto a la fecha o representaciones en cuanto al contenido de patentes y otras publicaciones identificadas en este documento se basan en la información disponible para los solicitantes y no constituye ninguna admisión en cuanto a la exactitud de las fechas o el contenido de estos documentos.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Amgen, Inc. Kenneth Allan Brasel James F. Smothers Douglas Pat Cerretti Christopher Mehlin Jilin Sun Stephen Foster

<120> PROTEÍNAS DE UNIÓN AL ANTIGENO C-FMS HUMANO

35 <130> APMOL.007VPC

ES 2 650 224 T3

<150> 60/957,148

<151> 2007-08-21

<150> 61/084,588

<151> 2008-07-29

5 <160> 326

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 512

<212> PRT

10 <213> Homo Sapiens

<400> 1

```

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

```

ES 2 650 224 T3

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 210 | | | | | | 215 | | | | | | | | | | 220 |
| Ser | Ala | Ser | Ser | Val | Asp | Val | Asn | Phe | Asp | Val | Phe | Leu | Gln | His | Asn | |
| 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 | |
| Asn | Thr | Lys | Leu | Ala | Ile | Pro | Gln | Gln | Ser | Asp | Phe | His | Asn | Asn | Arg | |
| | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | | |
| Tyr | Gln | Lys | Val | Leu | Thr | Leu | Asn | Leu | Asp | Gln | Val | Asp | Phe | Gln | His | |
| | | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | | |
| Ala | Gly | Asn | Tyr | Ser | Cys | Val | Ala | Ser | Asn | Val | Gln | Gly | Lys | His | Ser | |
| | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | | |
| Thr | Ser | Met | Phe | Phe | Arg | Val | Val | Glu | Ser | Ala | Tyr | Leu | Asn | Leu | Ser | |
| | 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | | | | | |
| Ser | Glu | Gln | Asn | Leu | Ile | Gln | Glu | Val | Thr | Val | Gly | Glu | Gly | Leu | Asn | |
| 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 | |
| Leu | Lys | Val | Met | Val | Glu | Ala | Tyr | Pro | Gly | Leu | Gln | Gly | Phe | Asn | Trp | |
| | | | 325 | | | | | | 330 | | | | | 335 | | |
| Thr | Tyr | Leu | Gly | Pro | Phe | Ser | Asp | His | Gln | Pro | Glu | Pro | Lys | Leu | Ala | |
| | | | 340 | | | | 345 | | | | | | 350 | | | |
| Asn | Ala | Thr | Thr | Lys | Asp | Thr | Tyr | Arg | His | Thr | Phe | Thr | Leu | Ser | Leu | |
| | | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | | |
| Pro | Arg | Leu | Lys | Pro | Ser | Glu | Ala | Gly | Arg | Tyr | Ser | Phe | Leu | Ala | Arg | |
| | 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | | | | | |
| Asn | Pro | Gly | Gly | Trp | Arg | Ala | Leu | Thr | Phe | Glu | Leu | Thr | Leu | Arg | Tyr | |
| 385 | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 | |
| Pro | Pro | Glu | Val | Ser | Val | Ile | Trp | Thr | Phe | Ile | Asn | Gly | Ser | Gly | Thr | |
| | | | | 405 | | | | | 410 | | | | | 415 | | |
| Leu | Leu | Cys | Ala | Ala | Ser | Gly | Tyr | Pro | Gln | Pro | Asn | Val | Thr | Trp | Leu | |
| | | | 420 | | | | | 425 | | | | | 430 | | | |
| Gln | Cys | Ser | Gly | His | Thr | Asp | Arg | Cys | Asp | Glu | Ala | Gln | Val | Leu | Gln | |
| | 435 | | | | | 440 | | | | | | 445 | | | | |
| Val | Trp | Asp | Asp | Pro | Tyr | Pro | Glu | Val | Leu | Ser | Gln | Glu | Pro | Phe | His | |
| | 450 | | | | | 455 | | | | | 460 | | | | | |
| Lys | Val | Thr | Val | Gln | Ser | Leu | Leu | Thr | Val | Glu | Thr | Leu | Glu | His | Asn | |
| 465 | | | | | 470 | | | | | 475 | | | | 480 | | |
| Gln | Thr | Tyr | Glu | Cys | Arg | Ala | His | Asn | Ser | Val | Gly | Ser | Gly | Ser | Trp | |
| | | | | 485 | | | | | 490 | | | | | 495 | | |
| Ala | Phe | Ile | Pro | Ile | Ser | Ala | Gly | Ala | His | Thr | His | Pro | Pro | Asp | Glu | |
| | | | 500 | | | | | 505 | | | | | | 510 | | |

<210> 2

<211> 326

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 2

ES 2 650 224 T3

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

<210> 3

5 <211> 107

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 3

ES 2 650 224 T3

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

<210> 4

<211> 451

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 4

ES 2 650 224 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 Thr Ala Tyr
 20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

ES 2 650 224 T3

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

ES 2 650 224 T3

<210> 5

<211> 447

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

5 <400> 5

ES 2 650 224 T3

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

<210> 6

<211> 452

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 6

ES 2 650 224 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 Thr Gly Tyr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Arg Gly Gln Leu Trp Leu Trp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
 100 105 110
 Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 115 120 125
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
 130 135 140
 Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 145 150 155 160
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 165 170 175
 His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
 180 185 190
 Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr
 195 200 205
 Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val
 210 215 220
 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
 225 230 235 240
 Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
 290 295 300
 Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro
 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Lys
 450

<210> 7

<211> 445

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 7

ES 2 650 224 T3

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

ES 2 650 224 T3

| | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | | 420 | | | | | 425 | | | | 430 |
| His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly | Lys |
| | | 435 | | | | | 440 | | | | | 445 |

<210> 8

<211> 455

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 8

ES 2 650 224 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 | Val | Ser | Asn | Ala |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Trp | Met | Ser | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu | Trp | Val |
| | 35 | | | | | 40 | | | | | | 45 | | | |
| Gly | Arg | Ile | Lys | Ser | Lys | Thr | Asp | Gly | Gly | Thr | Thr | Asp | Asn | Ala | Ala |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Pro | Val | Lys | Gly | Arg | Phe | Thr | Ile | Ser | Arg | Asp | Asp | Ser | Lys | Asn | Thr |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 |
| Leu | Tyr | Leu | Gln | Met | Asn | Ser | Leu | Lys | Thr | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| Tyr | Cys | Thr | Thr | Gly | Gly | Ser | Leu | Leu | Trp | Thr | Gly | Pro | Asn | Tyr | Tyr |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Tyr | Tyr | Gly | Met | Asp | Val | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Thr | Val | Thr | Val | Ser |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| Ser | Ala | Ser | Thr | Lys | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Cys | Ser |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Arg | Ser | Thr | Ser | Glu | Ser | Thr | Ala | Ala | Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 |
| Tyr | Phe | Pro | Glu | Pro | Val | Thr | Val | Ser | Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| Ser | Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro | Ala | Val | Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro | Ser | Ser | Asn | Phe | Gly | Thr | Gln |
| | 195 | | | | | | 200 | | | | | 205 | | | |
| Thr | Tyr | Thr | Cys | Asn | Val | Asp | His | Lys | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| Lys | Thr | Val | Glu | Arg | Lys | Cys | Cys | Val | Glu | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala |
| 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 |
| Pro | Pro | Val | Ala | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys |
| | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | |
| Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val |
| | | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | |
| Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val | Gln | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp |
| | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | |
| Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Phe |
| | 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | | | | |
| Asn | Ser | Thr | Phe | Arg | Val | Val | Ser | Val | Leu | Thr | Val | Val | His | Gln | Asp |
| 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 |
| Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Gly | Leu |
| | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | |
| Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser | Lys | Thr | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg |
| | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | |
| Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro | Ser | Arg | Glu | Glu | Met | Thr | Lys |
| | | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | |
| Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | Val | Lys | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp |
| | 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | | | | |
| Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys |
| 385 | | | | | 390 | | | | | | 395 | | | | 400 |

ES 2 650 224 T3

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Thr | Thr | Pro | Pro | Met | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly | Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser |
| | | | | 405 | | | | | 410 | | | | | 415 | |
| Lys | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp | Gln | Gln | Gly | Asn | Val | Phe | Ser |
| | | | 420 | | | | | 425 | | | | | 430 | | |
| Cys | Ser | Val | Met | His | Glu | Ala | Leu | His | Asn | His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser |
| | | 435 | | | | | 440 | | | | | 445 | | | |
| Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly | Lys | | | | | | | | | |
| | 450 | | | | | 455 | | | | | | | | | |

<210> 9

<211> 452

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 9

ES 2 650 224 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 | Ser | Asn | Ala |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Trp | Met | Ser | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu | Trp | Val |
| | | 35 | | | | 40 | | | | | | 45 | | | |
| Gly | Arg | Ile | Lys | Ser | Lys | Thr | Asp | Gly | Gly | Thr | Thr | Asp | Tyr | Ala | Ala |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | | 60 | | | |
| Pro | Val | Lys | Gly | Arg | Phe | Thr | Ile | Ser | Arg | Asp | Asp | Ser | Lys | Asn | Thr |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 |
| Leu | Tyr | Leu | Gln | Met | Asn | Ser | Leu | Lys | Thr | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| Tyr | Cys | Thr | Thr | Glu | Tyr | Tyr | Gly | Ser | Gly | Gly | Val | Trp | Tyr | Tyr | Gly |
| | | | 100 | | | | 105 | | | | | | 110 | | |
| Met | Asp | Val | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Thr | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| Thr | Lys | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Cys | Ser | Arg | Ser | Thr |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Ser | Glu | Ser | Thr | Ala | Ala | Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp | Tyr | Phe | Pro |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 |
| Glu | Pro | Val | Thr | Val | Ser | Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser | Gly | Val |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| His | Thr | Phe | Pro | Ala | Val | Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro | Ser | Ser | Asn | Phe | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Thr |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | |
| Cys | Asn | Val | Asp | His | Lys | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys | Thr | Val |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| Glu | Arg | Lys | Cys | Cys | Val | Glu | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Pro | Val |
| 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 |
| Ala | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu |
| | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | |
| Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser |
| | | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | |
| His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val | Gln | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu |
| | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | |
| Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Phe | Asn | Ser | Thr |
| | | 290 | | | | 295 | | | | | 300 | | | | |
| Phe | Arg | Val | Val | Ser | Val | Leu | Thr | Val | Val | His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn |
| 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 |
| Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Gly | Leu | Pro | Ala | Pro |
| | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | |
| Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser | Lys | Thr | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln |
| | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | |
| Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro | Ser | Arg | Glu | Glu | Met | Thr | Lys | Asn | Gln | Val |

ES 2 650 224 T3

```

          355                      360                      365
Ser  Leu  Thr  Cys  Leu  Val  Lys  Gly  Phe  Tyr  Pro  Ser  Asp  Ile  Ala  Val
      370                      375                      380
Glu  Trp  Glu  Ser  Asn  Gly  Gln  Pro  Glu  Asn  Asn  Tyr  Lys  Thr  Thr  Pro
385                      390                      395
Pro  Met  Leu  Asp  Ser  Asp  Gly  Ser  Phe  Phe  Leu  Tyr  Ser  Lys  Leu  Thr
          405                      410                      415
Val  Asp  Lys  Ser  Arg  Trp  Gln  Gln  Gly  Asn  Val  Phe  Ser  Cys  Ser  Val
          420                      425                      430
Met  His  Glu  Ala  Leu  His  Asn  His  Tyr  Thr  Gln  Lys  Ser  Leu  Ser  Leu
          435                      440                      445
Ser  Pro  Gly  Lys
          450

```

<210> 10

<211> 455

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 10

ES 2 650 224 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 | Ser | Asn | Ala |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Trp | Met | Ser | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu | Trp | Val |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Gly | Arg | Ile | Lys | Ser | Lys | Thr | Asp | Gly | Trp | Thr | Thr | Asp | Tyr | Ala | Ala |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Pro | Val | Lys | Gly | Arg | Phe | Thr | Ile | Ser | Arg | Asp | Asp | Ser | Lys | Asn | Thr |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 |
| Leu | Tyr | Leu | Gln | Met | Asn | Ser | Leu | Lys | Thr | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| Tyr | Cys | Thr | Thr | Asp | Leu | Arg | Ile | Thr | Gly | Thr | Thr | Tyr | Tyr | Tyr | Tyr |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Tyr | Tyr | Gly | Met | Asp | Val | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Thr | Val | Thr | Val | Ser |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| Ser | Ala | Ser | Thr | Lys | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Cys | Ser |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Arg | Ser | Thr | Ser | Glu | Ser | Thr | Ala | Ala | Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 |
| Tyr | Phe | Pro | Glu | Pro | Val | Thr | Val | Ser | Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| Ser | Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro | Ala | Val | Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro | Ser | Ser | Asn | Phe | Gly | Thr | Gln |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | |
| Thr | Tyr | Thr | Cys | Asn | Val | Asp | His | Lys | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| Lys | Thr | Val | Glu | Arg | Lys | Cys | Cys | Val | Glu | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala |
| 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 |
| Pro | Pro | Val | Ala | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys |
| | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | |
| Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val |
| | | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | |
| Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val | Gln | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp |
| | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | |
| Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Phe |
| | 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | | | | |
| Asn | Ser | Thr | Phe | Arg | Val | Val | Ser | Val | Leu | Thr | Val | Val | His | Gln | Asp |
| 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 |

ES 2 650 224 T3

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Gly | Leu |
| | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | |
| Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser | Lys | Thr | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg |
| | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | |
| Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro | Ser | Arg | Glu | Glu | Met | Thr | Lys |
| | | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | |
| Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | Val | Lys | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp |
| | | 370 | | | | 375 | | | | | 380 | | | | |
| Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys |
| 385 | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 |
| Thr | Thr | Pro | Pro | Met | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly | Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser |
| | | | | 405 | | | | | 410 | | | | | 415 | |
| Lys | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp | Gln | Gln | Gly | Asn | Val | Phe | Ser |
| | | | 420 | | | | | 425 | | | | | 430 | | |
| Cys | Ser | Val | Met | His | Glu | Ala | Leu | His | Asn | His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser |
| | | 435 | | | | | 440 | | | | | 445 | | | |
| Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly | Lys | | | | | | | | | |
| | 450 | | | | | 455 | | | | | | | | | |

<210> 11

<211> 446

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 11

ES 2 650 224 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 | Thr | Ser | Tyr |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Gly | Ile | Ser | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Gly | Trp | Ile | Ser | Ala | Tyr | Asn | Gly | Asn | Thr | Asn | Tyr | Ala | Gln | Lys | Leu |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Thr | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Ala | Tyr |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 |
| Met | Glu | Leu | Arg | Ser | Leu | Arg | Ser | Asp | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| Ala | Arg | Glu | Ser | Trp | Phe | Gly | Glu | Val | Phe | Phe | Asp | Tyr | Trp | Gly | Gln |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser | Thr | Lys | Gly | Pro | Ser | Val |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Cys | Ser | Arg | Ser | Thr | Ser | Glu | Ser | Thr | Ala | Ala |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp | Tyr | Phe | Pro | Glu | Pro | Val | Thr | Val | Ser |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 |
| Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser | Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro | Ala | Val |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| Ser | Ser | Asn | Phe | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Thr | Cys | Asn | Val | Asp | His | Lys |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | |
| Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys | Thr | Val | Glu | Arg | Lys | Cys | Cys | Val |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| Glu | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Pro | Val | Ala | Gly | Pro | Ser | Val | Phe |
| 225 | | | | 230 | | | | | | 235 | | | | | 240 |
| Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro |
| | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | |
| Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val |
| | | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | |
| Gln | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr |

ES 2 650 224 T3

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | |
| Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Phe | Asn | Ser | Thr | Phe | Arg | Val | Val | Ser | Val |
| | 290 | | | | | | 295 | | | | 300 | | | | |
| Leu | Thr | Val | Val | His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys |
| 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 |
| Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Gly | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser |
| | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | |
| Lys | Thr | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro |
| | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | |
| Ser | Arg | Glu | Glu | Met | Thr | Lys | Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | Val |
| | | 355 | | | | | 360 | | | | | | 365 | | |
| Lys | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly |
| | 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | | | | |
| Gln | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro | Met | Leu | Asp | Ser | Asp |
| 385 | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 |
| Gly | Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser | Lys | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp |
| | | | | 405 | | | | | 410 | | | | | 415 | |
| Gln | Gln | Gly | Asn | Val | Phe | Ser | Cys | Ser | Val | Met | His | Glu | Ala | Leu | His |
| | | | 420 | | | | | 425 | | | | | 430 | | |
| Asn | His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly | Lys | | |
| | | 435 | | | | | 440 | | | | | 445 | | | |

<210> 12

<211> 452

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 12

ES 2 650 224 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 | Ser | Asn | Ala |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Trp | Met | Ser | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu | Trp | Val |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Gly | Arg | Ile | Lys | Ser | Lys | Thr | Asp | Gly | Gly | Thr | Thr | Asp | Tyr | Ala | Ala |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Pro | Val | Lys | Gly | Arg | Phe | Thr | Ile | Ser | Arg | Asp | Asp | Ser | Lys | Asn | Thr |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 |
| Leu | Tyr | Leu | Gln | Met | Asn | Ser | Leu | Lys | Thr | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| Tyr | Cys | Thr | Thr | Glu | Tyr | Tyr | Gly | Ser | Gly | Gly | Val | Trp | Tyr | Tyr | Gly |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Met | Asp | Val | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Thr | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| Thr | Lys | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Cys | Ser | Arg | Ser | Thr |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Ser | Glu | Ser | Thr | Ala | Ala | Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp | Tyr | Phe | Pro |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 |
| Glu | Pro | Val | Thr | Val | Ser | Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser | Gly | Val |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| His | Thr | Phe | Pro | Ala | Val | Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro | Ser | Ser | Asn | Phe | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Thr |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | |
| Cys | Asn | Val | Asp | His | Lys | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys | Thr | Val |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| Glu | Arg | Lys | Cys | Cys | Val | Glu | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Pro | Val |
| 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 |
| Ala | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu |
| | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | |

ES 2 650 224 T3

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
 290 295 300
 Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro
 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Lys
 450

<210> 13

<211> 454

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 13

ES 2 650 224 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 | Ser | Asn | Ala |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Trp | Met | Ser | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu | Trp | Val |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Gly | Arg | Ile | Lys | Ser | Lys | Thr | Asp | Gly | Gly | Thr | Thr | Asp | Tyr | Ala | Ala |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Pro | Val | Lys | Gly | Arg | Phe | Thr | Ile | Ser | Arg | Asp | Asp | Ser | Lys | Asn | Thr |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 |
| Leu | Tyr | Leu | Gln | Met | Asn | Ser | Leu | Lys | Thr | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| Tyr | Cys | Thr | Thr | Asp | Gly | Ala | Thr | Val | Val | Thr | Pro | Gly | Tyr | Tyr | Tyr |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Tyr | Gly | Thr | Asp | Val | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Thr | Val | Thr | Val | Ser | Ser |
| | | 115 | | | | 120 | | | | | | 125 | | | |
| Ala | Ser | Thr | Lys | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Cys | Ser | Arg |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Ser | Thr | Ser | Glu | Ser | Thr | Ala | Ala | Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp | Tyr |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 |
| Phe | Pro | Glu | Pro | Val | Thr | Val | Ser | Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro | Ala | Val | Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro | Ser | Ser | Asn | Phe | Gly | Thr | Gln | Thr |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | |
| Tyr | Thr | Cys | Asn | Val | Asp | His | Lys | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys |

ES 2 650 224 T3

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 210 | | | | | | 215 | | | | | | 220 | | | |
| Thr | Val | Glu | Arg | Lys | Cys | Cys | Val | Glu | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro |
| 225 | | | | | | 230 | | | | | | 235 | | | 240 |
| Pro | Val | Ala | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp |
| | | | | | 245 | | | | | | | 250 | | | 255 |
| Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp |
| | | | 260 | | | | | | 265 | | | | | 270 | |
| Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val | Gln | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly |
| | | 275 | | | | | | 280 | | | | | | 285 | |
| Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Phe | Asn |
| | 290 | | | | | | 295 | | | | | | | 300 | |
| Ser | Thr | Phe | Arg | Val | Val | Ser | Val | Leu | Thr | Val | Val | His | Gln | Asp | Trp |
| 305 | | | | | | 310 | | | | | | | | | 320 |
| Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Gly | Leu | Pro |
| | | | | | 325 | | | | | | | | | | 335 |
| Ala | Pro | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser | Lys | Thr | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu |
| | | | 340 | | | | | | 345 | | | | | | 350 |
| Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro | Ser | Arg | Glu | Glu | Met | Thr | Lys | Asn |
| | | 355 | | | | | | 360 | | | | | | | 365 |
| Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | Val | Lys | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp | Ile |
| | 370 | | | | | | 375 | | | | | | | 380 | |
| Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys | Thr |
| 385 | | | | | | 390 | | | | | | | | | 400 |
| Thr | Pro | Pro | Met | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly | Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser | Lys |
| | | | | | 405 | | | | | | | | | | 415 |
| Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp | Gln | Gly | Asn | Val | Phe | Ser | Cys | |
| | | | 420 | | | | | | 425 | | | | | | 430 |
| Ser | Val | Met | His | Glu | Ala | Leu | His | Asn | His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser | Leu |
| | | 435 | | | | | | 440 | | | | | | | 445 |
| Ser | Leu | Ser | Pro | Gly | Lys | | | | | | | | | | |
| | 450 | | | | | | | | | | | | | | |

<210> 14

<211> 446

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 14

ES 2 650 224 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 | Thr | Ser | Tyr |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Gly | Ile | Ser | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Gly | Trp | Ile | Ser | Ala | Tyr | Asn | Gly | Asn | Thr | Asn | Tyr | Ala | Gln | Lys | Leu |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Thr | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Ala | Tyr |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 |
| Met | Glu | Leu | Arg | Ser | Leu | Arg | Ser | Asp | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| Ala | Arg | Glu | Ser | Trp | Phe | Gly | Glu | Val | Phe | Phe | Asp | Tyr | Trp | Gly | Gln |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | | 110 | |
| Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser | Thr | Lys | Gly | Pro | Ser | Val |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Cys | Ser | Arg | Ser | Thr | Ser | Glu | Ser | Thr | Ala | Ala |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp | Tyr | Phe | Pro | Glu | Pro | Val | Thr | Val | Ser |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 |
| Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser | Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro | Ala | Val |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | |

ES 2 650 224 T3

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val
 210 215 220
 Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 15

<211> 446

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 15

ES 2 650 224 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 | Thr | Gly | Tyr |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | | 30 | |
| Tyr | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | | | 45 | |
| Gly | Trp | Ile | Asn | Pro | Asn | Ser | Gly | Gly | Thr | Asn | Tyr | Ala | Gln | Lys | Phe |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Ile | Ser | Thr | Ala | Tyr |
| 65 | | | | | 70 | | | | | | 75 | | | | 80 |
| Met | Glu | Leu | Ser | Arg | Leu | Arg | Ser | Asp | Asp | Thr | Ala | Phe | Tyr | Tyr | Cys |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | | 95 |
| Ala | Arg | Asp | Ser | Asn | Trp | Tyr | His | Asn | Trp | Phe | Asp | Pro | Trp | Gly | Gln |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | | 110 | |
| Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser | Thr | Lys | Gly | Pro | Ser | Val |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Cys | Ser | Arg | Ser | Thr | Ser | Glu | Ser | Thr | Ala | Ala |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp | Tyr | Phe | Pro | Glu | Pro | Val | Thr | Val | Ser |

ES 2 650 224 T3

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | 160 | |
| Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser | Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro | Ala | Val |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| Ser | Ser | Asn | Phe | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Thr | Cys | Asn | Val | Asp | His | Lys |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | |
| Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys | Thr | Val | Glu | Arg | Lys | Cys | Cys | Val |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| Glu | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Pro | Val | Ala | Gly | Pro | Ser | Val | Phe |
| 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 |
| Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro |
| | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | | 255 |
| Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val |
| | | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | |
| Gln | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr |
| | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | |
| Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Phe | Asn | Ser | Thr | Phe | Arg | Val | Val | Ser | Val |
| | 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | | | | |
| Leu | Thr | Val | Val | His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys |
| 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 |
| Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Gly | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser |
| | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | | 335 |
| Lys | Thr | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro |
| | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | |
| Ser | Arg | Glu | Met | Thr | Lys | Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | Val | |
| | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | | |
| Lys | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly |
| | 370 | | | | | 375 | | | | 380 | | | | | |
| Gln | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro | Met | Leu | Asp | Ser | Asp |
| 385 | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 |
| Gly | Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser | Lys | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp |
| | | | | 405 | | | | | 410 | | | | | | 415 |
| Gln | Gln | Gly | Asn | Val | Phe | Ser | Cys | Ser | Val | Met | His | Glu | Ala | Leu | His |
| | | | 420 | | | | | 425 | | | | | 430 | | |
| Asn | His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly | Lys | | |
| | | 435 | | | | | 440 | | | | | 445 | | | |

<210> 16

<211> 446

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 16

ES 2 650 224 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 | Thr | Gly | Tyr |
| | | 20 | | | | | 25 | | | | | | 30 | | |
| Tyr | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
| | 35 | | | | | 40 | | | | | | 45 | | | |
| Gly | Trp | Ile | Asn | Pro | Asn | Ser | Gly | Gly | Thr | Asn | Tyr | Ala | Gln | Lys | Phe |
| | 50 | | | | 55 | | | | | 60 | | | | | |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Arg | Asp | Thr | Ser | Ile | Ser | Thr | Ala | Tyr |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 |
| Met | Glu | Leu | Ser | Arg | Leu | Arg | Ser | Asp | Asp | Thr | Ala | Phe | Tyr | Tyr | Cys |
| | | | 85 | | | | | 90 | | | | | | 95 | |
| Ala | Arg | Asp | Ser | Asn | Trp | Tyr | His | Asn | Trp | Phe | Asp | Pro | Trp | Gly | Gln |
| | | 100 | | | | | 105 | | | | | | 110 | | |
| Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser | Thr | Lys | Gly | Pro | Ser | Val |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |

ES 2 650 224 T3

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val
 210 215 220
 Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 17

<211> 454

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 17

ES 2 650 224 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 | Ser | Asn | Ala |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Trp | Met | Ser | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu | Trp | Val |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Gly | Arg | Ile | Lys | Ser | Lys | Thr | Asp | Gly | Gly | Thr | Thr | Asp | Tyr | Ala | Ala |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Pro | Val | Lys | Gly | Arg | Phe | Thr | Ile | Ser | Arg | Asp | Asp | Ser | Lys | Asn | Thr |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 |
| Leu | Tyr | Leu | Gln | Met | Asn | Ser | Leu | Lys | Thr | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| Tyr | Cys | Thr | Thr | Asp | Gly | Ala | Thr | Val | Val | Thr | Pro | Gly | Tyr | Tyr | Tyr |

ES 2 650 224 T3

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

<210> 18

<211> 453

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 18

ES 2 650 224 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 | Ser | Asn | Ala |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Trp | Met | Ser | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu | Trp | Val |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Gly | Arg | Ile | Lys | Ser | Lys | Thr | Asp | Gly | Gly | Thr | Ala | Asp | Tyr | Ala | Ala |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |

ES 2 650 224 T3

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

<211> 446

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 19

ES 2 650 224 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 Thr Ser Tyr

ES 2 650 224 T3

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

ES 2 650 224 T3

<210> 20

<211> 443

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

5 <400> 20

ES 2 650 224 T3

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

<211> 445

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 21

ES 2 650 224 T3

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

ES 2 650 224 T3

<210> 22

<211> 453

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

5 <400> 22

ES 2 650 224 T3

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

ES 2 650 224 T3

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

ES 2 650 224 T3

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

ES 2 650 224 T3

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| | | | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | |
| Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly | Gln | |
| | 370 | | | | | | 375 | | | | | | 380 | | | |
| Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro | Met | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly | |
| 385 | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 | |
| Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser | Lys | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp | Gln | |
| | | | | 405 | | | | | 410 | | | | | 415 | | |
| Gln | Gly | Asn | Val | Phe | Ser | Cys | Ser | Val | Met | His | Glu | Ala | Leu | His | Asn | |
| | | | 420 | | | | | 425 | | | | | 430 | | | |
| His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly | Lys | | | | |
| | 435 | | | | | | 440 | | | | | 445 | | | | |

<210> 25

<211> 443

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 25

ES 2 650 224 T3

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

ES 2 650 224 T3

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro | Ser | Arg | Glu |
| | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | |
| Glu | Met | Thr | Lys | Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | Val | Lys | Gly | Phe |
| | | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | |
| Tyr | Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly | Gln | Pro | Glu |
| | 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | | | | |
| Asn | Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro | Met | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly | Ser | Phe |
| 385 | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 |
| Phe | Leu | Tyr | Ser | Lys | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp | Gln | Gln | Gly |
| | | | | 405 | | | | | 410 | | | | | 415 | |
| Asn | Val | Phe | Ser | Cys | Ser | Val | Met | His | Glu | Ala | Leu | His | Asn | His | Tyr |
| | | | 420 | | | | | 425 | | | | | 430 | | |
| Thr | Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly | Lys | | | | | |
| | | 435 | | | | | 440 | | | | | | | | |

<210> 26

<211> 447

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 26

ES 2 650 224 T3

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

ES 2 650 224 T3

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 305 | | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 |
| Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Gly | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | |
| | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | | 335 | |
| Ser | Lys | Thr | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | |
| | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | | |
| Pro | Ser | Arg | Glu | Glu | Met | Thr | Lys | Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | |
| | | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | | |
| Val | Lys | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | |
| | 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | | | | | |
| Gly | Gln | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro | Met | Leu | Asp | Ser | |
| 385 | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 | |
| Asp | Gly | Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser | Lys | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | |
| | | | 405 | | | | | | 410 | | | | | 415 | | |
| Trp | Gln | Gln | Gly | Asn | Val | Phe | Ser | Cys | Ser | Val | Met | His | Glu | Ala | Leu | |
| | | | 420 | | | | 425 | | | | | 430 | | | | |
| His | Asn | His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly | Lys | | |
| | | 435 | | | | 440 | | | | | | 445 | | | | |

<210> 27

<211> 455

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 27

ES 2 650 224 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 | Val | Ser | Gly | Tyr | Thr | Leu | Thr | Glu | Leu |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Ser | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Gly | Gly | Phe | Asp | Pro | Glu | Asp | Gly | Glu | Thr | Ile | Tyr | Ala | Gln | Lys | Phe |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Glu | Asp | Thr | Ser | Thr | Asp | 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 | Gly | Val | Met | Ile | Thr | Phe | Gly | Gly | Val | Ile | Val | Gly | His | Ser |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Tyr | Tyr | Gly | Met | Asp | Val | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Thr | Val | Thr | Val | Ser |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | | 125 | | |
| Ser | Ala | Ser | Thr | Lys | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Cys | Ser |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Arg | Ser | Thr | Ser | Glu | Ser | Thr | Ala | Ala | Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp |
| 145 | | | | | 150 | | | | | | 155 | | | | 160 |
| Tyr | Phe | Pro | Glu | Pro | Val | Thr | Val | Ser | Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr |
| | | | | 165 | | | | | | 170 | | | | | 175 |
| Ser | Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro | Ala | Val | Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | | 190 | |
| Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro | Ser | Ser | Asn | Phe | Gly | Thr | Gln |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | |
| Thr | Tyr | Thr | Cys | Asn | Val | Asp | His | Lys | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | | 220 | | | |
| Lys | Thr | Val | Glu | Arg | Lys | Cys | Cys | Val | Glu | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala |
| 225 | | | | | 230 | | | | | | 235 | | | | 240 |
| Pro | Pro | Val | Ala | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys |
| | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | | 255 |
| Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val |
| | | | 260 | | | | | 265 | | | | | | 270 | |
| Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val | Gln | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp |
| | | 275 | | | | | 280 | | | | | | 285 | | |

ES 2 650 224 T3

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 290 295 300
 Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp
 305 310 315 320
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 325 330 335
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg
 340 345 350
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
 355 360 365
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 370 375 380
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 385 390 395 400
 Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 405 410 415
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 420 425 430
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 435 440 445
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455

<210> 28

<211> 455

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 28

ES 2 650 224 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 | Val | Ser | Gly | Tyr | Thr | Leu | Thr | Glu | Leu |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Ser | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Gly | Gly | Phe | Asp | Pro | Glu | Asp | Gly | Glu | Thr | Ile | Tyr | Ala | Gln | Lys | Phe |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Glu | Asp | Thr | Ser | Thr | Asp | 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 | |
| Ala | Thr | Gly | Val | Met | Ile | Thr | Phe | Gly | Gly | Val | Ile | Val | Gly | His | Ser |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Tyr | Tyr | Gly | Met | Asp | Val | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Thr | Val | Thr | Val | Ser |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| Ser | Ala | Ser | Thr | Lys | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Cys | Ser |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Arg | Ser | Thr | Ser | Glu | Ser | Thr | Ala | Ala | Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 |
| Tyr | Phe | Pro | Glu | Pro | Val | Thr | Val | Ser | Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| Ser | Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro | Ala | Val | Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro | Ser | Ser | Asn | Phe | Gly | Thr | Gln |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | |
| Thr | Tyr | Thr | Cys | Asn | Val | Asp | His | Lys | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| Lys | Thr | Val | Glu | Arg | Lys | Cys | Cys | Val | Glu | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala |
| 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 |
| Pro | Pro | Val | Ala | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys |

ES 2 650 224 T3

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | | | |
| Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | | |
| | | | 260 | | | | | | 265 | | | | 270 | | | | |
| Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val | Gln | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | | |
| | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | | | |
| Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Phe | | |
| | 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | | | | | | |
| Asn | Ser | Thr | Phe | Arg | Val | Val | Ser | Val | Leu | Thr | Val | Val | His | Gln | Asp | | |
| 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 | | |
| Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Gly | Leu | | |
| | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | | | |
| Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser | Lys | Thr | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | | |
| | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | | | |
| Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro | Ser | Arg | Glu | Glu | Met | Thr | Lys | | |
| | | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | | | |
| Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | Val | Lys | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp | | |
| | 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | | | | | | |
| Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys | | |
| 385 | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 | | |
| Thr | Thr | Pro | Pro | Met | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly | Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser | | |
| | | | | 405 | | | | | 410 | | | | | | 415 | | |
| Lys | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp | Gln | Gln | Gly | Asn | Val | Phe | Ser | | |
| | | | 420 | | | | | 425 | | | | | 430 | | | | |
| Cys | Ser | Val | Met | His | Glu | Ala | Leu | His | Asn | His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser | | |
| | | 435 | | | | | 440 | | | | | 445 | | | | | |
| Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly | Lys | | | | | | | | | | | |
| | 450 | | | | | 455 | | | | | | | | | | | |

<210> 29

<211> 450

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 29

ES 2 650 224 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 | Val | Ser | Gly | Tyr | Thr | Leu | Thr | Glu | Leu |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Ser | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Gly | Gly | Phe | Asp | Pro | Glu | Asp | Gly | Glu | Thr | Ile | Tyr | Ala | Gln | Lys | Phe |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Glu | Asp | Thr | Ser | Thr | Asp | 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 | |
| Ala | Thr | Arg | Ala | Gly | Thr | Thr | Leu | Ala | Tyr | Tyr | Tyr | Tyr | Ala | Met | Asp |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Val | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Thr | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser | Thr | Lys |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Cys | Ser | Arg | Ser | Thr | Ser | Glu |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Ser | Thr | Ala | Ala | Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp | Tyr | Phe | Pro | Glu | Pro |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 |
| Val | Thr | Val | Ser | Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser | Gly | Val | His | Thr |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| Phe | Pro | Ala | Val | Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Val |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| Val | Thr | Val | Pro | Ser | Ser | Asn | Phe | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Thr | Cys | Asn |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | |

ES 2 650 224 T3

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
 210 215 220
 Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450

<210> 30

<211> 442

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 30

ES 2 650 224 T3

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

ES 2 650 224 T3

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| | | | | 165 | | | | 170 | | | | | | 175 | | |
| Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro | Ser | Ser | Asn | Phe | |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | | |
| Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Thr | Cys | Asn | Val | Asp | His | Lys | Pro | Ser | Asn | Thr | |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | | |
| Lys | Val | Asp | Lys | Thr | Val | Glu | Arg | Lys | Cys | Cys | Val | Glu | Cys | Pro | Pro | |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | | |
| Cys | Pro | Ala | Pro | Pro | Val | Ala | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | |
| 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 | |
| Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | |
| | | | 245 | | | | | | 250 | | | | | 255 | | |
| Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val | Gln | Phe | Asn | Trp | |
| | | | 260 | | | | | 265 | | | | | | 270 | | |
| Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | |
| | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | | |
| Glu | Gln | Phe | Asn | Ser | Thr | Phe | Arg | Val | Val | Ser | Val | Leu | Thr | Val | Val | |
| | 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | | | | | |
| His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys | Lys | Val | Ser | Asn | |
| 305 | | | | 310 | | | | | | 315 | | | | | 320 | |
| Lys | Gly | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser | Lys | Thr | Lys | Gly | |
| | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | | |
| Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro | Ser | Arg | Glu | Glu | |
| | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | | |
| Met | Thr | Lys | Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | Val | Lys | Gly | Phe | Tyr | |
| | | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | | |
| Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn | |
| | | 370 | | | | 375 | | | | | 380 | | | | | |
| Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro | Met | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly | Ser | Phe | Phe | |
| 385 | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 | |
| Leu | Tyr | Ser | Lys | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp | Gln | Gln | Gly | Asn | |
| | | | 405 | | | | | 410 | | | | | | 415 | | |
| Val | Phe | Ser | Cys | Ser | Val | Met | His | Glu | Ala | Leu | His | Asn | His | Tyr | Thr | |
| | | | 420 | | | | | 425 | | | | | 430 | | | |
| Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly | Lys | | | | | | | |
| | | 435 | | | | | 440 | | | | | | | | | |

<210> 31

<211> 445

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 31

ES 2 650 224 T3

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

ES 2 650 224 T3

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 245 250 255
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
 260 265 270
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285
 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300
 Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320
 Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 325 330 335
 Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 340 345 350
 Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 32

<211> 445

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 32

ES 2 650 224 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 | Val | Ser | Gly | Tyr | Thr | Leu | Thr | Glu | Leu |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Ser | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Gly | Gly | Phe | Asp | Pro | Glu | Asp | Gly | Glu | Thr | Ile | Tyr | Ala | Gln | Lys | Phe |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Glu | Asp | Thr | Ser | Thr | Asp | 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 |
| Ala | Thr | Ala | Gly | Leu | Glu | Ile | Arg | Trp | Phe | Asp | Pro | Trp | Gly | Gln | Gly |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser | Thr | Lys | Gly | Pro | Ser | Val | Phe |

ES 2 650 224 T3

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| Pro | Leu | Ala | Pro | Cys | Ser | Arg | Ser | Thr | Ser | Glu | Ser | Thr | Ala | Ala | Leu |
| | 130 | | | | | | 135 | | | | 140 | | | | |
| Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp | Tyr | Phe | Pro | Glu | Pro | Val | Thr | Val | Ser | Trp |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 |
| Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser | Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro | Ala | Val | Leu |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro | Ser |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| Ser | Asn | Phe | Gly | Thr | Gln | Thr | Tyr | Thr | Cys | Asn | Val | Asp | His | Lys | Pro |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | |
| Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys | Thr | Val | Glu | Arg | Lys | Cys | Cys | Val | Glu |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Pro | Val | Ala | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu |
| 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 |
| Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu |
| | | | 245 | | | | | | 250 | | | | | | 255 |
| Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val | Gln |
| | | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | |
| Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr | Lys |
| | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | |
| Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Phe | Asn | Ser | Thr | Phe | Arg | Val | Val | Ser | Val | Leu |
| | 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | | | | |
| Thr | Val | Val | His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys | Lys |
| 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 |
| Val | Ser | Asn | Lys | Gly | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser | Lys |
| | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | | 335 |
| Thr | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro | Ser |
| | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | |
| Arg | Glu | Glu | Met | Thr | Lys | Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | Val | Lys |
| | | 355 | | | | 360 | | | | | | 365 | | | |
| Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly | Gln |
| | 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | | | | |
| Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro | Met | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly |
| 385 | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 |
| Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser | Lys | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp | Gln |
| | | | | 405 | | | | | 410 | | | | | 415 | |
| Gln | Gly | Asn | Val | Phe | Ser | Cys | Ser | Val | Met | His | Glu | Ala | Leu | His | Asn |
| | | | 420 | | | | | 425 | | | | | 430 | | |
| His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly | Lys | | | |
| | | 435 | | | | | 440 | | | | | 445 | | | |

<210> 33

<211> 446

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 33

ES 2 650 224 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 | Gly | Ser | Ile | Ser | Ser | Gly |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Gly | Tyr | Tyr | Trp | Ser | Trp | Ile | Arg | Gln | His | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Trp | Ile | Gly | Tyr | Ile | Ser | Tyr | Ser | Gly | Asp | Thr | Tyr | Tyr | Asn | Pro | Ser |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Leu | Lys | Ser | Arg | Leu | Thr | Ile | Ser | Val | Asp | Thr | Ser | Lys | His | Gln | Phe |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 |
| Ser | Leu | Arg | Leu | Ser | Ser | Val | Thr | Ser | Ala | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |

ES 2 650 224 T3

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

<210> 34

<211> 451

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 34

ES 2 650 224 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 | Leu | Thr | Ser | Tyr |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Gly | Ile | Ser | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Gln | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Gly | Trp | Ile | Ser | Ala | Tyr | Asn | Gly | Asn | Pro | Asn | Tyr | Ala | Gln | Lys | Phe |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Thr | Asp | Thr | Ser | Thr | Ser | Thr | Ala | Tyr |

ES 2 650 224 T3

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

<210> 35

<211> 456

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 35

ES 2 650 224 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 | Ser | Asn | Ala |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |

ES 2 650 224 T3

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

ES 2 650 224 T3

<211> 214

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 36

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

5

<210> 37

<211> 214

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 37

10

ES 2 650 224 T3

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

<210> 38

5 <211> 219

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 38

ES 2 650 224 T3

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

<210> 39

<211> 214

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 39

ES 2 650 224 T3

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

<210> 40

5 <211> 213

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 40

ES 2 650 224 T3

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

<210> 41

<211> 213

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 41

ES 2 650 224 T3

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

<210> 42

5 <211> 213

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 42

ES 2 650 224 T3

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

210

<210> 43

5 <211> 220

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 43

ES 2 650 224 T3

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

<210> 44

<211> 220

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 44

ES 2 650 224 T3

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

<210> 45

5 <211> 213

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 45

ES 2 650 224 T3

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

<210> 46

<211> 220

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 46

ES 2 650 224 T3

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

<210> 47

5 <211> 214

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 47

ES 2 650 224 T3

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

<210> 48

<211> 213

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 48

ES 2 650 224 T3

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

<210> 49

<211> 213

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 49

ES 2 650 224 T3

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

<210> 50

5 <211> 220

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 50

ES 2 650 224 T3

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

<210> 51

<211> 218

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 51

ES 2 650 224 T3

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

<210> 52

5 <211> 214

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 52

ES 2 650 224 T3

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

<210> 53

<211> 213

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 53

ES 2 650 224 T3

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

<210> 54

<211> 214

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 54

ES 2 650 224 T3

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

<210> 55

5 <211> 213

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 55

ES 2 650 224 T3

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

<210> 56

<211> 214

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 56

ES 2 650 224 T3

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

<210> 57

5 <211> 214

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 57

ES 2 650 224 T3

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

<210> 58

<211> 214

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 58

ES 2 650 224 T3

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

<210> 59

<211> 214

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 59

ES 2 650 224 T3

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

<210> 60

5 <211> 214

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 60

ES 2 650 224 T3

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

<210> 61

<211> 214

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 61

ES 2 650 224 T3

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

<210> 62

5 <211> 219

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 62

ES 2 650 224 T3

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

<210> 63

<211> 214

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 63

ES 2 650 224 T3

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

<210> 64

5 <211> 220

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 64

ES 2 650 224 T3

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

<210> 65

<211> 213

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 65

ES 2 650 224 T3

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

<210> 66

<211> 214

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 66

ES 2 650 224 T3

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

<210> 67

5 <211> 213

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 67

ES 2 650 224 T3

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

<210> 68

<211> 222

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 68

ES 2 650 224 T3

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 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 | Val | Tyr | Ser |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Asp | Gly | Asn | Thr | Tyr | Leu | Asn | Trp | Phe | Gln | Gln | Arg | Pro | Gly | Gln | Ser |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Pro | Arg | Arg | Leu | Ile | Tyr | Lys | Val | Ser | Asn | Trp | 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 | Met | Gln | Gly |
| | | | 85 | | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| Thr | His | Trp | Pro | Arg | Gly | Leu | Phe | Thr | Phe | Gly | Pro | Gly | Thr | Lys | Val |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Asp | Ile | Lys | Arg | Thr | Val | Ala | Ala | Pro | Ser | Val | Phe | Ile | Phe | Pro | Pro |
| | | 115 | | | | 120 | | | | | | 125 | | | |
| Ser | Asp | Glu | Gln | Leu | Lys | Ser | Gly | Thr | Ala | Ser | Val | Val | Cys | Leu | Leu |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Asn | Asn | Phe | Tyr | Pro | Arg | Glu | Ala | Lys | Val | Gln | Trp | Lys | Val | Asp | Asn |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | 160 | |
| Ala | Leu | Gln | Ser | Gly | Asn | Ser | Gln | Glu | Ser | Val | Thr | Glu | Gln | Asp | Ser |
| | | | 165 | | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| Lys | Asp | Ser | Thr | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Thr | Leu | Thr | Leu | Ser | Lys | Ala |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| Asp | Tyr | Glu | Lys | His | Lys | Val | Tyr | Ala | Cys | Glu | Val | Thr | His | Gln | Gly |
| | 195 | | | | | 200 | | | | | | 205 | | | |
| Leu | Ser | Ser | Pro | Val | Thr | Lys | Ser | Phe | Asn | Arg | Gly | Glu | Cys | | |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |

<210> 69

5 <211> 219

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 69

ES 2 650 224 T3

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

<210> 70

<211> 125

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 70

ES 2 650 224 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 Thr Ala Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Gly Tyr Ser Gly Tyr Asp Leu Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met
 100 105 110
 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 71

<211> 121

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 71

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

<210> 72

<211> 126

10 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 72

ES 2 650 224 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 Thr Gly Tyr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Arg Gly Gln Leu Trp Leu Trp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
 100 105 110
 Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 73

5 <211> 119

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 73

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

10 <210> 74

<211> 129

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 74

ES 2 650 224 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 Val Ser Asn Ala
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Asn Ala Ala
 50 55 60
 Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Thr Gly Gly Ser Leu Leu Trp Thr Gly Pro Asn Tyr Tyr
 100 105 110
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

<210> 75

<211> 126

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

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

<210> 76

<211> 129

10 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

ES 2 650 224 T3

<400> 76

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

Ser

<210> 77

<211> 120

5 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 77

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

10

<210> 78

<211> 126

<212> PRT

ES 2 650 224 T3

<213> Homo Sapiens

<400> 78

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

<210> 79

5 <211> 128

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 79

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

10 <210> 80

<211> 120

<212> PRT

ES 2 650 224 T3

<213> Homo Sapiens

<400> 80

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

<210> 81

5 <211> 120

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 81

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

10 <210> 82

<211> 120

<212> PRT

ES 2 650 224 T3

<213> Homo Sapiens

<400> 82

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

5

<210> 83

<211> 128

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

10 <400> 83

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

<210> 84

<211> 127

<212> PRT

ES 2 650 224 T3

<213> Homo Sapiens

<400> 84

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

<210> 85

5 <211> 120

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 85

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

10 <210> 86

<211> 117

<212> PRT

ES 2 650 224 T3

<213> Homo Sapiens

<400> 86

```

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

<210> 87

5 <211> 119

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 87

```

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

<210> 88

<211> 127

<212> PRT

ES 2 650 224 T3

<213> Homo Sapiens

<400> 88

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

<210> 89

5 <211> 130

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 89

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

10 <210> 90

<211> 119

ES 2 650 224 T3

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 90

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

5 <210> 91

<211> 117

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 91

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

10

<210> 92

<211> 121

ES 2 650 224 T3

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 92

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

<210> 93

<211> 129

<212> PRT

10 <213> Homo Sapiens

<400> 93

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 Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu
 20 25 30
 Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp 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 Gly Val Met Ile Thr Phe Gly Gly Val Ile Val Gly His Ser
 100 105 110
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

<210> 94

ES 2 650 224 T3

<211> 129

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 94

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 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 | Val | Ser | Gly | Tyr | Thr | Leu | Thr | Glu | Leu |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Ser | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Gly | Gly | Phe | Asp | Pro | Glu | Asp | Gly | Glu | Thr | Ile | Tyr | Ala | Gln | Lys | Phe |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Glu | Asp | Thr | Ser | Thr | Asp | 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 | |
| Ala | Thr | Gly | Val | Met | Ile | Thr | Phe | Gly | Gly | Val | Ile | Val | Gly | His | Ser |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Tyr | Tyr | Gly | Met | Asp | Val | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Thr | Val | Thr | Val | Ser |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |

5

<210> 95

<211> 124

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

10 <400> 95

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 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 | Val | Ser | Gly | Tyr | Thr | Leu | Thr | Glu | Leu |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Ser | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Gly | Gly | Phe | Asp | Pro | Glu | Asp | Gly | Glu | Thr | Ile | Tyr | Ala | Gln | Lys | Phe |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Glu | Asp | Thr | Ser | Thr | Asp | 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 | |
| Ala | Thr | Arg | Ala | Gly | Thr | Thr | Leu | Ala | Tyr | Tyr | Tyr | Tyr | Ala | Met | Asp |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Val | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Thr | Val | Thr | Val | Ser | Ser | | | | |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | | | | |

ES 2 650 224 T3

<210> 96

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

5 <400> 96

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

<210> 97

<211> 119

<212> PRT

10 <213> Homo Sapiens

<400> 97

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

ES 2 650 224 T3

<210> 98

<211> 119

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

5 <400> 98

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 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 | Val | Ser | Gly | Tyr | Thr | Leu | Thr | Glu | Leu |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Ser | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu | Trp | Met |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Gly | Gly | Phe | Asp | Pro | Glu | Asp | Gly | Glu | Thr | Ile | Tyr | Ala | Gln | Lys | Phe |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Met | Thr | Glu | Asp | Thr | Ser | Thr | Asp | 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 | |
| Ala | Thr | Ala | Gly | Leu | Glu | Ile | Arg | Trp | Phe | Asp | Pro | Trp | Gly | Gln | Gly |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser | | | | | | | | | |
| | | | 115 | | | | | | | | | | | | |

<210> 99

<211> 120

<212> PRT

10 <213> Homo Sapiens

<400> 99

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

ES 2 650 224 T3

<210> 100

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

5 <400> 100

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

<210> 101

<211> 130

<212> PRT

10 <213> Homo Sapiens

<400> 101

ES 2 650 224 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 Ser Asn Ala
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Lys Thr Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Thr Glu Tyr Tyr Gly Ile Val Thr Gly Ser Phe Tyr Tyr
 100 105 110
 Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
 115 120 125
 Ser Ser
 130

<210> 102

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 102

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

10 <210> 103

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 103

ES 2 650 224 T3

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

<210> 104

<211> 112

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 104

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Asn | Val | Met | Thr | Gln | Thr | Pro | Leu | Ser | Leu | Ser | Val | Thr | Pro | Gly |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | |
| Gln | Pro | Ala | Ser | Ile | Ser | Cys | Lys | Ser | Ser | Gln | Ser | Leu | Leu | His | Ser |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Asp | Gly | Lys | Thr | Tyr | Leu | Tyr | Trp | Tyr | Leu | Gln | Lys | Pro | Gly | Gln | Pro |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Pro | Gln | Leu | Leu | Ile | Tyr | Glu | Ala | 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 | Met | Gln | Ser |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| Ile | Gln | Leu | Pro | Leu | Thr | Phe | Gly | Gly | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |

<210> 105

<211> 107

10 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 105

ES 2 650 224 T3

```

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

```

<210> 106

5 <211> 106

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 106

```

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

```

10 <210> 107

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 107

ES 2 650 224 T3

```

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

```

<210> 108

<211> 106

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 108

```

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

```

<210> 109

<211> 113

10 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 109

ES 2 650 224 T3

```

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

```

<210> 110

<211> 113

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 110

```

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

```

10 <210> 111

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 111

ES 2 650 224 T3

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

<210> 112

<211> 113

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 112

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

<210> 113

<211> 107

10 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 113

ES 2 650 224 T3

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

<210> 114

5 <211> 106

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 114

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

10 <210> 115

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 115

ES 2 650 224 T3

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

<210> 116

211> 113

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 116

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

<210> 117

<211> 111

10 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 117

ES 2 650 224 T3

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

<210> 118

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 118

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

<210> 119

<211> 106

10 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 119

ES 2 650 224 T3

```

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

```

<210> 120

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 120

```

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

```

<210> 121

<211> 106

10 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 121

ES 2 650 224 T3

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

<210> 122

5 <211> 107

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 122

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

10 <210> 123

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 123

ES 2 650 224 T3

```

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

```

<210> 124

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 124

```

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

```

10 <210> 125

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 125

ES 2 650 224 T3

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

<210> 126

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 126

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

<210> 127

<211> 107

10 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 127

ES 2 650 224 T3

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

<210> 128

<211> 112

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 128

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

<210> 129

<211> 107

10 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 129

ES 2 650 224 T3

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

<210> 130

<211> 113

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 130

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

<210> 131

<211> 106

10 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 131

ES 2 650 224 T3

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

<210> 132

211> 107

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 132

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

10 <210> 133

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 133

ES 2 650 224 T3

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

<210> 134

<211> 115

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 134

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 Val Tyr Ser
 20 25 30
 Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Trp 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 Met Gln Gly
 85 90 95
 Thr His Trp Pro Arg Gly Leu Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val
 100 105 110
 Asp Ile Lys
 115

<210> 135

<211> 112

10 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 135

ES 2 650 224 T3

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

<210> 136

5 <211> 7

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 136

Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Ser
 1 5

10 <210> 137

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 137

15 Asn Ala Trp Met Ser
 1 5

<210> 138

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

20 <400> 138

Thr Ala Trp Met Ser
 1 5

<210> 139

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

5 <400> 139

Gly Tyr Tyr Met His
1 5

<210> 140

<211> 5

<212> PRT

10 <213> Homo Sapiens

<400> 140

Ala Tyr Tyr Met His
1 5

15 <210> 141

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 141

20 Ser Tyr Asp Met His
1 5

<210> 142

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

25 <400> 142

Glu Leu Ser Met His
1 5

<210> 143

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 143

5 Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 144

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

10 <400> 144

Ser Tyr Tyr Trp Ser
1 5

<210> 145

<211> 5

<212> PRT

15 <213> Homo Sapiens

<400> 145

Asn Tyr Tyr Trp Ser
1 5

<210> 146

<211> 5

20 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 146

Gly Tyr Tyr Ile His
1 5

<210> 147

25 <211> 5

<212> PRT

ES 2 650 224 T3

<213> Homo Sapiens

<400> 147

Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5

<210> 148

5 <211> 16

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 148

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

10 <210> 149

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 149

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

<210> 150

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

20 <400> 150

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

<210> 151

<211> 19

<212> PRT

25 <213> Homo Sapiens

ES 2 650 224 T3

<400> 151

Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Asn Ala Ala Pro
1 5 10 15
Val Lys Gly

<210> 152

<211> 19

5 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 152

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

<210> 153

10 <211> 19

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 153

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

15 <210> 154

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 154

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

20

<210> 155

<211> 17

<212> PRT

ES 2 650 224 T3

<213> Homo Sapiens

<400> 155

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

<210> 156

5 <211> 16

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 156

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

10 <210> 157

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 157

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

Gly

<210> 158

<211> 17

20 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 158

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

<210> 159

25 <211> 16

ES 2 650 224 T3

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 159

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

5 <210> 160

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 160

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

10 Gly

<210> 161

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

15 <400> 161

Arg Ile Tyr Thr Ser Gly Ser Thr His Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 162

<211> 17

<212> PRT

20 <213> Homo Sapiens

<400> 162

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

Gly

<210> 163

<211> 17

25 <212> PRT

ES 2 650 224 T3

<213> Homo Sapiens

<400> 163

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

<210> 164

5 <211> 17

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 164

Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Pro Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

10 <210> 165

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 165

15 Gly Ile Ala Ala Thr Gly Thr Leu Phe Asp Cys
1 5 10

<210> 166

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

20 <400> 166

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

<210> 167

<211> 18

<212> PRT

25 <213> Homo Sapiens

ES 2 650 224 T3

<400> 167

Gly Gly Ser Leu Leu Trp Thr Gly Pro Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
1 5 10 15
Asp Val

<210> 168

<211> 11

5 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 168

Asp Ser Asn Trp Tyr His Asn Trp Phe Asp Pro
1 5 10

<210> 169

10 <211> 16

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 169

Gly Gly Tyr Ser Gly Tyr Asp Leu Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

15 <210> 170

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 170

20 Glu Gly Pro Tyr Ser Asp Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 171

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

25 <400> 171

Leu Asp Leu Tyr Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 172

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 172

Glu Gly Ser Trp Tyr Gly Phe Asp Tyr
 1 5

<210> 173

<211> 19

10 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 173

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

<210> 174

15 <211> 19

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 174

Glu Tyr Tyr Gly Ile Val Thr Gly Ser Phe Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
 1 5 10 15
 Met Asp Val

20 <210> 175

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 175

ES 2 650 224 T3

Arg Ala Gly Thr Thr Leu Ala Tyr Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 176

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 176

Ala Gly Leu Glu Ile Arg Trp Phe Asp Pro
1 5 10

<210> 177

<211> 10

10 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 177

Ser Ser Gly Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 178

15 <211> 8

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 178

Ile Ala Thr Arg Pro Phe Asp Tyr
1 5

20 <210> 179

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 179

25 Asp Arg Val Phe Tyr Gly Met Asp Val
1 5

ES 2 650 224 T3

<210> 180

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

5 <400> 180

Glu Gly Asp Tyr Ser Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 181

<211> 17

<212> PRT

10 <213> Homo Sapiens

<400> 181

Asp Arg Gly Gln Leu Trp Leu Trp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15
Val

<210> 182

<211> 10

15 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 182

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

<210> 183

20 <211> 10

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 183

Ser Ser Ser Asn Phe Tyr Asp Met Asp Val
1 5 10

25 <210> 184

ES 2 650 224 T3

<211> 18

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 184

Asp Leu Arg Ile Thr Gly Thr Thr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
1 5 10 15
5 Asp Val

<210> 185

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

10 <400> 185

Asp Gln Gly Leu Leu Gly Phe Gly Glu Leu Glu Gly Leu Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 186

<211> 11

<212> PRT

15 <213> Homo Sapiens

<400> 186

Glu Ser Trp Phe Gly Glu Val Phe Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 187

<211> 20

20 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 187

Gly Val Met Ile Thr Phe Gly Gly Val Ile Val Gly His Ser Tyr Tyr
1 5 10 15
Gly Met Asp Val
20

<210> 188

ES 2 650 224 T3

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 188

5 Glu Gly Pro Tyr Ser Asn Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Val Asp Val
 1 5 10 15

<210> 189

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

10 <400> 189

Asp Gly Ala Thr Val Val Thr Pro Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Asp
 1 5 10 15
Val

<210> 190

<211> 10

<212> PRT

15 <213> Homo Sapiens

<400> 190

Ser Ser Trp Ser Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10

<210> 191

<211> 16

20 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 191

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

<210> 192

25 <211> 11

ES 2 650 224 T3

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 192

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

5 <210> 193

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 193

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser Ser Asp Asn Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

10 Ala

<210> 194

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

15 <400> 194

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser Ser Asn Asn Lys Asn Phe Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 195

<211> 17

<212> PRT

20 <213> Homo Sapiens

<400> 195

Lys Ser Ser Gln Gly Val Leu Asp Ser Ser Asn Asn Lys Asn Phe Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 196

<211> 11

ES 2 650 224 T3

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 196

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

5 <210> 197

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 197

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

<210> 198

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

15 <400> 198

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

<210> 199

<211> 11

<212> PRT

20 <213> Homo Sapiens

<400> 199

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

<210> 200

<211> 11

25 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

ES 2 650 224 T3

<400> 200

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

<210> 201

<211> 11

5 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 201

Gln Ala Ser Gln Asn Ile Ser Asn Phe Leu Asp
1 5 10

<210> 202

10 <211> 11

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 202

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe Leu Asp
1 5 10

15 <210> 203

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 203

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe Leu Asn
1 5 10

20

<210> 204

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

25 <400> 204

ES 2 650 224 T3

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15
Ala

<210> 205

<211> 11

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 205

Arg Ala Ser Gln Gly Phe Ser Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 206

<211> 11

10 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 206

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

<210> 207

15 <211> 16

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 207

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
1 5 10 15

20 <210> 208

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 208

25 Arg Ala Ser Gln Tyr Ile Gly Ser Ser Leu His
1 5 10

ES 2 650 224 T3

<210> 209

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

5 <400> 209

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Gly Tyr Leu Ala Tyr Leu Ala
1 5 10 15

<210> 210

<211> 11

<212> PRT

10 <213> Homo Sapiens

<400> 210

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

<210> 211

<211> 7

15 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 211

Lys Val Ser Asn Trp Asp Ser
1 5

<210> 212

20 <211> 7

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 212

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

25 <210> 213

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 213

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

5 <210> 214

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 214

10 Trp Ala Ser Asn Arg Glu Ser
1 5

<210> 215

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

15 <400> 215

Glu Ala Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 216

<211> 7

<212> PRT

20 <213> Homo Sapiens

<400> 216

Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr
1 5

<210> 217

<211> 7

25 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 217

Asp Thr Ser Asn Leu Glu Pro
 1 5

<210> 218

<211> 7

5 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 218

Asp Ala Ser Asp Leu Asp Pro
 1 5

<210> 219

10 <211> 7

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 219

Asp Ala Ser Asn Leu Glu Ile
 1 5

15 <210> 220

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 220

20 Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser
 1 5

<210> 221

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

25 <400> 221

Val Ala Ser Thr Leu Gln Ser
 1 5

<210> 222

<211> 7

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 222

Tyr Val Ser Gln Ser Phe Ser
 1 5

<210> 223

<211> 7

10 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 223

Gly Ala Ser Ser Thr Ala Thr
 1 5

<210> 224

15 <211> 7

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 224

Leu Gly Ser Ile Arg Ala Ser
 1 5

20 <210> 225

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 225

25 Met Gln Gly Thr His Trp Pro Ile Thr
 1 5

<210> 226

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

5 <400> 226

Met Gln Gly Thr His Trp Pro Arg Gly Leu Phe Thr
1 5 10

<210> 227

<211> 9

<212> PRT

10 <213> Homo Sapiens

<400> 227

Gln Gln Thr Tyr Ser Asp Pro Phe Thr
1 5

<210> 228

<211> 9

15 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 228

Gln Gln Tyr Tyr Ser Asp Pro Phe Thr
1 5

<210> 229

20 <211> 9

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 229

Gln Gln Ser Tyr Ile Thr Pro Pro Ser
1 5

25 <210> 230

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 230

Met Gln Ser Ile Gln Leu Pro Leu Thr
1 5

5 <210> 231

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 231

10 Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Ile Thr
1 5

<210> 232

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

15 <400> 232

Gln Arg Tyr Asp Asp Leu Pro Ile Thr
1 5

<210> 233

<211> 8

<212> PRT

20 <213> Homo Sapiens

<400> 233

Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Leu Thr
1 5

25 <210> 234

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 234

Gln Gln Tyr Asp Asp Leu Leu Thr
1 5

<210> 235

5 <211> 9

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 235

Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu Thr
1 5

10 <210> 236

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 236

Gln Gln Tyr Val Ser Leu Pro Leu Thr
1 5

15

<210> 237

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

20 <400> 237

Gln Gln Tyr Asp Asn Phe Pro Phe Thr
1 5

<210> 238

<211> 9

<212> PRT

25 <213> Homo Sapiens

<400> 238

Gln Gln Phe Asp Asn Leu Pro Pro Thr
1 5

<210> 239

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<400> 239

Gln Gln Tyr Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 240

<211> 9

10 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 240

Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Phe Thr
1 5

<210> 241

15 <211> 9

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 241

Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Leu Thr
1 5

20 <210> 242

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 242

25 Gln Lys Tyr Asn Ser Gly Pro Phe Thr
1 5

<210> 243

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

5 <400> 243

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Arg Thr
1 5

<210> 244

<211> 9

<212> PRT

10 <213> Homo Sapiens

<400> 244

His Gln Ser Ser Ser Leu Pro Phe Thr
1 5

<210> 245

<211> 9

15 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 245

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Ile Thr
1 5

<210> 246

20 <211> 9

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 246

Leu Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Ile Thr
1 5

25 <210> 247

<211> 981

ES 2 650 224 T3

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 247

```

gctagcacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 60
agcacagcgg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggg gacgggtgtcg 120
tggaactcag gcgctctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtcct acagtccctca 180
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcaacttcgg cacccagacc 240
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 300
aaatggtgtg tcgagtgcc accgtgcccc gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 360
ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacgtgc 420
gtgggtggtg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggtc cgtggacggc 480
gtggaggtgc ataatgcca gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt 540
gtggtcagcg tcctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 600
aaggtctcca acaaaggcct cccagcccc atcgagaaaa ccatctccaa aaccaaaggg 660
cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg cccccatccc gggaggagat gaccaagaac 720
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctaccca gcgacatcgc cgtggagtgg 780
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac 840
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 900
gtcttctcat gctccgtgat gcatgagget ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 960
tcctgtctc cgggtaaagt a 981

```

5 <210> 248

<211> 324

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 248

```

cgtagcgggtg ctgcaccatc tgtcttcatc ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60
ggaactgcct ctggtgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120
tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180
agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240
aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaag 300
10 agcttcaaca ggggagagtg ttag 324

```

<210> 249

<211> 375

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

15 <400> 249

ES 2 650 224 T3

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggata caccttcacc gcctactata tgcaactgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaacccta acagtgggtg cacaaactat 180
 gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240
 atggagctga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagggtgga 300
 tatagtggct acgatttggg ctactactac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg 360
 gtcaccgtct cctca 375

<210> 250

<211> 363

<212> ADN

5 <213> Homo Sapiens

<400> 250

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc ctccggagac cctgtccctc 60
 acctgcaactg tctctgggtg ctccgtcagc agtgggtggtt actactggag ctggatccgg 120
 cagccccagc ggaagggact ggagtggtt gggatatctt attacagtgg gagcaccaac 180
 tacaaccctt ccctcaagag tcgagtcacc atatcagtag acacgtccaa gaaccagttc 240
 tccttgaagc tgagctctgt gaccgctgcg gacacggccg tgtattactg tgcggccggg 300
 atagcagcca ctggtaccct ctttgactgc tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
 tca 363

<210> 251

<211> 378

10 <212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 251

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggata caccttcacc ggctactata tacactgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaacccta acagtgggtg cacaaactat 180
 gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240
 atggagctga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagatcga 300
 gggcagctat ggttatggtg ctactactac tacggtatgg acgtctgggg ccaagggacc 360
 acggtcaccg tctcctca 378

<210> 252

15 <211> 357

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 252

ES 2 650 224 T3

```

caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt cgcgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cagcctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc cagcagcagc 300
tggtcctact acggtatgga cgtctggggc caagggacca cggtcaccgt ctctca 357

```

<210> 253

<211> 387

<212> ADN

5 <213> Homo Sapiens

<400> 253

```

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtaaagc ctgggggggtc ccttagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cactgtcagt aacgcctgga tgagctgggt cgcgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggttggccgt attaaaagca aaactgatgg tgggacaaca 180
gacaacgctg caccctgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaacacg 240
ctgtatctgc aatgaacag cctgaaaacc gaggacacag ccgtgtatta ctgtaccaca 300
ggaggggtcat tactatggac cgggcccacac tactactact acggtatgga cgtctggggc 360
caagggacca cggtcaccgt ctctca 387

```

<210> 254

<211> 378

10 <212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 254

```

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtaaagc ctgggggggtc ccttagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt aacgcctgga tgagctgggt cgcgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggttggccgt attaaaagca aaactgatgg tgggacaaca 180
gactacgctg caccctgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaacacg 240
ctgtatctgc aatgaacag cctgaaaacc gaggacacag ccgtgtatta ctgtaccaca 300
gagtactatg gttcggggggg ggtttggtac tacggtatgg acgtctgggg ccaagggacc 360
acggtcaccg tctctca 378

```

<210> 255

15 <211> 387

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 255

ES 2 650 224 T3

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtaaagc ctgggggggct ccttagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt aacgcctgga tgagctgggt cgcaggct 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggttggccgt attaaaagca aaactgatgg ttggacaaca 180
 gactacgctg caccctgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaacacg 240
 ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacag ccgtgtatta ctgtaccaca 300
 gatctccgta taactggaac tacctattac tactactact acggtatgga cgtctggggc 360
 caagggacca cggtcaccgt ctctca 387

<210> 256

<211> 360

<212> ADN

5 <213> Homo Sapiens

<400> 256

caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctgggggctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctgggta cacctttacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa caaaaactat 180
 gcacagaagc tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
 atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagagtcg 300
 tggttcgggg aggtattctt tgactactgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctctca 360

<210> 257

<211> 378

10 <212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 257

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtaaagc ctgggggggct ccttagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt aacgcctgga tgagctgggt cgcaggct 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggttggccgt attaaaagca aaactgatgg tgggacaaca 180
 gactacgctg caccctgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaacacg 240
 ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacag ccgtgtatta ctgtaccaca 300
 gactactatg gttcgggggg ggtttggtac tacggtatgg acgtctgggg ccaagggacc 360
 acggtcaccg tctctca 378

<210> 258

15 <211> 384

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 258

ES 2 650 224 T3

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtaaagc ctgggggggctc ccttagactc 60
 tcttgtgcag cctctggatt cactttcagt aacgcctgga tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggttggccgt attaaaagca aaactgatgg tgggacaaca 180
 gactacgctg caccctgtaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaacacg 240
 ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacag ccgtgtatta ctgtaccaca 300
 gatggggcta cgggtgtaac tccggggctac tactactacg gtacggacgt ctggggccaa 360
 gggaccacgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 259

5 <211> 360

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 259

caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggctc 60
 tcttgcaagg cttctgggta cacctttacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180
 gcacagaagc tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
 atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagagctc 300
 tggttcgggg aggtatTTTT tgactactgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctcctca 360

10 <210> 260

<211> 360

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 260

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggctc 60
 tcttgcaagg cttctgggata caccttcacc ggctactata tgcactgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgaatg gatgggatgg atcaacccta acagtgggtg cacaaactat 180
 gctcagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240
 atggagctga gcagactgag atctgacgac acggcctttt attactgtgc gagagacagc 300
 15 aactggtacc acaactggtt cgaccctgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctcctca 360

<210> 261

<211> 360

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

20 <400> 261

ES 2 650 224 T3

```

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggata caccttcacc ggctactata tgcactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgaatg gatgggatgg atcaacccta acagtgggtg cacaaactat 180
gctcagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240
atggagctga gcagactgag atctgacgac acggcctttt attactgtgc gagagacagc 300
aactggtacc acaactggtt cgaccctcgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctcctca 360

```

<210> 262

<211> 384

<212> ADN

5 <213> Homo Sapiens

<400> 262

```

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtaaagc ctgggggggtc ccttagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt aacgcctgga tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggttggccgt attaaaagca aaactgatgg tgggacaaca 180
gactacgctg caccctgtaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaacacg 240
ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacag ccgtgtatta ctgtaccaca 300
gatgggggcta cggtggtaac tccgggggtac tactactacg gtacggacgt ctggggccea 360
gggaccacgg tcaccgtctc ctca 384

```

<210> 263

<211> 381

10 <212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 263

```

gaggtgcaac tgggtggagtc tgggggaggc ttggtaaagc ctgggggggtc ccttagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt aacgcctgga tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggttggccgt attaaaagca aaactgatgg tgggacagca 180
gactacgctg caccctgtaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaacacg 240
ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacag ccgtgtatta ctgtaccaca 300
gaaggtccct acagtgacta cgggtactac tactacggta tggacgtctg gggccaaggg 360
accacggtca ccgtctcctc a 381

```

<210> 264

15 <211> 360

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 264

ES 2 650 224 T3

caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctgggta cacctttacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180
 gcacagaagc tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
 atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagagtcg 300
 tggttcgggg aggtattctt tgactactgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctcctca 360

<210> 265

<211> 351

<212> ADN

5 <213> Homo Sapiens

<400> 265

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctacgaca tgcactgggt ccgccaagct 120
 acaggaaaag gtctggagtg ggtctcaggt attggtactg ctggtgacac atactatcca 180
 ggctccgtga agggccgatt caacatctcc agagaaaatg ccaagaactc cttgtatctt 240
 caaatgaaca gcctgagagc cggggacacg gctgtgtatt actgtgcaag agagggcagc 300
 tggtagcggct ttgactactg gggccagggg accctgggtca ccgtctctc a 351

<210> 266

<211> 357

10 <212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 266

cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggagggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa tgaatactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagag cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gcactcgtcc 300
 gggaactact acgatatgga cgtctggggc caagggacca cggtcaccgt ctctca 357

<210> 267

15 <211> 381

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 267

ES 2 650 224 T3

gaggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtagagc ctgggggggct ccttagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt accgcctgga tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggttggccgt attaaaagca aaactgatgg tgggacaaca 180
 gactacgctg cacccgtgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaacacg 240
 ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaaac gaggacacag ccgtgtatta ctgtaccaca 300
 gaaggtccct acagtaacta cgggtactac tactacggtg tggacgtctg gggccaaggg 360
 accacgggtca ccgtctcctc a 381

<210> 268

5 <211> 357

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 268

caggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggaggct cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagcagctcg 300
 tcaaacttct acgatatgga cgtctggggc caagggacca cggtcaccgt ctctca 357

10 <210> 269

<211> 390

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 269

gaggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtaaagc ctgggggggct ccttacactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cactttcaat aacgcctgga tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggttggccgt attaaaagca aaactgatgg tgggacaaca 180
 gactacgctg cacccgtgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaacacg 240
 ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacag ccgtgtatta ctgtaccaca 300
 gaatattacc atattttgac tggttcgttc tactactcct actacggtat ggacgtctgg 360
 15 ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 390

<210> 270

<211> 351

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

20 <400> 270

ES 2 650 224 T3

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc ctteggagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt aattactact ggagctggat ccggcagtc 120
 gccgggaagg gactggagtg gattgggctg atctatacca gtgggagcac cactacaac 180
 cctccctca agagtogaat catcatgtca gtggacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
 aagctgagct ctgtgaccgc cgcggacacg gccgtgtatt actgtgagag agatcgagtc 300
 ttctacggtg tggacgtctg gggccaaggg accacggtca ccgtctctc a 351

<210> 271

<211> 363

<212> ADN

5 <213> Homo Sapiens

<400> 271

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtta taaatactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaaggg 300
 gattactccg actactacgg tatggacgtc tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc 360
 tca 363

<210> 272

211> 387

10 <212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 272

caggtccagc tgggtacagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tctgcaagg tttccggata caccctcact gaattatcca tgcactgggt gcgacaggct 120
 cctggaaaag ggcttgagtg gatgggaggt tttgatcctg aagatggtga aacaatctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctacaga cacagtttac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc aacaggggtt 300
 atgattacgt ttgggggagt tatcgttggc cactcctact acggtatgga cgtctggggc 360
 caagggacca cggtcaccgt ctctca 387

<210> 273

15 <211> 372

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 273

ES 2 650 224 T3

caggtccagc tggtagagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg tttccggata caccctcact gaattatcca tgcactgggt gcgacaggct 120
 cctggaaaag ggcttgagtg gatgggaggt tttgatcctg aagatggatga aacaatctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctacaga cacagcctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc aacaagggct 300
 ggaacgacgt tggcctacta ctactacgct atggacgtct ggggccaagg gaccacggctc 360
 accgtctcct ca 372

<210> 274

<211> 348

<212> ADN

5 <213> Homo Sapiens

<400> 274

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctgggtgaagc ctteggagac cctgtccctc 60
 acctgcaactg tctctgggtg ctccatcagt agttactact ggagctggat ccggcagccc 120
 ccaggggaagg gactggagtg gattgggtat atctattaca gtgggaacac caactacaac 180
 ccctccctca agagtcgatt caccttatca atagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
 aggctgagct ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgctgtg tatagcaact 300
 cggccctttg actactgggg ccaggggaacc ctgggtcaccg tctcctca 348

<210> 275

<211> 357

10 <212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 275

caggtgcagc tggtagagtc tgggggaggg gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtcaggatt caccttcac agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc ggatagcagt 300
 ggcgactact acggtatgga cgtctggggc caagggacca cggtcaccgt ctctca 357

<210> 276

15 <211> 357

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 276

ES 2 650 224 T3

caggtccagc tggtagagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg tttccggata caccctcact gaattatcca tgcactgggt gcgacaggct 120
 cctggaaaag ggcttgagtg gatgggaggt tttgatcctg aagatgggta aacaatctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctacaga cacagcctat 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc aacagcgggg 300
 ctggaaatac ggtggttcga cccctggggc caggaacc tggtcacctg ctctca 357

<210> 277

5 <211> 360

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 277

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
 acctgcaactg tctctgggtg ctccatcagc agtgggtggtt actactggag ctggatccgc 120
 cagcaccag ggaagggcct ggagtggatt gggtagatct cttacagtgg ggacacctac 180
 tacaaccctg cctcaagag tcgacttacc atatcagtag acacgtctaa gcaccagttc 240
 tcctgagge tgagctctgt gacttccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagtcta 300
 gacctctacg gtgactactt tgactactgg ggccagggaa ccttgggtcac cgtctctca 360

10 <210> 278

<211> 375

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 278

caggttcagc tggtagagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctgggta caccttaacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgtt acaatggtaa cccaaactat 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
 atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
 ggattactag ggttcgggga actcgagggg ctctttgact actggggcca gggaaccctg 360
 gtcaccgtct cctca 375

15

<210> 279

<211> 390

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

20 <400> 279

ES 2 650 224 T3

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtaaagc ctgggggggtc ccttagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt aacgcctgga tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccaggaaggg ggctggagtg ggttggccgt attaaaacca aaactgatgg tgggacaaca 180
 gactacgctg caccctgtaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc acaaacacag 240
 ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacag ccgtgtatta ctgtaccaca 300
 gaatattacg gtattgtgac tgggttcgtt tattactact actacggtat ggacgtctgg 360
 ggccaagggg ccacggtcac cgtctcctca 390

<210> 280

<211> 321

<212> ADN

5 <213> Homo Sapiens

<400> 280

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc aggcgagtca aacattagc aacttttttag attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaacctcct gatctacgat gcattccgatt tggatccagg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctacagcct 240
 gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgttagtc tcccgcctcac tttcggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 281

<211> 336

10 <212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 281

gataatgtga tgaccagac tccactctct ctgtccgtca cccctggaca gccggcctcc 60
 atctcctgca agtcgagtca gagcctcctg catagtgatg ggaagaccta tttgtattgg 120
 tacctgcaga agccaggcca gctccacag ctctgatct atgaagcttc caaccggttc 180
 tctggagtg cagatagggt cagtggcagc gggtcaggga cagatttcac actgaaaatc 240
 agccgggtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaaagat acagcttctc 300
 ctacttttcg gcggaggac caaggtggag atcaaa 336

<210> 282

15 <211> 321

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 282

ES 2 650 224 T3

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc aggcgagtca ggacattaac aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctacgat gcatccaatt tggaaatagg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat ttcattttca ccatcagcag tctgcagcct 240
 gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgataatt tcccgttcac tttcggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 283

<211> 318

<212> ADN

5 <213> Homo Sapiens

<400> 283

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc aggcgagtca ggacattaac aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctacgat acatccaatt tggaaaccagg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatattg caacatatta ctgtcaacaa tatgataatc tcttcacctt cggccaaggg 300
 acacgactgg aaattaa 318

<210> 284

<211> 318

10 <212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 284

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc aggcgagtca ggacattagc aactatttaa attggtatca gcataaacca 120
 gggaaagccc ctaaactcct gatctacgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgataatc tgctcacctt cggcggaggg 300
 accaaggtgg agatcaaa 318

<210> 285

15 <211> 318

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 285

ES 2 650 224 T3

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc aggcgagtca ggacattagc aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagttcct gatctacgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180
 aggtttagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgataatc tgatcacctt cggccaaggg 300
 acacgactgg agattaata 318

<210> 286

5 <211> 339

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 286

gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggaga gagggccacc 60
 atcaactgca agtccagcca gagtgtttta gacagctccg acaataagaa ctacttagct 120
 tggtagcagc agaaaccagg acagcctcct aagctgctca tttactgggc atctaaccgg 180
 gaatccgggg tcctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt ctctctcacc 240
 atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatagtgat 300
 ccattcactt tcggccctgg gaccaaagtg gatataaaa 339

10 <210> 287

<211> 318

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 287

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggtga cagagtcacc 60
 atcacttgcc aggcgagtca ggacattagc aactatttaa attggtatca acagaaacca 120
 gggaaagccc ctaaactcct gatctacgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctacagcct 240
 gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgataatc tgctcacttt cggcggaggg 300
 15 accaagggtg agatcaaaa 318

<210> 288

<211> 339

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

20 <400> 288

ES 2 650 224 T3

gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
 atcgactgca agtccagcca ggggtgttta gacagctcca acaataagaa cttcttagct 120
 tggtagcagc agaaaccagg acagcctcct aagctgctca tttactgggc atctaaccgg 180
 gaatccgggg tccctgtccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
 atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca ctttattact gtcagcaata ttatagtgat 300
 ccattcactt tcggccctgg gaccaaagtg gatatcaaa 339

<210> 289

<211> 321

<212> ADN

5 <213> Homo Sapiens

<400> 289

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagt gactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaacctcct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttactt ctgtcaacag acttacagtg acccattcac tttcggccct 300
 gggaccaaaag tggatatcaa a 321

<210> 290

<211> 318

10 <212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 290

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc aggcgagtca ggacattagc aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctacgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctacagcct 240
 gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgataatc tgctcacttt cggcggaggg 300
 accaaggtgg agatcaaa 318

<210> 291

15 <211> 318

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 291

ES 2 650 224 T3

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc aggcgagtca ggacattagc aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaaggctct gatctacgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgataatc tcctcacttt cggcggaggg 300
 accaaggtgg agatcaaa 318

<210> 292

<211> 339

<212> ADN

5 <213> Homo Sapiens

<400> 292

gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcca gagggccacc 60
 atcgactgca agtccagcca gagtgtttta gacagctcca acaataagaa cttcttagct 120
 tggtagcagc agaaaccagg acagcctcct aagctgctca tttactgggc atctaaccgg 180
 gaatccgggg tcctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
 atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatagtgat 300
 ccattcactt tcggcctctg gaccaaagtg gatatcaaa 339

<210> 293

<211> 333

10 <212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 293

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gggccagtca gagtgtagc agcggctact tagcctactt agcctggtac 120
 cagcagaaac ctggccaggc tccaggtctc ctcatctatg gtgcatccag cacggccact 180
 ggcattcccag acaggttcag tggcagtggg tctgggacag acttactctt caccatcagc 240
 agactggagc ctgaagattt tgcagtgtat tactgtcagc agtatggtag ctcaccgatc 300
 accttcggcc aaggacacg actggagatt aaa 333

<210> 294

15 <211> 321

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 294

ES 2 650 224 T3

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc aggcgagtca ggacattagc aactttttaa attggtatca gcagagacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctacgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgataatc tcccattcac tttcggccct 300
 gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 295

<211> 318

<212> ADN

5 <213> Homo Sapiens

<400> 295

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc aggcgagtca ggacattagc aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaaactcct gatctacgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacatatta ctgtcaacag tatgataatc tctcacttt cggcggaggg 300
 accaaggtgg agatcaaa 318

<210> 296

<211> 321

10 <212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 296

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc aggcgagtca ggacattagc aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 ggaaaagccc ctaagctcct gatctacgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatattg caacatatta ctgtcaacgg tatgatgatc tcccgatcac cttcggccaa 300
 gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 297

15 <211> 318

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 297

ES 2 650 224 T3

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc aggcgagtc ggacattagc aactatttaa attggtatca gcagagacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctacgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgataatc tgctcacttt cggcggaggg 300
 accaaggtgg agatcaaa 318

<210> 298

<211> 321

<212> ADN

5 <213> Homo Sapiens

<400> 298

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcgagtc gggctttagc aattatttag cctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagttc ctaagctcct gatctatgct gcatccactt tgcagtcagg ggtcccatct 180
 cggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatggtg caacttatta ctgtcaaaag tataacagtg ccccgctcac tttcggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 299

<211> 321

10 <212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 299

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcgagtc gggcattaac aattatttag cctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagttc ctcagctcct gatctatggt gcatccactt tgcaatcagg ggtcccatct 180
 cggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatggtg caacttatta ctgtcaaaag tataacagtg gcccattcac tttcggccct 300

15 gggaccaaaag tggatatcaa a 321

<210> 300

<211> 321

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

20 <400> 300

ES 2 650 224 T3

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc aggtatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaacctcct gatccatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacatta cccctcccag ttttggccag 300
 gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 301

<211> 321

<212> ADN

5 <213> Homo Sapiens

<400> 301

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag actggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagcgctt gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatct 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcaacag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ctgtctacag tataatagtt acccgatcac cttcggccaa 300
 gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 302

<211> 321

10 <212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 302

gacatccaga tgatccagtc tccttctctcc ctgtctgcat ctgtcggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc aggcgagtca cgacattagc aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagttcct gatctccgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgataatc tcccgtcac tttcggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 303

15 <211> 336

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 303

ES 2 650 224 T3

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtea cccctggaga gccggcctcc 60
 atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg catagtaatg gatacaacta tttggattgg 120
 tacctgcaga agccagggca gtcaccacag ttctgatct atttgggttc tattegggcc 180
 tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagatTTTgc actgacaatc 240
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 300
 cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaa 336

<210> 304

<211> 321

<212> ADN

5 <213> Homo Sapiens

<400> 304

gaaattgtgc tgactcagtc tccagacttt cagtctgtga ctccaaagga gaaagtcacc 60
 atcacctgcc gggccagtca gtacattgggt agtagcttac actggtacca gcagacacca 120
 gatcagtcct caaagctcct catcaactat gtttcccagt ccttctcagg ggtcccctcg 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcacctca ccatcaatag cctggaagct 240
 gaagatgctg caacgtatta ctgtcatcag agtagtagtt taccattcac tttcggccct 300
 gggaccaaaag tggatatcaa a 321

10 <210> 305

<211> 339

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 305

gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcgc gagggccacc 60
 atctcctgca agtccagcca gagtgTTTTa tacagctcca acaataagaa ctacttagct 120
 tggtagcagc agaaaccagg ccagcctcct aagctgctca tttactgggc atctaccggg 180
 gaatccgggg tcctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
 atcagcacc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatactact 300
 15 cctccgacgt tcggccaagg gaccaaggtg gaaatcaaa 339

<210> 306

<211> 318

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

20 <400> 306

ES 2 650 224 T3

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggcgagtca ggacattaac aactatttaa attggtatca acagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatctacgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180
aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgatgatc tgctcacttt cggcggaggg 300
accaaggtgg agatcaaa 318

<210> 307

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Homo Sapiens

<220>

<221> VARIANTE

<222> 4

<223> Xaa = Phe o Leu

10 <400> 307

Gly Tyr Thr Xaa Thr Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5 10

<210> 308

<211> 17

<212> PRT

15 <213> Homo Sapiens

<220>

<221> VARIANTE

<222> 9

<223> Xaa = Thr o Pro

20 <220>

<221> VARIANTE

<222> 15

<223> Xaa = Leu o Phe

<400> 308

<220>
<221> VARIANTE

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

<223> Xaa = Glu o ninguna

5 <220>
<221> VARIANTE

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

<223> Xaa = Gly o ninguna

10 <220>
<221> VARIANTE

<222> (13)...(13)

<223> Xaa = Phe o Leu

<400> 309

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Xaa | Xaa | Xaa | Xaa | Xaa | Xaa | Phe | Gly | Glu | Xaa | Xaa | Xaa | Xaa | Phe | Asp | Tyr |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | |

15 <210> 310

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

20 <220>
<221> VARIANTE

<222> 4

<223> Xaa = Gln o Ser

<220>
<221> VARIANTE

25 <222> 8

<223> Xaa = Asp o Tyr

<220>
<221> VARIANTE

<222> 11

30 <223> Xaa = Asn o Asp

<220>
<221> VARIANTE

<223> Xaa = Phe o Pro

<400> 312

Gln Gln Tyr Tyr Xaa Xaa Pro Xaa Thr
 1 5

<210> 313

5 <211> 10

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<220>

<221> VARIANTE

10 <222> 4

<223> Xaa = Phe o Val

<220>

<221> VARIANTE

<222> 5

15 <223> Xaa = Ser o Asn

<220>

<221> VARIANTE

<222> 6

<223> Xaa = Asn o Thr

20 <400> 313

Gly Phe Thr Xaa Xaa Xaa Ala Trp Met Ser
 1 5 10

<210> 314

<211> 19

<212> PRT

25 <213> Homo Sapiens

<220>

<221> VARIANTE

<222> 4

<223> Xaa = Ser o Thr

<220>
<221> VARIANTE

<222> 9

<223> Xaa = Gly o Trp

5 <220>
<221> VARIANTE

<222> 11

<223> Xaa = Thr o Ala

10 <220>
<221> VARIANTE

<222> 13

<223> Xaa = Tyr o Asn

<400> 314

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Arg | Ile | Lys | Xaa | Lys | Thr | Asp | Gly | Xaa | Thr | Xaa | Asp | Xaa | Ala | Ala | Pro |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | | 15 |
| Val | Lys | Gly | | | | | | | | | | | | | |

15 <210> 315

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

20 <220>
<221> VARIANTE

<222> 1

<223> Xaa = Glu, Asp o Gly

<220>
<221> VARIANTE

25 <222> 2

<223> Xaa = Tyr, Leu o ninguna

<220>
<221> VARIANTE

<222> 3

30 <223> Xaa = Tyr, Arg o Gly

<220>
<221> VARIANTE

<222> 4

<223> Xaa = His, Gly, Ser, o ninguna

5 <220>
<221> VARIANTE

<222> 5

<223> Xaa = Ile, Ala, Leu, o ninguna

10 <220>
<221> VARIANTE

<222> 6

<223> Xaa = Leu, Val, Tyr, Pro o ninguna

<220>
<221> VARIANTE

15 <222> (7)...(7)

<223> Xaa = Thr, Val, Tyr, Gly, Trp, o ninguna

<220>
<221> VARIANTE

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

20 <223> Xaa = Gly, Val, Ser, o Thr

<220>
<221> VARIANTE

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

<223> Xaa = Ser, Thr, Asp, Asn, o Gly

25 <220>
<221> VARIANTE

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

<223> Xaa = Gly, Phe, Pro, o Tyr

30 <220>
<221> VARIANTE

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

<223> Xaa = Gly, Tyr, o Asn

ES 2 650 224 T3

<220>
<221> VARIANTE

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

<223> Xaa = Val o Tyr

5 <220>
<221> VARIANTE

<222> (13)...(13)

<223> Xaa = Trp, Ser o Tyr

10 <220>
<221> VARIANTE

<222> (17)...(17)

<223> Xaa = Met, Thr, o Val

<400> 315

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Xaa | Tyr | Tyr | Gly |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | | 15 | |
| Xaa | Asp | Val | | | | | | | | | | | | | | |

15 <210> 316

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

20 <220>
<221> VARIANTE

<222> 7

<223> Xaa = Ser o Asn

<400> 316

| | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Ala | Ser | Gln | Asp | Ile | Xaa | Asn | Tyr | Leu | Asn |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | |

25 <210> 317

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<220>
<221> VARIANTE

<222> 2

<223> Xaa = Ala o Thr

5 <220>
<221> VARIANTE

<222> 7

<223> Xaa = Thr o Pro

<400> 317

10 Asp Xaa Ser Asn Leu Glu Xaa
1 5

<210> 318

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

15 <220>
<221> VARIANTE

<222> 5

<223> Xaa = Asn o Asp

20 <220>
<221> VARIANTE

<222> 7

<223> Xaa = Leu o Ile

<400> 318

Gln Gln Tyr Asp Xaa Leu Xaa Thr
1 5

25 <210> 319

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

30 <220>
<221> VARIANTE

<222> 5

<223> Xaa = Ser o Ile

<400> 319

Gly Phe Thr Phe Xaa Ser Tyr Gly Met His
1 5 10

5 <210> 320

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

10 <220>
<221> VARIANTE

<222> 9

<223> Xaa = Glu o Lys

<400> 320

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

15 <210> 321

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

20 <220>
<221> VARIANTE

<222> 3

<223> Xaa = Gly, Ser o Trp

<220>
<221> VARIANTE

25 <222> 4

<223> Xaa = Asn, Asp o Ser

<220>
<221> VARIANTE

<222> 5

<223> Xaa = Tyr o Phe

<220>

<221> VARIANTE

<222> 7

5 <223> Xaa = Asp o Gly

<400> 321

Ser Ser Xaa Xaa Xaa Tyr Xaa Met Asp Val
1 5 10

<210> 322

<211> 11

10 <212> PRT

<213> Homo Sapiens

<220>

<221> VARIANTE

<222> 4

15 <223> Xaa = Gln o His

<220>

<221> VARIANTE

<222> 7

<223> Xaa = Ser o Asn

20 <220>

<221> VARIANTE

<222> 9

<223> Xaa = Phe o Tyr

<400> 322

Gln Ala Ser Xaa Asp Ile Xaa Asn Xaa Leu Asn
25 1 5 10

<210> 323

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

- <220>
<221> VARIANTE
- <222> 7
- <223> Xaa = Thr o lle
- 5 <400> 323
- Asp Ala Ser Asn Leu Glu Xaa
1 5
- <210> 324
- <211> 9
- <212> PRT
- 10 <213> Homo Sapiens
- <220>
<221> VARIANTE
- <222> 2
- <223> Xaa = Gln o Arg
- 15 <220>
<221> VARIANTE
- <222> 5
- <223> Xaa = Asn o Asp
- 20 <220>
<221> VARIANTE
- <222> 6
- <223> Xaa = Leu o Phe
- <220>
<221> VARIANTE
- 25 <222> 8
- <223> Xaa = Phe, Leu o lle
- <400> 324
- Gln Xaa Tyr Asp Xaa Xaa Pro Xaa Thr
1 5
- <210> 325
- 30 <211> 12

ES 2 650 224 T3

<212> ADN

<213> Homo Sapiens

<400> 325

gggaaaggga aa 12

5 <210> 326

<211> 203

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 326

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

10

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en un anticuerpo que comprende regiones determinantes de complementariedad (CDR) CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3, donde dichas CDR comprenden las secuencias de aminoácidos como se expone a continuación:

- 5 (a) CDRH1 comprende SEQ ID NO: 147, CDRH2 comprende SEQ ID NO: 163, CDRH3 comprende SEQ ID NO: 186, CDRL1 comprende SEQ ID NO: 193, CDRL2 comprende SEQ ID NO: 214, y CDRL3 comprende SEQ ID NO: 228,
- (b) CDRH1 comprende SEQ ID NO: 137, CDRH2 comprende SEQ ID NO: 150, CDRH3 comprende SEQ ID NO: 166, CDRL1 comprende SEQ ID NO: 198, CDRL2 comprende SEQ ID NO: 216, y CDRL3 comprende SEQ ID NO: 233,
- 10 (d) CDRH1 comprende SEQ ID NO: 147, CDRH2 comprende SEQ ID NO: 163, CDRH3 comprende SEQ ID NO: 186, CDRL1 comprende SEQ ID NO: 195, CDRL2 comprende SEQ ID NO: 214, y CDRL3 comprende SEQ ID NO: 228,
- (e) CDRH1 comprende SEQ ID NO: 137, CDRH2 comprende SEQ ID NO: 152, CDRH3 comprende SEQ ID NO: 170, CDRL1 comprende SEQ ID NO: 198, CDRL2 comprende SEQ ID NO: 216, y CDRL3 comprende SEQ ID NO: 233,
- (f) CDRH1 comprende SEQ ID NO: 147, CDRH2 comprende SEQ ID NO: 163, CDRH3 comprende SEQ ID NO: 186, CDRL1 comprende SEQ ID NO: 194, CDRL2 comprende SEQ ID NO: 214, y CDRL3 comprende SEQ ID NO: 228,
- 15 (g) CDRH1 comprende SEQ ID NO: 141, CDRH2 comprende SEQ ID NO: 156, CDRH3 comprende SEQ ID NO: 172, CDRL1 comprende SEQ ID NO: 209, CDRL2 comprende SEQ ID NO: 223, y CDRL3 comprende SEQ ID NO: 245,
- (i) CDRH1 comprende SEQ ID NO: 140, CDRH2 comprende SEQ ID NO: 155, CDRH3 comprende SEQ ID NO: 169, CDRL1 comprende SEQ ID NO: 202, CDRL2 comprende SEQ ID NO: 218, y CDRL3 comprende SEQ ID NO: 236,
- 20 (j) CDRH1 comprende SEQ ID NO: 140, CDRH2 comprende SEQ ID NO: 155, CDRH3 comprende SEQ ID NO: 169, CDRL1 comprende SEQ ID NO: 201, CDRL2 comprende SEQ ID NO: 218, y CDRL3 comprende SEQ ID NO: 236,
- (k) CDRH1 comprende SEQ ID NO: 143, CDRH2 comprende SEQ ID NO: 158, CDRH3 comprende SEQ ID NO: 190, CDRL1 comprende SEQ ID NO: 199, CDRL2 comprende SEQ ID NO: 219, y CDRL3 comprende SEQ ID NO: 237,
- (l) CDRH1 comprende SEQ ID NO: 137, CDRH2 comprende SEQ ID NO: 151, CDRH3 comprende SEQ ID NO: 167, CDRL1 comprende SEQ ID NO: 199, CDRL2 comprende SEQ ID NO: 217, y CDRL3 comprende SEQ ID NO: 233,
- 25 (m) CDRH1 comprende SEQ ID NO: 137, CDRH2 comprende SEQ ID NO: 150, CDRH3 comprende SEQ ID NO: 173, CDRL1 comprende SEQ ID NO: 198, CDRL2 comprende SEQ ID NO: 216, y CDRL3 comprende SEQ ID NO: 233,
- (n) CDRH1 comprende SEQ ID NO: 142, CDRH2 comprende SEQ ID NO: 157, CDRH3 comprende SEQ ID NO: 187, CDRL1 comprende SEQ ID NO: 206, CDRL2 comprende SEQ ID NO: 221, y CDRL3 comprende SEQ ID NO: 242,
- 30 (o) CDRH1 comprende SEQ ID NO: 143, CDRH2 comprende SEQ ID NO: 158, CDRH3 comprende SEQ ID NO: 177, CDRL1 comprende SEQ ID NO: 200, CDRL2 comprende SEQ ID NO: 216, y CDRL3 comprende SEQ ID NO: 235, o
- (p) CDRH1 comprende SEQ ID NO: 142, CDRH2 comprende SEQ ID NO: 157, CDRH3 comprende SEQ ID NO: 176, CDRL1 comprende SEQ ID NO: 207, CDRL2 comprende SEQ ID NO: 224, y CDRL3 comprende SEQ ID NO: 243; y

en el que dicho anticuerpo se une a c-fms humanas con una K_D de menos de $10^{-8}M$, medida como se describe en este documento.

35 2. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el anticuerpo comprende una cadena pesada variable (VH) y una cadena liviana variable (VL), en la que VH y VL comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas a continuación.

(a) VH comprende SEQ ID NO: 77 y VL comprende SEQ ID NO: 109;

(b) VH comprende SEQ ID NO: 77 y VL comprende SEQ ID NO: 110;

- (c) VH comprende SEQ ID NO: 78 y VL comprende SEQ ID NO: 133;
- (e) VH comprende SEQ ID NO: 80 y VL comprende SEQ ID NO: 112;
- (f) VH comprende SEQ ID NO: 84 y VL comprende SEQ ID NO: 115;
- (g) VH comprende SEQ ID NO: 85 y VL comprende SEQ ID NO: 116;
- 5 (h) VH comprende SEQ ID NO: 86 y VL comprende SEQ ID NO: 117;
- (j) VH comprende SEQ ID NO: 70 y VL comprende SEQ ID NO: 102;
- (k) VH comprende SEQ ID NO: 70 y VL comprende SEQ ID NO: 103;
- (l) VH comprende SEQ ID NO: 73 y VL comprende SEQ ID NO: 105;
- m) VH comprende SEQ ID NO: 74 y VL comprende SEQ ID NO: 106;
- 10 (n) VH comprende SEQ ID NO: 89 y VL comprende SEQ ID NO: 121;
- (o) VH comprende SEQ ID NO: 93 y VL comprende SEQ ID NO: 123;
- (p) VH comprende SEQ ID NO: 94 y VL comprende SEQ ID NO: 124;
- (q) VH comprende SEQ ID NO: 97 y VL comprende SEQ ID NO: 127; o
- (r) VH comprende SEQ ID NO: 98 y VL comprende SEQ ID NO: 128.
- 15 3. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que la unión entre dicho anticuerpo y un c-fms humano mutante es inferior al 50% de la unión entre dicho anticuerpo y c-fms humanos que tienen la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 1, y en el que dichas c-fms humanas mutantes tienen una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
- 20 (a) la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 1 en la que está presente al menos una mutación seleccionada entre K102E, R144E, R146E, D174R y A226R,
- (b) la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 1 en la que está presente al menos una mutación seleccionada entre E29R, Q 121R, T152R y K185E,
- (c) la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 1 en la que está presente al menos una mutación seleccionada de E29R, Q121R, S172R, G274R e Y276R, o
- 25 (d) la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 1 en la que al menos una mutación seleccionada de R106E, H151R, T152R, Y154R, S155R, W159R, Q171R, S172R, Q173R, G183R, R184E, K185E, E218R, A220R, S228R, H239R, N240R, K259E, G274R, N275R, Y276R, S277R y N282R están presentes.
- 30 4. El anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho anticuerpo es capaz de unirse a un polipéptido que consiste en la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 326, donde dicho anticuerpo no se une a un polipéptido que consiste en aminoácidos 20-126 de SEQ ID NO: 1, y no se une a un polipéptido que consiste en los aminoácidos 85-223 de SEQ ID NO: 1.
5. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 2 que comprende dos VH idénticos y dos VL idénticos.
- 35 6. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 2 o la reivindicación 5, en el que dicho anticuerpo comprende una cadena pesada completa y una cadena liviana completa, en el que dicha cadena pesada completa y cadena liviana completa comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas a continuación.

ES 2 650 224 T3

- (a) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 11 y la cadena liviana completa comprende SEQ ID NO: 43;
- (b) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 11 y la cadena liviana completa comprende SEQ ID NO: 44;
- 5 (c) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 12 y la cadena liviana completa comprende SEQ ID NO: 67;
- (e) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 14 y la cadena liviana completa comprende SEQ ID NO: 46;
- (f) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 18 y la cadena liviana completa comprende SEQ ID NO: 49;
- 10 (g) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 19 y la cadena liviana completa comprende SEQ ID NO: 50;
- (h) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 20 y la cadena liviana completa comprende la SEQ ID NO: 51;
- (j) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 4 y la cadena liviana completa comprende SEQ ID NO: 36;
- 15 (k) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 4 y la cadena liviana completa comprende la SEQ ID NO: 37;
- (l) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 7 y la cadena liviana completa comprende la SEQ ID NO: 39;
- 20 (m) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 8 y la cadena liviana completa comprende la SEQ ID NO: 40;
- (n) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 23 y la cadena liviana completa comprende SEQ ID NO: 55;
- (o) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 27 y la cadena liviana completa comprende SEQ ID NO: 57;
- 25 (p) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 28 y la cadena liviana completa comprende SEQ ID NO: 58;
- (q) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 31 y la cadena liviana completa comprende SEQ ID NO: 61; o
- 30 (r) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 32 y la cadena liviana completa comprende la SEQ ID NO: 62.
7. El anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 5 o 6, en el que:
- (a) CDRH1 comprende SEQ ID NO: 147, CDRH2 comprende SEQ ID NO: 163, CDRH3 comprende SEQ ID NO: 186, CDRL1 comprende SEQ ID NO: 193, CDRL2 comprende SEQ ID NO: 214, y CDRL3 comprende SEQ ID NO: 228;
- 35 (b) CDRH1 comprende SEQ ID NO: 140, CDRH2 comprende SEQ ID NO: 155, CDRH3 comprende SEQ ID NO: 169, CDRL1 comprende SEQ ID NO: 202, CDRL2 comprende SEQ ID NO: 218, y CDRL3 comprende SEQ ID NO: 236;
- (c) CDRH1 comprende SEQ ID NO: 140, CDRH2 comprende SEQ ID NO: 155, CDRH3 comprende SEQ ID NO: 169, CDRL1 comprende SEQ ID NO: 201, CDRL2 comprende SEQ ID NO: 218, y CDRL3 comprende SEQ ID NO: 236; o
- (d) CDRH1 comprende SEQ ID NO: 142, CDRH2 comprende SEQ ID NO: 157, CDRH3 comprende SEQ ID NO: 187, CDRL1 comprende SEQ ID NO: 206, CDRL2 comprende SEQ ID NO: 221, y CDRL3 comprende SEQ ID NO: 242.

8. El anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 5, 6 o 7, en el que el anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo en el que:
- (a) VH comprende SEQ ID NO: 77 y VL comprende SEQ ID NO: 109,
 - (b) VH comprende SEQ ID NO: 77 y VL comprende SEQ ID NO: 110,
 - 5 (c) VH comprende SEQ ID NO: 70 y VL comprende SEQ ID NO: 102,
 - (d) VH comprende SEQ ID NO: 70 y VL comprende SEQ ID NO: 103,
 - (e) VH comprende SEQ ID NO: 93 y VL comprende SEQ ID NO: 123, o
 - (f) VH comprende SEQ ID NO: 94 y VL comprende SEQ ID NO: 124.
- 10 9. El anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 5, 6, 7 u 8, en el que el anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo en el que:
- (a) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 11 y la cadena liviana completa comprende la SEQ ID NO: 43,
 - (b) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 11 y la cadena liviana completa comprende la SEQ ID NO: 44,
 - 15 (c) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 4 y la cadena liviana completa comprende SEQ ID NO: 36,
 - (d) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 4 y la cadena liviana completa comprende la SEQ ID NO: 37,
 - (e) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 27 y la cadena liviana completa comprende la SEQ ID NO: 57,
 - 20 o
 - (f) la cadena pesada completa comprende la SEQ ID NO: 28 y la cadena liviana completa comprende la SEQ ID NO: 58.
10. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 el cual:
- 25 (a) es un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo recombinante, un anticuerpo humano, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo biespecífico, un anticuerpo multiespecífico o un fragmento del mismo;
 - (b) es del subtipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4;
 - (c) es un anticuerpo humano del subtipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4;
 - (d) es un fragmento Fab, un fragmento Fab', un fragmento F(ab')₂, un fragmento Fv, un diacuerpo, un anticuerpo de dominio o una molécula de anticuerpo de cadena simple; o
 - 30 (e) es un fragmento de inmunoglobulina inmunológicamente funcional y derivado de una fuente humana.
11. Un ácido nucleico que codifica el anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, opcionalmente en el que dicho ácido nucleico está operativamente unido a una secuencia de control.
12. Un vector que comprende el ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 11.
- 35 13. Una célula huésped que comprende el vector de acuerdo con la reivindicación 12 y/o el ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 11.

14. Una composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
15. La composición farmacéutica de la reivindicación 14, que comprende además:
- (a) un agente activo adicional; o
- 5 (b) un agente activo adicional seleccionado del grupo que consiste en un radioisótopo, un radionúclido, una toxina, un grupo terapéutico y un grupo quimioterapéutico.
16. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para uso en terapia.
17. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para uso en el tratamiento o prevención de una afección asociada con c-fms en un paciente, en el que la afección se selecciona entre cáncer, enfermedad ósea y enfermedad inflamatoria.
- 10
18. El anticuerpo para uso de acuerdo con la reivindicación 17, en el que la enfermedad inflamatoria se selecciona del grupo que consiste en artritis inflamatoria, aterosclerosis, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, espondilitis reumatoide, espondilitis anquilosante, artritis, artritis psoriásica, artritis reumatoide, osteoartritis, eczema, dermatitis de contacto, psoriasis, síndrome de choque tóxico, sepsis, choque séptico, choque endotóxico, asma, enfermedad inflamatoria pulmonar crónica, silicosis, sarcoidosis pulmonar, reestenosis, lesión de reperfusión cardíaca y renal, trombosis, glomerulonefritis, diabetes, reacción de injerto contra huésped, rechazo de aloinjerto, esclerosis múltiple, degeneración muscular, distrofia muscular, enfermedad de Alzheimer, apoplejía y caquexia.
- 15
19. El anticuerpo para uso de acuerdo con la reivindicación 17, en el que el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer colorrectal, adenocarcinoma endometrial, leucemia, linfoma, melanoma, cáncer de células escamosas esofágicas, cáncer gástrico, cáncer astrocítico, cáncer de endometrio, cáncer de cuello uterino, cáncer de vejiga, cáncer renal, cáncer de pulmón y cáncer de ovario.
- 20
20. El anticuerpo para uso de acuerdo con la reivindicación 17, en el que la enfermedad ósea se selecciona del grupo que consiste en:
- 25 (a) trastornos médicos que implican pérdida ósea excesiva;
- (b) trastornos médicos que requieren la formación de hueso nuevo;
- (c) trastornos osteopénicos que implican una actividad osteoclástica excesiva;
- (d) pérdida ósea sistémica asociada con artritis; y
- (e) enfermedad ósea asociada con insuficiencia renal.
- 30
21. El anticuerpo para uso de acuerdo con la reivindicación 20, en el que:
- (a) el anticuerpo es para uso de acuerdo con la reivindicación 20(a), y en el que el trastorno médico se selecciona de cáncer de mama, cáncer de próstata, mieloma múltiple y osteosarcoma; o
- (b) el anticuerpo es para uso de acuerdo con la reivindicación 20(c), en donde el trastorno osteopénico se selecciona del grupo que consiste en osteopenia, osteoporosis, periodontitis, enfermedad de Paget, pérdida de hueso debido a inmovilización, metástasis óseas líticas y artritis.
- 35
22. El anticuerpo para uso de acuerdo con la reivindicación 20(d) o la reivindicación 21(b), en el que la artritis se selecciona del grupo que consiste en osteoartritis, artritis reumatoide, artritis psoriásica y artritis inflamatoria.
23. El anticuerpo para uso de acuerdo con la reivindicación 17, en el que la afección es enfermedad ósea, y en el que la enfermedad ósea es un trastorno óseo; en donde el anticuerpo se administra en combinación con:
- 40 (a) un agente terapéutico adicional; o

(b) un agente terapéutico adicional seleccionado de un agente de terapia contra el cáncer, un agente que inhibe la actividad de los osteoclastos, y un agente que potencia la actividad de los osteoblastos

24. El anticuerpo para uso de acuerdo con la reivindicación 23, en el que el paciente es un paciente con cáncer sometido a radioterapia o quimioterapia.

5 25. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 17 y 19-23, en el que la condición es cáncer o enfermedad ósea; en donde el anticuerpo se administra en combinación con un agente de terapia del cáncer.

10 26. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 17, 20 y 21, en el que la afección es una enfermedad ósea que da como resultado la pérdida de masa ósea, y en el que el anticuerpo se administra en combinación con un agente terapéutico adicional seleccionado de un crecimiento óseo agente promotor (anabólico) y un agente antireabsorción ósea.

27. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 17, 18 y 22, en el que la afección es una enfermedad inflamatoria; y en el que el anticuerpo se administra en combinación con un agente antiinflamatorio.

15 28. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 14 o la reivindicación 15 para su uso en el tratamiento de un paciente, en la que el excipiente farmacéuticamente aceptable se selecciona de un diluyente, vehículo, solubilizante, emulsionante, conservante y/o adyuvante farmacéuticamente aceptable; y en donde el paciente es un paciente humano.

29. Un método para preparar el anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, que comprende la etapa de preparar dicho anticuerpo a partir de una célula huésped que secreta dicho anticuerpo.

20

| | | | | | | | | | |
|------------------|----|------------|------------|------------|--------------|------------|----------|-----|------------------|
| V _{k1} | 80 | RVTMTRDTSI | STAYMELSR | RSDDTAVYYC | ARGGYSYDYL | G....YYVGM | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 70) |
| V _{k2} | | RVTISVDTSK | NQFSLKLSV | TAADTAVYYC | APGIAATGT. |LF | DCVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 71) |
| V _{k3} | | RVTMTRDTSI | STAYMELSR | RSDDTAVYYC | ARDRGQLWLM | ...YYVYGM | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 72) |
| V _{k4} | | RFTISRDNK | NLYLQMNLSL | RAEDTAVYYC | ASSWS.... |YVGM | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 73) |
| V _{k5} | | RFTISRDDSK | NLYLQMNLSL | KTEDTAVYYC | TIIGSLWATG | PN..YYVGM | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 74) |
| V _{k6} | | RFTISRDDSK | NLYLQMNLSL | KTEDTAVYYC | TTEYVSGSGV | W.....YVGM | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 75) |
| V _{k7} | | RFTISRDDSK | NLYLQMNLSL | KTEDTAVYYC | TIIDLRIITGT | ..YVYVYGM | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 76) |
| V _{k8} | | RVTMTTDTST | STAYMELRSL | RSDDTAVYYC | ARES.W.... |FGEVFF | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 77) |
| V _{k9} | | RFTISRDDSK | NLYLQMNLSL | KTEDTAVYYC | TTEYVSGSGV | W.....YVGM | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 78) |
| V _{k10} | | RFTISRDDSK | NLYLQMNLSL | KTEDTAVYYC | TIIDGATVVTTP | G...YVYVGT | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 79) |
| V _{k11} | | RVTMTTDTST | STAYMELRSL | RSDDTAVYYC | ARES.W.... |FGEVFF | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 80) |
| V _{k12} | | RVTMTRDTSI | STAYMELSR | RSDDTAFYYC | ARDSNW.... |YHNWF | DFWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 81) |
| V _{k13} | | RVTMTRDTSI | STAYMELSR | RSDDTAFYYC | ARDSNWVH... |NWF | DFWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 82) |
| V _{k14} | | RFTISRDDSK | NLYLQMNLSL | KTEDTAVYYC | TIIDGATVVTTP | G...YVYVGT | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 83) |
| V _{k15} | | RFTISRDDSK | NLYLQMNLSL | KTEDTAVYYC | TTEGPIYSDY. | G...YVYVGM | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 84) |
| V _{k16} | | RVTMTTDTST | STAYMELRSL | RSDDTAVYYC | ARESNFGEV. |FF | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 85) |
| V _{k17} | | RFTISRDNK | NLYLQMNLSL | RAEDTAVYYC | AREGSW.... |YGF | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 86) |
| V _{k18} | | RFTISRDNK | NLYLQMNLSL | RAEDTAVYYC | AHSSGN.... |YVDM | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 87) |
| V _{k19} | | RFTISRDDSK | NLYLQMNLSL | KNEDTAVYYC | TTEGPIYVNYG | ...YVYVGM | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 88) |
| V _{k20} | | RFTISRDDSK | NLYLQMNLSL | KTEDTAVYYC | TTEYVHLLTG | .SFYVYVGM | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 89) |
| V _{k21} | | RFTISRDNK | NLYLQMNLSL | RAEDTAVYYC | ASSSN.... |FYDM | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 90) |
| V _{k22} | | RIIMSVDTSK | NQFSLKLSV | TAADTAVYYC | ARDRVF.... |YGM | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 91) |
| V _{k23} | | RFTISRDNK | NLYLQMNLSL | RAEDTAVYYC | ARE.....GD | ...YSDYVGM | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 92) |
| V _{k24} | | RVTMTEDTST | DTAVMELSSL | RSEDTAVYYC | ATGVMITFPG | VIIVGHVYGM | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 93) |
| V _{k25} | | RVTMTEDTST | DTAVMELSSL | RSEDTAVYYC | ATGVMITFPG | VIIVGHVYGM | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 94) |
| V _{k26} | | RVTMTEDTST | DTAVMELSSL | RSEDTAVYYC | ATRAGIT.LA |YVYVAM | DVWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 95) |
| V _{k27} | | FTLSIDTSKN | QFSLRLSSVT | AADTAVYYCA | C.IATR.... |PF | DFWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 96) |
| V _{k28} | | RFTISRDNK | NLYLQMNLSL | RAEDTAVYYC | ADSSG.... |DYVGM | DFWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 97) |
| V _{k29} | | RVTMTEDTST | DTAVMELSSL | RSEDTAVYYC | ATAGLEIR... |WF | DFWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 98) |
| V _{k30} | | RLTISVDTSK | HQFSLRLSSV | TSADTAVYYC | ASLDL.... | ...YG.DY.F | DFWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 99) |
| V _{k31} | | RVTMTTDTST | STAYMELRSL | RSDDTAVYYC | ARDQGLLFGF | ELEG....LF | DFWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 100) |
| V _{k32} | | RFTISRDDSK | NLYLQMNLSL | KTEDTAVYYC | TTEYVGIWVG | SF.YVYVYGM | DFWGQGT | VSS | (SEQ ID NO: 101) |

FR3 CDR3 J/FR4

FIGURA 1A-2

| | | | | | | | | |
|-------------------|----|----------|------------|------------|------------|------------|--------|-----------------|
| V ₁ 1 | 63 | GVPSRFSG | SGSGTDFLFT | ISSLQPEDIA | TYYCQQYVSL | ...PLTFGGG | TKVEIK | (SEQ ID NO:102) |
| V ₁ 2 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLFT | ISSLQPEDIA | TYYCQQYVSL | ...PLTFGGG | TKVEIK | (SEQ ID NO:103) |
| V ₁ 3 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLTK | ISRVEAEDVG | VYCMQSIQL | ...PLTFGGG | TKVEIK | (SEQ ID NO:104) |
| V ₁ 4 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLFT | ISSLQPEDIA | TYYCQQYDNF | ...PFTFGGG | TKVEIK | (SEQ ID NO:105) |
| V ₁ 5 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLFT | ISSLQPEDIA | TYYCQQYDNL | ...LTFGGG | TRLEIK | (SEQ ID NO:106) |
| V ₁ 6 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLFT | ISSLQPEDIA | TYYCQQYDNL | ...LTFGGG | TKVEIK | (SEQ ID NO:107) |
| V ₁ 7 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLFT | ISSLQPEDIA | TYYCQQYDNL | ...LTFGGG | TRLEIK | (SEQ ID NO:108) |
| V ₁ 8 | | GVPSRFSG | SGSGTDFSLT | ISSLQAEVA | VYCCQQYVSD | ...PFTFGPG | TKVDIK | (SEQ ID NO:109) |
| V ₁ 9 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLFT | ISSLQAEVA | VYCCQQYVSD | ...PFTFGPG | TKVDIK | (SEQ ID NO:110) |
| V ₁ 10 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLFT | ISSLQPEDIA | TYYCQQYDNL | ...LTFGGG | TKVEIK | (SEQ ID NO:111) |
| V ₁ 11 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLTK | ISSLQAEVA | LYCCQQYVSD | ...PFTFGPG | TKVDIK | (SEQ ID NO:112) |
| V ₁ 12 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLTK | ISSLQAEVA | LYCCQQYVSD | ...PFTFGPG | TKVDIK | (SEQ ID NO:113) |
| V ₁ 13 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLFT | ISSLQPEDIA | TYYCQQYVSD | ...LTFGGG | TKVEIK | (SEQ ID NO:114) |
| V ₁ 14 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLFT | ISSLQPEDIA | TYYCQQYDNL | ...LTFGGG | TKVEIK | (SEQ ID NO:115) |
| V ₁ 15 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLTK | ISSLQAEVA | VYCCQQYVSD | ...PFTFGPG | TKVDIK | (SEQ ID NO:116) |
| V ₁ 16 | | GIPDRFSG | SGSGTDFLTK | ISRLEPEDFA | VYCCQQYVSD | ...PFTFGPG | TRLEIK | (SEQ ID NO:117) |
| V ₁ 17 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLFT | ISSLQPEDIA | TYYCQQYDNL | ...PFTFGPG | TKVDIK | (SEQ ID NO:118) |
| V ₁ 18 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLFT | ISSLQAEVA | LYCCQQYVSD | ...LTFGGG | TKVEIK | (SEQ ID NO:119) |
| V ₁ 19 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLFT | ISSLQPEDIA | TYCCQQYVSD | ...PFTFGPG | TRLEIK | (SEQ ID NO:120) |
| V ₁ 20 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLTK | ISSLQAEVA | VYCCQQYVSD | ...LTFGGG | TKVEIK | (SEQ ID NO:121) |
| V ₁ 21 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLTK | ISSLQAEVA | VYCCQQYVSD | ...LTFGGG | TKVEIK | (SEQ ID NO:122) |
| V ₁ 22 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLTK | ISSLQAEVA | VYCCQQYVSD | ...LTFGGG | TKVEIK | (SEQ ID NO:123) |
| V ₁ 23 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLTK | ISSLQAEVA | VYCCQQYVSD | ...LTFGGG | TKVEIK | (SEQ ID NO:124) |
| V ₁ 24 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLTK | ISSLQAEVA | VYCCQQYVSD | ...LTFGGG | TKVEIK | (SEQ ID NO:125) |
| V ₁ 25 | | GVPSRFSG | SGSGTEFLTK | INSLQPEDFA | TYCCQQYVSD | ...PFTFGPG | TRLEIK | (SEQ ID NO:126) |
| V ₁ 26 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLTK | ISSLQPEDIA | TYCCQQYVSD | ...LTFGGG | TKVEIK | (SEQ ID NO:127) |
| V ₁ 27 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLTK | ISRVEAEDVG | VYCCMQALQT | ...PFTFGPG | TKVEIK | (SEQ ID NO:128) |
| V ₁ 28 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLTK | INSLEAEDVA | VYCCMQSSSL | ...PFTFGPG | TKVDIK | (SEQ ID NO:129) |
| V ₁ 29 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLTK | ISTLQAEVA | VYCCQQYVSD | ...PFTFGPG | TKVEIK | (SEQ ID NO:130) |
| V ₁ 30 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLTK | ISSLQPEDIA | TYCCQQYVSD | ...LTFGGG | TKVEIK | (SEQ ID NO:131) |
| V ₁ 31 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLTK | ISSLQPEDIA | TYCCQQYVSD | ...PFTFGPG | TKVESK | (SEQ ID NO:132) |
| V ₁ 32 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLTK | ISSLQPEDIA | TYCCQQYVSD | ...LTFGGG | TKVEIK | (SEQ ID NO:133) |
| V ₁ 33 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLTK | ISRVEAEDVG | VYCCMQGTHM | PRGLFIFGPG | TKVDIK | (SEQ ID NO:134) |
| V ₁ 34 | | GVPSRFSG | SGSGTDFLTK | ISRVEAEDVG | VYCCMQGTHM | ...PFTFGPG | TGLEIK | (SEQ ID NO:135) |

J / FR4

CDR3

FR3

FIGURA 1B-2

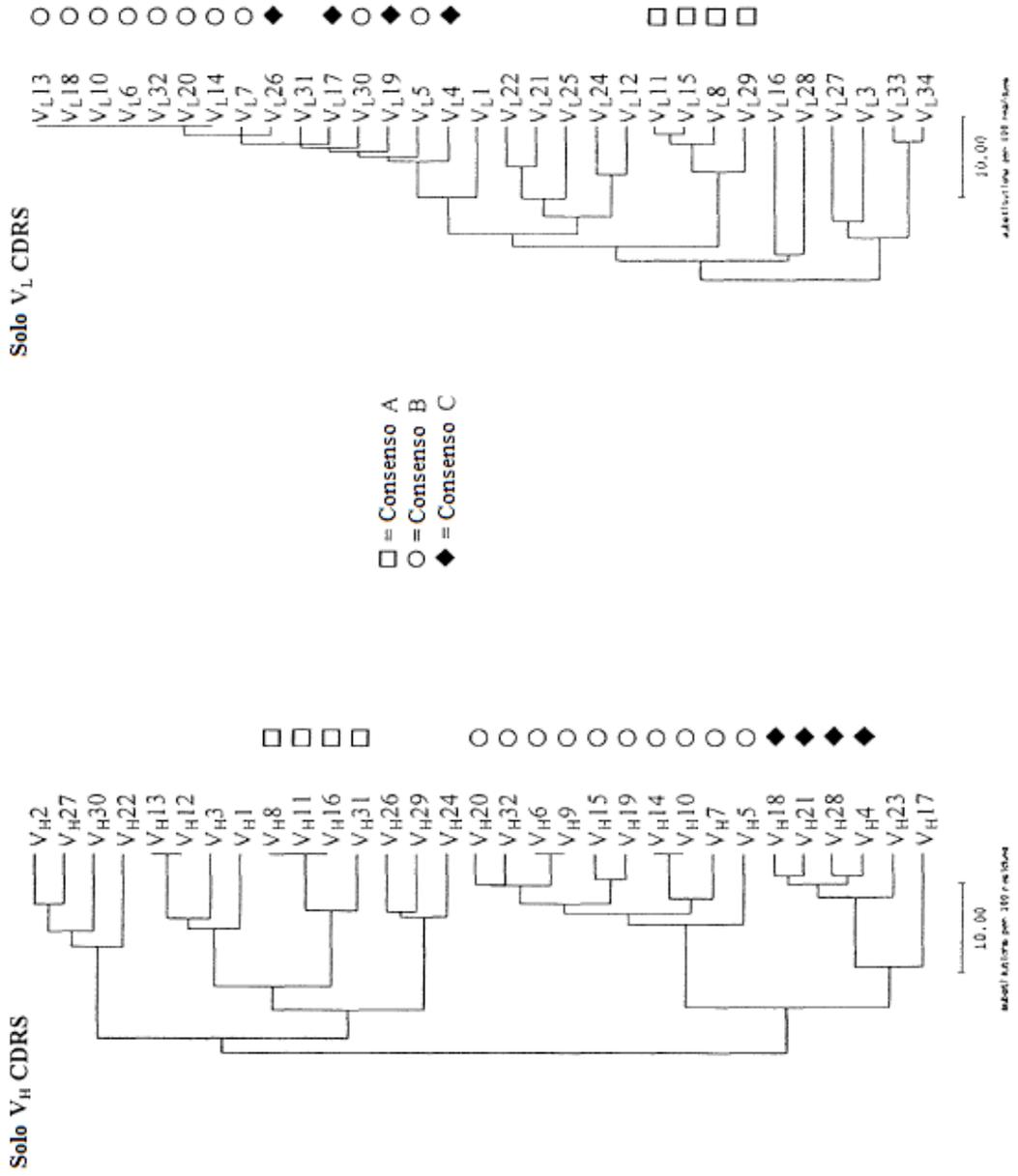


FIGURA 2

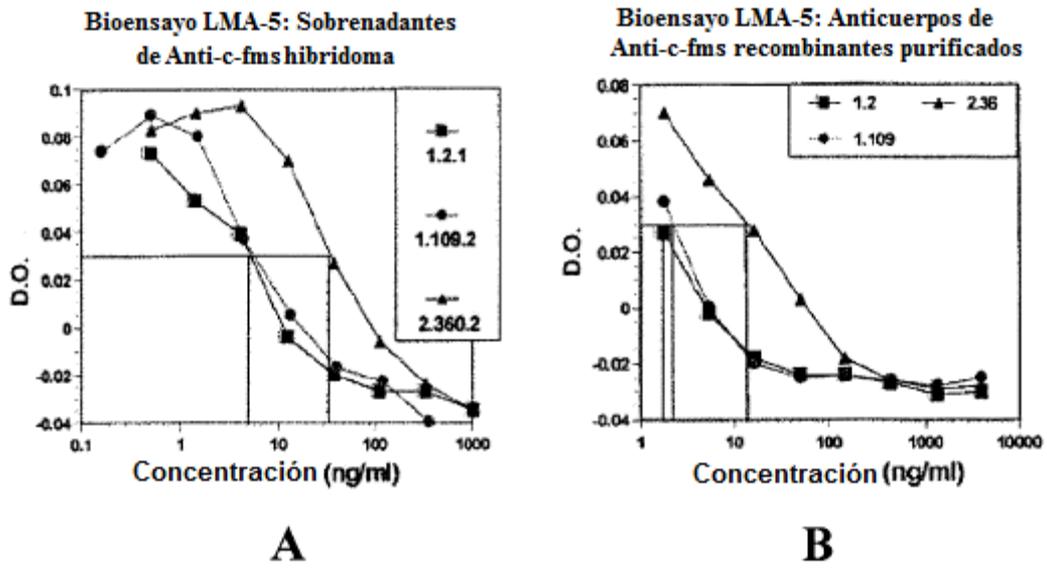


FIGURA 3

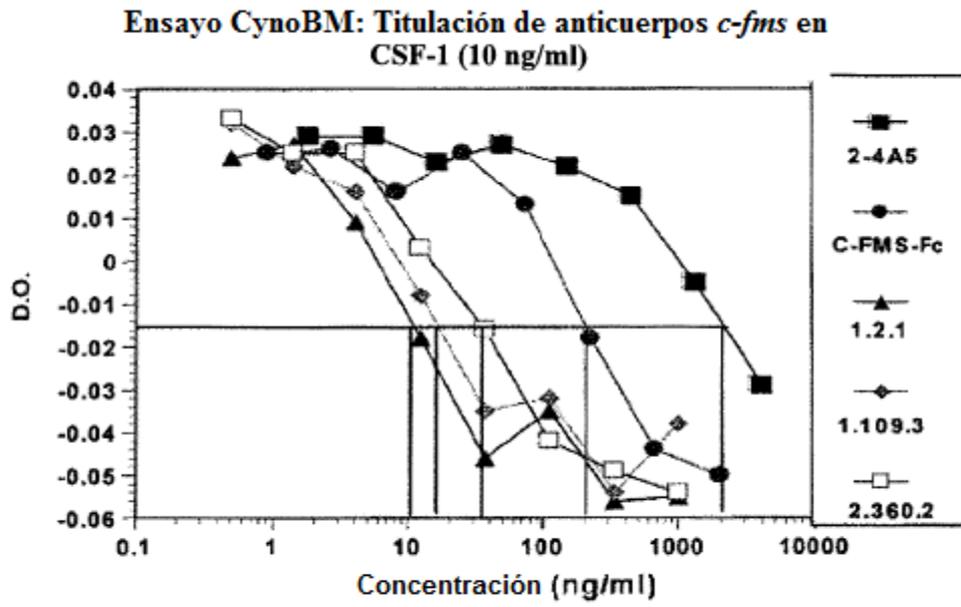
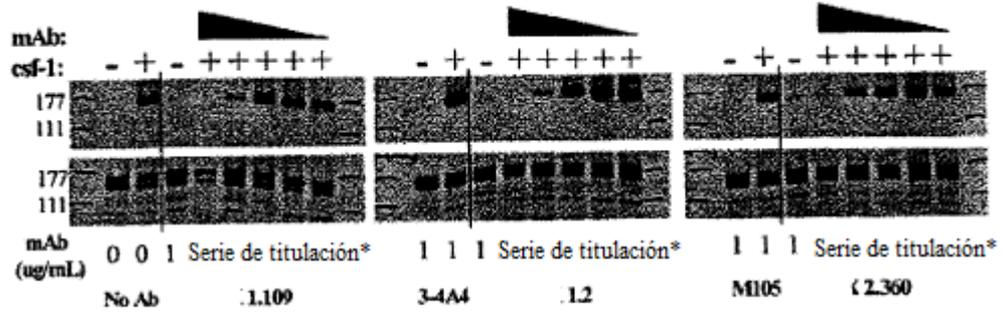


FIGURA 4



* Serie de titulación: 1.0, 0.1, 0.01, 0.001 y 0.0001 ug/mL.

FIGURA 5

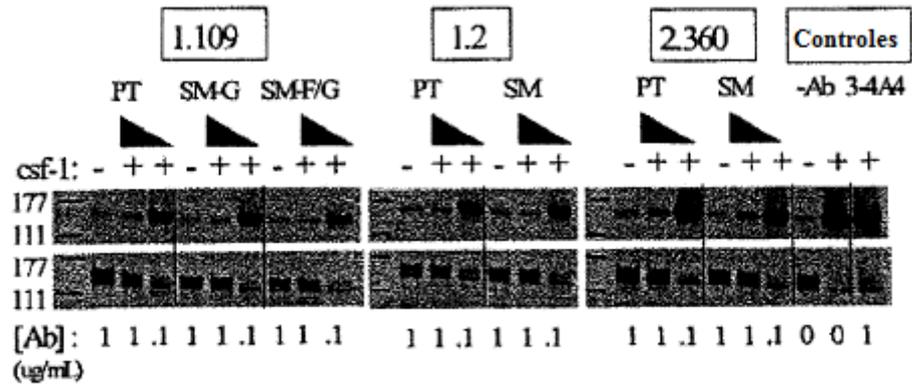


FIGURA 6

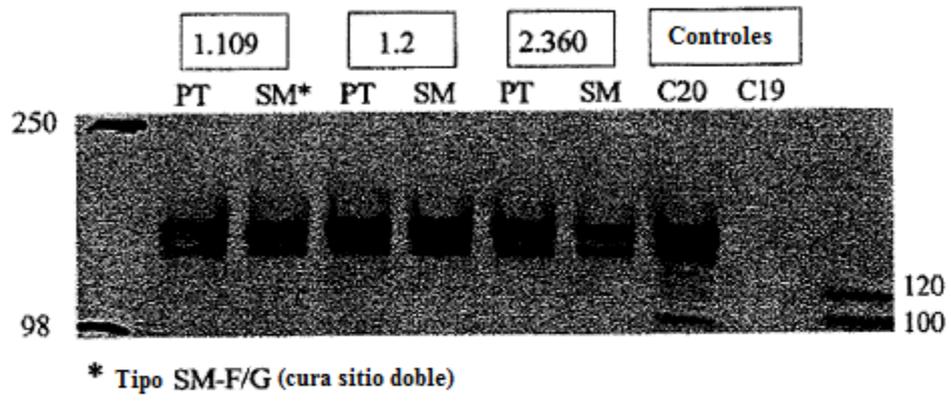


FIGURA 7

cfms ECD humano

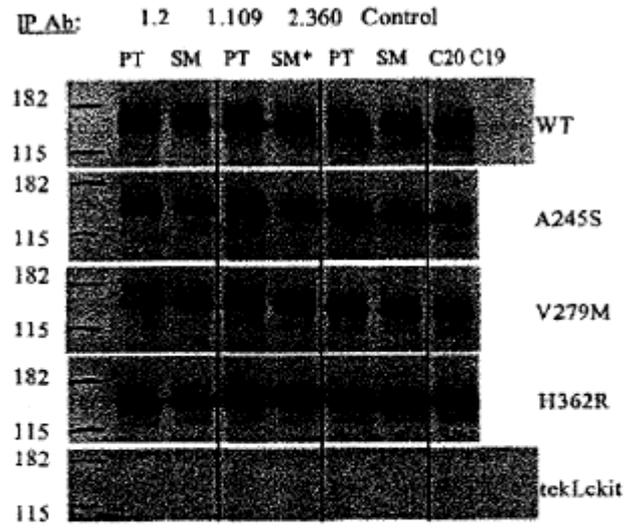
1 MGPGVLLLLL VATAWHGQGI **PVIEPSVPEL** **VVKPGATVTL** **RCVGNGSVEW**
 51 **DGPPSPHWTL** **YSDGSSSILS** **TNNATFQNTG** **TYRCTEPGDP** **LGGSAAIHLY**
 101 **VKDPARPWNV** **LAQEVVVFED** **QDALLPCLLT** **DPVLEAGVSL** **VRVRGRPLMR**
 151 **HTNYSFSPWH** **GFTIHRAKFI** **QSQDYQCSAL** **MGGRKVMSIS** **IRLKVQKVIP**
 201 **GPPALTLVPA** **ELVRIRGEAA** **QIVCSASSVD** *VNFDVFLQHN* *NTKLAIPQQS*
 251 *DFHNNRYQKV* *LTLNLDQVDF* *QHAGNYSCVA* *SNVQGHSTS* *MFFRVVESAY*
 301 *LNLSSQNL* *QEVTVGEGLN* *LKVMVEAYPG* *LQGFNWTYLG* *PFSHQPEPK*
 351 *LANATTKD* *TYRHTFTLSLPR* *LKPSEAGRYS* *FLARNPGGWR* *ALTFELTLRY*
 401 *PPEVSVIWF* *INGSGTLLCA* *ASGYPQPNVT* *WLQCSGHTDR* *CDEAQLQVW*
 451 *DDPYPEVLSQ* *EPFHKVTVQS* *LLTVETLEHN* *QTYECRAHNS* *VSGGSWAFIP*
 501 *ISAGAHTHP* *DE*

Delineado - secuencia señal

Negrita - Secuencia de bucle similar a Ig 1 y 2

Itálica - Secuencia de bucle similar a Ig 3 a 5

FIGURA 8



* 1.109SM-F/G

FIGURA 9

Constructos de N-avidina C-FMS humano

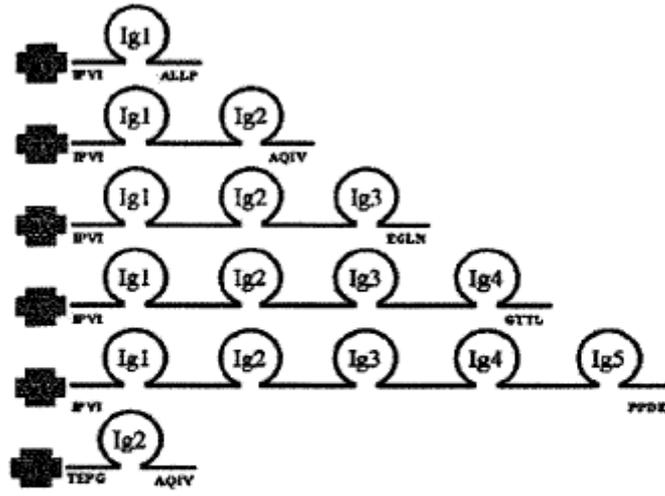


FIGURA 10

Unión de C-fms

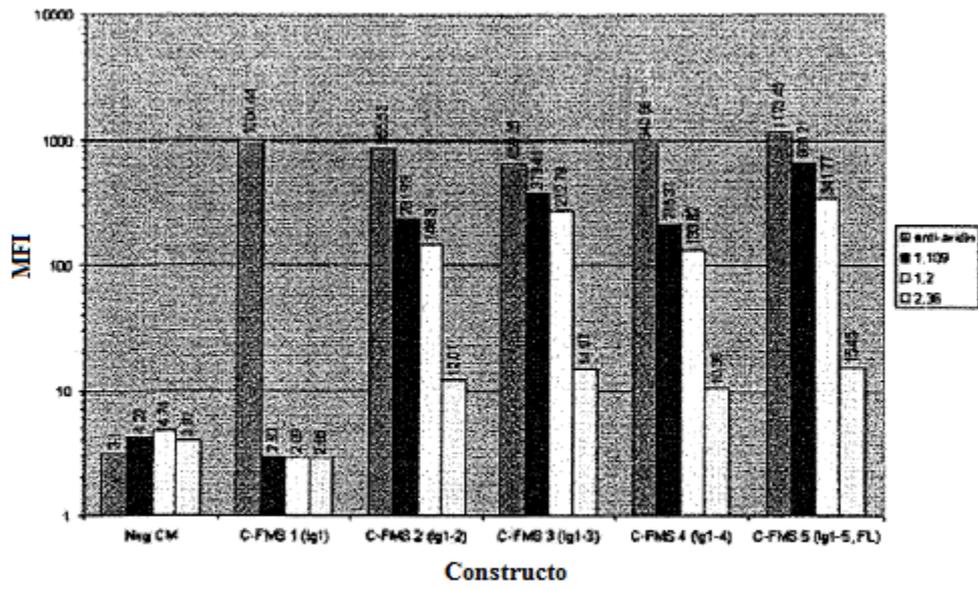


FIGURA 11

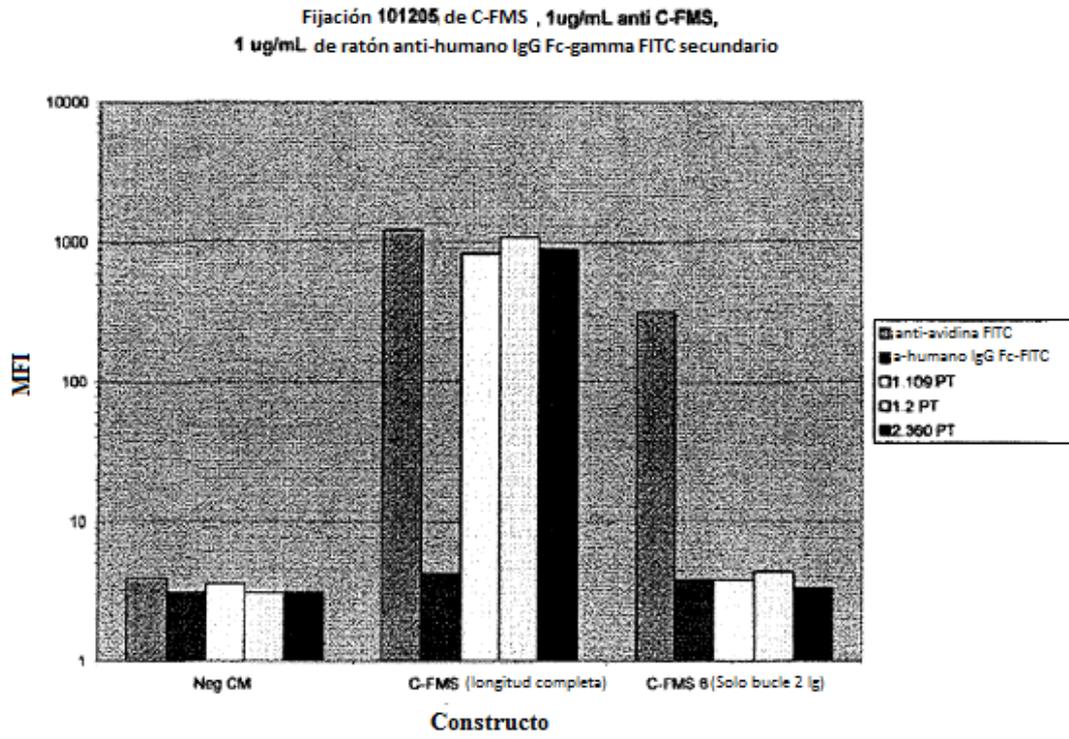


FIGURA 12

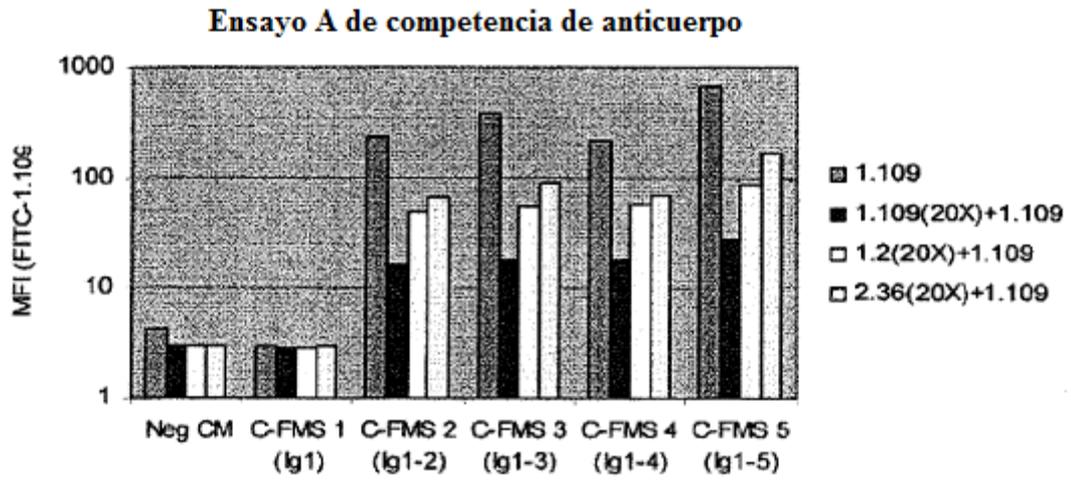


FIGURA 13

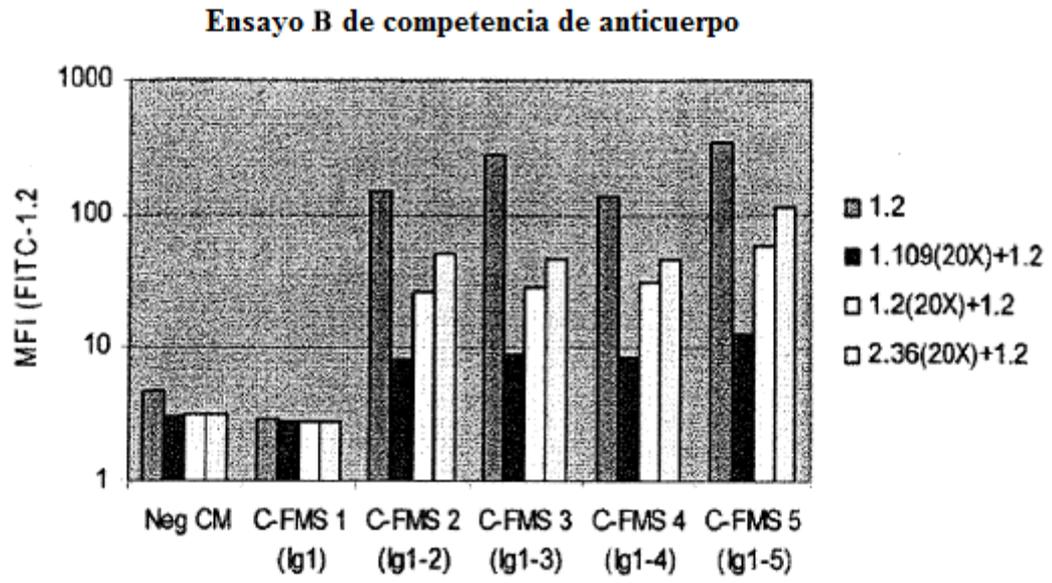


FIGURA 14

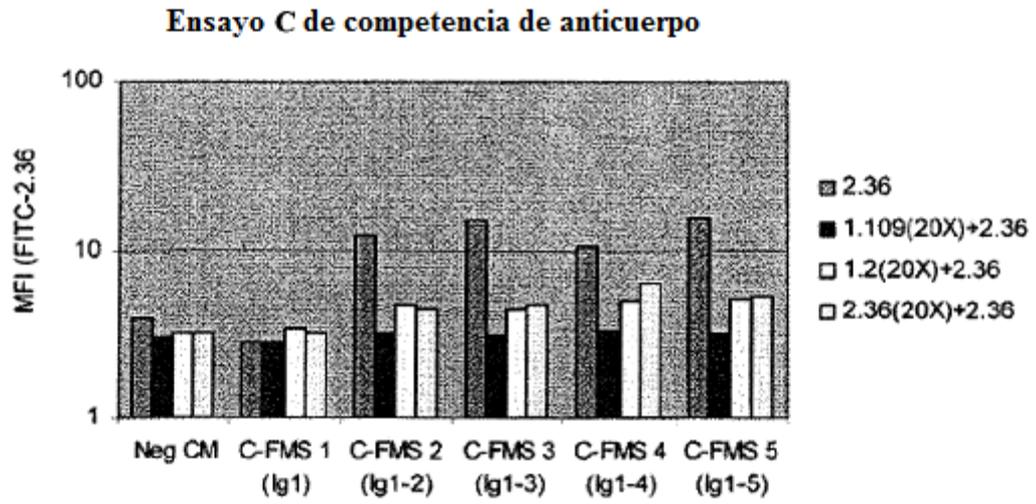
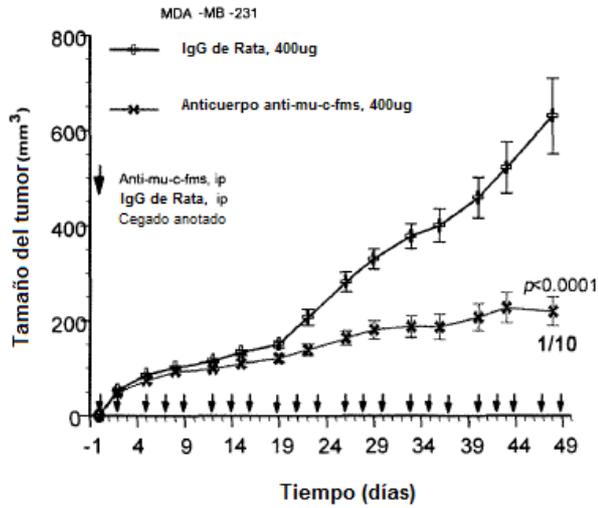


FIGURA 15

Inhibición del crecimiento del tumor con tratamiento de anticuerpo anti-mu-c-fms



AFOG (necrosis), 1X

| | R IgG | Anticuerpo anti-mu-c-fms |
|-------------------------|-------|--------------------------|
| Fración necrótica media | 10.8% | 39.8% |

FIGURA 16

Efecto del anticuerpo anti-*mu-c-fms* vs. Xenoinjertos NCI-H1975 de enfermedad establecida

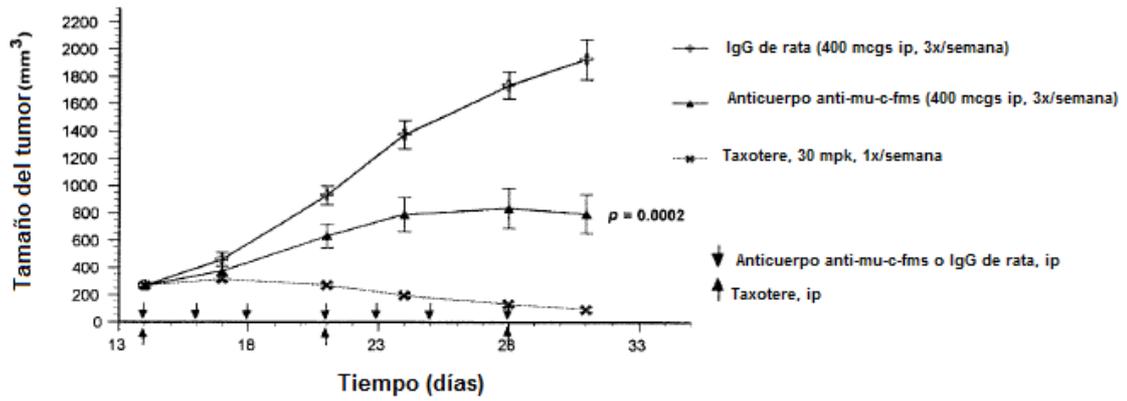


FIGURA 17