

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 682 596**

51 Int. Cl.:

C07K 16/08 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

A61K 39/42 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

C07K 14/005 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.07.2009 E 15194590 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.06.2018 EP 3009449**

54 Título: **Anticuerpos neutralizantes del citomegalovirus humano y uso de los mismos**

30 Prioridad:

16.07.2008 US 81334 P

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

21.09.2018

73 Titular/es:

**INSTITUTE FOR RESEARCH IN BIOMEDICINE
(100.0%)**

**Via Vincenzo Vela 6
6500 Bellinzona, CH**

72 Inventor/es:

**LANZAVECCHIA, ANTONIO y
MACAGNO, ANNALISA**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 682 596 T3

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

DESCRIPCIÓN

Anticuerpos neutralizantes del citomegalovirus humano y uso de los mismos

5 **Antecedentes**

El citomegalovirus humano (hCMV) es un patógeno ampliamente distribuido que puede causar una patología grave en adultos inmunodeprimidos y tras la infección del feto y que se ha visto implicado en enfermedades crónicas como la aterosclerosis. El hCMV infecta múltiples tipos de células, incluidos fibroblastos, células endoteliales, epiteliales y hematopoyéticas [1]. *In vitro*, las cepas atenuadas propagadas de hCMV, que se están desarrollando como vacunas candidatas, han perdido el tropismo por las células endoteliales, al tiempo que conservan la capacidad de infectar fibroblastos [2]. Se cree que dos complejos de glicoproteínas víricas controlan el tropismo celular del hCMV. Parece ser necesario un complejo de glicoproteínas como gH, gL y gO para la infección de fibroblastos, mientras que un complejo de gH, gL y proteínas codificadas por los genes UL131-UL128 está implicado en la infección de células endoteliales, células epiteliales y células dendríticas [2-8].

Las globulinas hiperinmunitarias ya se comercializan para la profilaxis de la enfermedad por hCMV asociada con el trasplante y los datos recientes indican que tienen un efecto terapéutico en mujeres embarazadas [9]. Este enfoque terapéutico está limitado por la baja cantidad de anticuerpo neutralizante que puede transferirse y, por esta razón, sería altamente deseable la disponibilidad de anticuerpos humanos (tales como anticuerpos monoclonales humanos) con alta capacidad neutralizante. Aunque algunos anticuerpos contra los productos de los genes gH, gB y UL128 y UL130 han demostrado *in vitro* actividades neutralizantes [7, 10, 11] y un anticuerpo contra gH se ha evaluado en ensayos clínicos (que se interrumpieron debido a la falta de efectos terapéuticos), la potencia neutralizante de los anticuerpos aislados hasta el momento es modesta. La neutralización por estos anticuerpos se observó a concentraciones de anticuerpo que varían de 0,5 a 20 µg/ml. Además, los métodos actuales generalmente miden la potencia neutralizante de anticuerpos anti-hCMV usando fibroblastos como células diana. Sin embargo, también se sabe que el hCMV causa patología al infectar otros tipos de células tales como células endoteliales, epiteliales y leucocitos. Los anticuerpos conocidos contra UL128 y UL130 muestran una potencia muy baja para neutralizar la infección de células endoteliales [7] y no parece haber ningún anticuerpo monoclonal disponible que sea capaz de neutralizar la infección de células diana no fibroblásticas con alta potencia.

Por lo tanto, existe la necesidad de anticuerpos que neutralicen la infección por hCMV, particularmente la infección por hCMV de células diana no fibroblásticas, con alta potencia, así como la elucidación de las dianas a las que se unen dichos anticuerpos.

35 **Sumario de la invención**

La invención se basa, en parte, en el descubrimiento de nuevos anticuerpos que neutralizan la infección por hCMV con alta potencia, así como nuevos epitopos a los que se unen los anticuerpos de la invención. Por consiguiente, en un aspecto, la invención comprende un anticuerpo y fragmentos de unión al antígeno del mismo que tiene una alta potencia en la neutralización del hCMV.

La invención proporciona un anticuerpo aislado, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, que se une a un epítipo formado por las proteínas del citomegalovirus humano (hCMV) UL130 y UL131A, en el que el anticuerpo o fragmento neutraliza la infección de las células epiteliales humanas por el hCMV y comprende regiones variables de la cadena pesada y ligera que tienen secuencias de aminoácidos al menos 85 % idénticas a las SEQ ID NOs: 61 y 62, respectivamente.

En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena pesada como se expone en las SEQ ID NOs: 49, 50 y 51, respectivamente, y las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena ligera como se expone en las SEQ ID NOs: 52, 53 y 54, respectivamente.

El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención puede comprender secuencias de la región variable de la cadena pesada y ligera como se expone en las SEQ ID NOs: 61 y 62, respectivamente.

El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención puede ser un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo monoclonal humano, un anticuerpo monocatenario, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv o scFv.

60 La invención proporciona además:

- una molécula de ácido nucleico aislada que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el anticuerpo o fragmento de anticuerpo de la invención;
- un vector de expresión que comprende un ácido nucleico de la invención;
- 65 – una célula transformada con un vector de expresión de la invención; y
- una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención

y un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

En una realización, la composición farmacéutica comprende además un segundo anticuerpo, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, que neutraliza la infección por hCMV.

La composición farmacéutica de la composición puede comprender además un segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une a una proteína gH del hCMV, una proteína gB del hCMV gB, una proteína UL128 del hCMV, un segundo epítipo formado por ambas proteínas UL130 y UL131A del hCMV, un epítipo formado por las proteínas UL128, UL130 y UL131A del hCMV, un epítipo formado por las proteínas gH, gL, UL128 y UL130 del hCMV o un epítipo formado por las proteínas gM y gN del hCMV.

La invención proporciona además:

- un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención o una composición farmacéutica de la invención para su uso en un método de tratamiento o prevención de la infección por hCMV;
- el uso anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de la invención en la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir la infección por hCMV; y
- un método para producir anticuerpos de la invención, que comprende (i) cultivar una célula de la invención y (ii) aislar los anticuerpos.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra la tinción de células HEK293T transfectadas con los genes del hCMV UL128, UL130, UL131A, gH y gL, solos o en diferentes combinaciones, mediante anticuerpos monoclonales representativos (15D8, 2C12 y 8I21).

La Figura 2 muestra experimentos de competición cruzada en los que las células HEK293T transfectadas con el gen del hCMV gH (A) o gB (B) se incubaron primero con un anticuerpo competidor no marcado seguido de tinción con un anticuerpo anti-gH o anti-gB biotinilado.

La Figura 3 muestra la tinción de células HEK293T que expresan el gen UL128 VR1814 de tipo silvestre o un gen UL128 pan-mutado por el anticuerpo monoclonal humano 15D8 y un anticuerpo monoclonal de ratón anti-UL128 no competitivo. El gen UL128 pan-mutado contiene sustituciones de la secuencia de VR1814 de tipo silvestre con variantes conocidas descritas en otros aislados clínicos y cepas de laboratorio del hCMV.

Descripción detallada de la invención

La invención se basa, en parte, en el descubrimiento de nuevos anticuerpos que neutralizan la infección por hCMV con alta potencia, así como nuevos epítopos a los que se unen los anticuerpos de la invención. Tales anticuerpos son deseables, ya que solo se requieren bajas concentraciones para neutralizar una cantidad dada de virus. Esto facilita niveles más altos de protección a la vez que se administran cantidades más bajas de anticuerpos. Por consiguiente, en un aspecto, la invención comprende un anticuerpo neutralizante y fragmentos de unión al antígeno del mismo que tienen alta potencia para neutralizar la infección por hCMV. También se divulgan anticuerpos monoclonales humanos y los clones de linfocitos B inmortalizados que secretan tales anticuerpos.

Como se usa en la presente memoria, el término “fragmento” y las expresiones “fragmento de unión al antígeno” y “fragmento de anticuerpo” se usan indistintamente para referirse a cualquier fragmento de un anticuerpo que conserve la actividad de unión al antígeno de los anticuerpos. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen, pero no se limitan a, un anticuerpo monocatenario, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv o scFv.

Como se usa en la presente memoria, la expresión “alta potencia” se usa para referirse a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que neutraliza la infección por hCMV con una CI₉₀ de menos de aproximadamente 2 µg/ml, (es decir, la concentración de anticuerpo requerida para la neutralización del 90 % de un aislado clínico de hCMV es aproximadamente 2 µg/ml o menos, por ejemplo 1,9, 1,8, 1,75, 1,7, 1,6, 1,5, 1,4, 1,3, 1,25, 1,2, 1,15, 1,1 o 1,05 µg/ml o menos). El anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede tener una CI₉₀ de 1 µg/ml o menos (es decir 0,95, 0,9, 0,85, 0,8, 0,75, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,05, 0,01 µg/ml o menos). El anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede tener una CI₉₀ de 0,16 µg/ml o menos (es decir 0,15, 0,125, 0,1, 0,075, 0,05, 0,025, 0,02, 0,015, 0,0125, 0,01, 0,0075, 0,005, 0,004, 0,003, 0,002 µg/ml o menos). El anticuerpo puede neutralizar la infección por hCMV a una concentración de 0,016 µg/ml o menos (es decir a 0,015, 0,013, 0,01, 0,008, 0,005, 0,003, 0,002, 0,001, 0,0005 µg/ml o menos). Esto significa que se requieren solamente concentraciones muy bajas de anticuerpos para una neutralización del 90 % de un aislado clínico de hCMV *in vitro* comparado con la concentración requerida de los anticuerpos conocidos, por ejemplo, MSL-109, 8F9 o 3E3, para la neutralización del mismo título de hCMV. La potencia se puede medir usando un ensayo de neutralización convencional como es conocido por un experto en la materia.

5 La divulgación proporciona un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal o un anticuerpo monoclonal humano, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, que se une a un epítipo de la proteína UL128 del hCMV y neutraliza la infección por hCMV con una CI_{90} de menos de aproximadamente 2 $\mu\text{g/ml}$, por ejemplo 1,9, 1,8, 1,75, 1,7, 1,6, 1,5, 1,4, 1,3, 1,25, 1,2, 1,15, 1,1, 1,05, 1, 0,95, 0,9, 0,85, 0,8, 0,75, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,15, 0,125, 0,1, 0,075, 0,05, 0,025, 0,02, 0,015, 0,0125, 0,01, 0,0075, 0,005, 0,004, 0,003, 0,002, 0,001, 0,0005 $\mu\text{g/ml}$ o menos.

10 La divulgación proporciona un anticuerpo, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, que se une a un epítipo formado por las proteínas gH, gL, UL128 y UL130 del hCMV y neutraliza la infección por hCMV con una CI_{90} de menos de aproximadamente 2 $\mu\text{g/ml}$, por ejemplo 1,9, 1,8, 1,75, 1,7, 1,6, 1,5, 1,4, 1,3, 1,25, 1,2, 1,15, 1,1, 1,05, 1, 0,95, 0,9, 0,85, 0,8, 0,75, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,15, 0,125, 0,1, 0,075, 0,05, 0,025, 0,02, 0,015, 0,0125, 0,01, 0,0075, 0,005, 0,004, 0,003, 0,002, 0,001, 0,0005 $\mu\text{g/ml}$ o menos.

15 La divulgación proporciona un anticuerpo, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, que se une a un epítipo formado por las proteínas UL128, UL130 y UL131A del hCMV, y neutraliza la infección por hCMV con una CI_{90} de menos de aproximadamente 2 $\mu\text{g/ml}$, por ejemplo 1,9, 1,8, 1,75, 1,7, 1,6, 1,5, 1,4, 1,3, 1,25, 1,2, 1,15, 1,1, 1,05, 1, 0,95, 0,9, 0,85, 0,8, 0,75, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,15, 0,125, 0,1, 0,075, 0,05, 0,025, 0,02, 0,015, 0,0125, 0,01, 0,0075, 0,005, 0,004, 0,003, 0,002, 0,001, 0,0005 $\mu\text{g/ml}$ o menos.

20 La divulgación proporciona un anticuerpo, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, que se une a un epítipo formado por las proteínas UL130 y UL131A del hCMV, y neutraliza la infección por hCMV con una CI_{90} de menos de aproximadamente 2 $\mu\text{g/ml}$, por ejemplo 1,9, 1,8, 1,75, 1,7, 1,6, 1,5, 1,4, 1,3, 1,25, 1,2, 1,15, 1,1, 1,05, 1, 0,95, 0,9, 0,85, 0,8, 0,75, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,15, 0,125, 0,1, 0,075, 0,05, 0,025, 0,02, 0,015, 0,0125, 0,01, 0,0075, 0,005, 0,004, 0,003, 0,002, 0,001, 0,0005 $\mu\text{g/ml}$ o menos.

25 La divulgación proporciona un anticuerpo, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, que se une a un epítipo de la proteína gH del hCMV y neutraliza la infección por hCMV con una CI_{90} de menos de aproximadamente 2 $\mu\text{g/ml}$, por ejemplo 1,9, 1,8, 1,75, 1,7, 1,6, 1,5, 1,4, 1,3, 1,25, 1,2, 1,15, 1,1, 1,05, 1, 0,95, 0,9, 0,85, 0,8, 0,75, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,15, 0,125, 0,1, 0,075, 0,05, 0,025, 0,02, 0,015, 0,0125, 0,01, 0,0075, 0,005, 0,004, 0,003, 0,002, 0,001, 0,0005 $\mu\text{g/ml}$ o menos.

30 La divulgación proporciona un anticuerpo, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, que se une a un epítipo de la proteína gB del hCMV y neutraliza la infección por hCMV con una CI_{90} de menos de aproximadamente 2 $\mu\text{g/ml}$, por ejemplo 1,9, 1,8, 1,75, 1,7, 1,6, 1,5, 1,4, 1,3, 1,25, 1,2, 1,15, 1,1, 1,05, 1, 0,95, 0,9, 0,85, 0,8, 0,75, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,15, 0,125, 0,1, 0,075, 0,05, 0,025, 0,02, 0,015, 0,0125, 0,01, 0,0075, 0,005, 0,004, 0,003, 0,002, 0,001, 0,0005 $\mu\text{g/ml}$ o menos.

35 La divulgación proporciona un anticuerpo, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, que se une a un epítipo formado por las proteínas gM y gN del hCMV y neutraliza la infección por hCMV con una CI_{90} de menos de aproximadamente 2 $\mu\text{g/ml}$, por ejemplo 1,9, 1,8, 1,75, 1,7, 1,6, 1,5, 1,4, 1,3, 1,25, 1,2, 1,15, 1,1, 1,05, 1, 0,95, 0,9, 0,85, 0,8, 0,75, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,15, 0,125, 0,1, 0,075, 0,05, 0,025, 0,02, 0,015, 0,0125, 0,01, 0,0075, 0,005, 0,004, 0,003, 0,002, 0,001, 0,0005 $\mu\text{g/ml}$ o menos.

Anticuerpos de la invención

45 Los anticuerpos de la invención se definen en las reivindicaciones. Los anticuerpos tienen una potencia particularmente alta para neutralizar el hCMV. Como se usa en la presente memoria, un "anticuerpo que neutraliza" es aquel que previene, reduce, retrasa o interfiere con la capacidad de un patógeno, por ejemplo, el hCMV, para iniciar y/o perpetuar una infección en un hospedador. Los anticuerpos de la invención y los fragmentos de unión al antígeno de los mismos son capaces de neutralizar la infección por hCMV de diversos tipos de células. En una realización, un anticuerpo de acuerdo con la invención neutraliza la infección de células epiteliales, células retinianas, células endoteliales, células mieloides y células dendríticas. Las composiciones de la invención también pueden neutralizar la infección por hCMV de los fibroblastos y células del estroma mesenquimales. Estos anticuerpos y composiciones pueden usarse como agentes profilácticos o terapéuticos con una formulación apropiada, o como una herramienta de diagnóstico, como se describe en la presente memoria.

50 Los anticuerpos de la invención pueden ser anticuerpos monoclonales, anticuerpos humanos o anticuerpos recombinantes. En una realización, los anticuerpos de la invención son anticuerpos monoclonales, por ejemplo, anticuerpos monoclonales humanos. La invención también proporciona fragmentos de los anticuerpos de la invención que conservan la actividad de unión al antígeno de los anticuerpos y neutralizan la infección por hCMV. Aunque la memoria descriptiva, incluidas las reivindicaciones, puede referirse en algunos sitios explícitamente a fragmento(s) de anticuerpo, variante(s) y/o derivado(s) de anticuerpos, se entiende que el término "anticuerpo" incluye todas las categorías de anticuerpos, concretamente, fragmento(s) de anticuerpo, variante(s) y derivado(s) de anticuerpos.

65 Los anticuerpos de la divulgación y los fragmentos de unión al antígeno de los mismos se pueden unir a una o más proteínas del hCMV. Los anticuerpos se pueden unir a un epítipo formado por una sola proteína del hCMV o por

una combinación de dos o más proteínas del hCMV. Ejemplos de proteínas del hCMV incluyen, pero no se limitan a, productos de genes víricos UL55 (glicoproteína B de la envuelta, "gB"), UL75 (glicoproteína H de la envuelta, "gH"), UL100 (glicoproteína M, "gM"), UL73 (glicoproteína N, "gN"), UL115 (glicoproteína L, "gL"), UL74 (glicoproteína O, "gO"), UL128 (glicoproteína UL128, "UL128"), UL130 (glicoproteína UL130, "UL130") o UL131A (glicoproteína UL131A, "UL131A"). Los anticuerpos se pueden unir a un epítipo formado por una sola proteína del hCMV. Los anticuerpos se pueden unir a un epítipo formado por la combinación de 2, 3 o más proteínas del hCMV.

La invención comprende un anticuerpo, o un fragmento de anticuerpo del mismo, que se une a un epítipo formado por las proteínas del hCMV UL130 y UL131A. Como se usa en la presente memoria, un epítipo formado por UL130 y UL131A significa que el epítipo está formado por las proteínas del hCMV UL130 y UL131A.

En un ejemplo de realización, el anticuerpo, o fragmento de anticuerpo, de la invención está presente en una composición con un segundo anticuerpo, o un fragmento de anticuerpo del mismo, que se une a un epítipo de la proteína UL128 del hCMV, o a un epítipo formado por las proteínas UL128, UL130 y UL131A del hCMV, o a un epítipo formado por las proteínas gH, gL, UL128 y UL130 del hCMV, o a un epítipo de la proteína gH del hCMV, o la proteína gB del hCMV o a un epítipo formado por las proteínas gM y gN del hCMV.

En una realización, el segundo anticuerpo, o un fragmento de anticuerpo del mismo se une a un epítipo de UL128. En otra realización, el segundo anticuerpo, o un fragmento de anticuerpo del mismo, se une a un epítipo formado por UL128, UL130 y UL131A. Como se usa en la presente memoria, un epítipo formado por UL128, UL130 y UL131A significa que el epítipo puede estar formado por las tres proteínas (UL128, UL130 y UL131A) o puede estar formado por una o más proteínas, siendo necesaria la presencia de la otra proteína(s) para la unión del anticuerpo. En otra realización más, el segundo anticuerpo, o un fragmento de anticuerpo del mismo, se une a un epítipo formado por gH, gL, UL128 y UL130. Como se usa en la presente memoria, un epítipo formado por gH, gL, UL128 y UL130 significa que el epítipo puede estar formado por las cuatro proteínas (gH, gL, UL128 y UL130) o puede estar formado por una o más de las cuatro proteínas, siendo necesaria la presencia de la otra proteína(s) para la unión del anticuerpo. En otra realización más, el segundo anticuerpo, o un fragmento de anticuerpo del mismo, se une a un epítipo formado por gM y gN. Como se usa en la presente memoria, un epítipo formado por gM y gN significa que el epítipo puede estar formado tanto por gM como por gN o puede estar formado por una de las dos proteínas, siendo necesaria la presencia de la otra proteína para la unión del anticuerpo.

Se han determinado las secuencias de las cadenas pesadas y las cadenas ligeras de varios ejemplos de anticuerpos, comprendiendo cada una tres CDR en la cadena pesada y tres CDR en la cadena ligera. La posición de los aminoácidos de las CDR se define de acuerdo con el sistema de numeración IMGT [12, 13, 14]. Las secuencias de las CDR, las cadenas pesadas, las cadenas ligeras, así como las secuencias de las moléculas de ácido nucleico que codifican las CDR, las cadenas pesadas y las cadenas ligeras se divulgan en la lista de secuencias. La Tabla 1 proporciona las SEQ ID NOs de las secuencias de las seis CDR de los ejemplos de anticuerpos. Las Tablas 2 y 3 proporcionan las SEQ ID NOs de las secuencias de las cadenas pesada y ligera, respectivamente, de los anticuerpos de ejemplo y la Tabla 4 proporciona las SEQ ID NOs de las secuencias de las moléculas de ácido nucleico que codifican las CDR, las cadenas pesadas y las cadenas ligeras de los anticuerpos.

Tabla 1

Anticuerpo	SEQ ID NOs de CDRH1, CDRH2, CDRH3	SEQ ID NOs de CDRL1, CDRL2, CDRL3
15D8	188, 189, 190	191, 192, 193
15D8 variante 1	188, 204, 205	191, 192, 193
15D8 variante 2	188, 189, 210	191, 192, 193
4N10	1, 2, 3	4, 5, 6
10F7	17, 18, 19	20, 21, 22
10P3	33, 34, 35	36, 37, 38
4I22	49, 50, 51	52, 53, 54
8L13	113, 114, 115	116, 117, 118
2C12	65, 66, 67	68, 69, 70
8C15	81, 82, 83	84, 85, 86
9I6	97, 98, 99	100, 101, 102
7B13	129, 130, 131	132, 133, 134
8J16	145, 146, 147	148, 149, 150
8I21	174, 175, 176	177, 149, 178
7I13	113, 161, 162	163, 149, 164
7H3	316, 317, 318	319, 320, 321
7H3 variante 1	316, 317, 332	319, 320, 321
6B4	336, 337, 338	339, 340, 341
5F1	278, 279, 280	281, 282, 283
10C6	352, 279, 280	281, 282, 283
4H9	296, 297, 298	299, 300, 301

ES 2 682 596 T3

Anticuerpo	SEQ ID NOs de CDRH1, CDRH2, CDRH3	SEQ ID NOs de CDRL1, CDRL2, CDRL3
4H9 variante 1	296, 312, 298	299, 300, 301
11B12	232, 233, 234	235, 149, 236
13H11	216, 217, 218	219, 220, 221
3G16	246, 247, 248	249, 250, 251
2B11	360, 279, 280	281, 282, 361
6L3	262, 263, 264	265, 266, 267

Tabla 2

Anticuerpo	SEQ ID NOs de las cadenas pesadas
15D8	200
15D8 variante 1	208
15D8 variante 2	212
4N10	13
10F7	29
10P3	45
4I22	61
8L13	125
2C12	77
8C15	93
9I6	109
7B13	141
8J16	157
8I21	184
7I13	170
7H3	328
7H3 variante 1	334
6B4	348
5F1	290
5F1 variante 1	294
10C6	357
4H9	308
4H9 variante 1	314
11B12	242
13H11	228
3G16	258
2B11	367
6L3	274

Tabla 3

Anticuerpo	SEQ ID NO de las cadenas ligeras
15D8	201
15D8 variante 1	201
15D8 variante 2	213
4N10	14
10F7	30
10P3	46
4I22	62
8L13	126
2C12	78
8C15	94
9I6	110
7B13	142
8J16	158
8I21	185
7I13	171
7H3	329
7H3 variante 1	329
6B4	349
5F1	291
5F1 variante 1	291

10C6	291
4H9	309
4H9 variante 1	309
11B12	243
13H11	229
3G16	259
2B11	368
6L3	275

Tabla 4

Anticuerpo	SEQ ID NO de los ácidos nucleicos que codifican las CDR, cadenas pesadas, cadenas ligeras y variantes (CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, CDRL3 y <u>variantes; cadenas pesadas y variantes; y cadenas ligeras y variantes</u>)
15D8	194-199 y 206, 207, 211; 202 y 209, 214; 203 y 215
4N10	7-12; 15; 16
10F7	23-28; 31; 32
10P3	39-44; 47; 48
4I22	55-60; 63; 64
8L13	119-124; 127; 128
2C12	71-76; 79; 80
8C15	87-92; 95; 96
9I6	103-108, 111, 112
7B13	135-140; 143; 144
8J16	151-156; 159; 160
8I21	179-182, 155, 183; 186; 187
7I13	165, 166, 167, 168, 155, 169; 172; 173
7H3	322-327 y 333; 330 y 335; 331
6B4	342-347; 350; 351
5F1	284-289; 292 y 295; 293
10C6	353-355, 287, 288, 356; 358; 359
4H9	302-307 y 313; 310 y 315; 311
11B12	237-240, 155, 241; 244; 245
13H11	222-227; 230; 231
3G16	252-257; 260; 261
2B11	362-364; 287, 365, 366; 369; 370
6L3	268-273; 276; 277

- 5 Los anticuerpos o fragmentos de anticuerpos de la divulgación pueden comprender una o más CDR de la cadena pesada o ligera de los anticuerpos de ejemplo de la divulgación. Los ejemplos de anticuerpos o fragmentos de anticuerpos de la divulgación pueden comprender una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 188-193, 204-205, 210, 1-6, 17-22, 33-38, 49-54, 113-118, 65-70, 81-86, 97-102, 129-134, 145-150, 174-178, y 161-164.
- 10 En una realización, los anticuerpos de la invención comprenden una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de una o más de las SEQ ID NOs: 49-51. Por ejemplo, los anticuerpos de la invención comprenden una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO 49 de CHR1, SEQ ID NO: 50 de CHR2, y SEQ ID NO: 51 de CDR3;
- 15 En otra realización más, los anticuerpos de la invención comprenden una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de una o más de las SEQ ID NOs: 52-54. Por ejemplo, los anticuerpos de la invención comprenden una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 52 para CDRL1, la SEQ ID NO: 53 para CDRL2, y la SEQ ID NO: 54 para CDRL3. Los anticuerpos de la divulgación pueden comprender una cadena pesada con una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 % idéntica a la de las SEQ ID NOs: 200, 208, 212, 13, 29, 45, 61,
- 20 125, 77, 93, 109, 141, 157, 184 o 170, y neutralizan la infección por hCMV. En una realización, el anticuerpo se une a un epítipo en la proteína UL128 del hCMV y comprende una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 200, 208 o 212, y neutraliza la infección por hCMV. Un anticuerpo de acuerdo con la divulgación puede comprender una cadena
- 25 pesada que tiene la secuencia indicada en las SEQ ID NO: 200, 208 o 212, y neutraliza la infección por hCMV.

El anticuerpo de la invención se une a un epítipo formado por las proteínas UL130 y UL131A del hCMV y comprende una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61, y

neutraliza la infección por hCMV. En una realización, un anticuerpo de acuerdo con la invención comprende una cadena pesada que tiene la secuencia indicada en la SEQ ID NO: 61, y neutraliza la infección por hCMV.

5 El anticuerpo de la divulgación se puede unir a un epítipo formado por las proteínas UL128, UL130 y UL131A del hCMV y comprende una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 77, 93, 109, 141, 157 o 170 y neutraliza la infección por hCMV. Un anticuerpo de acuerdo con la divulgación puede comprender una cadena pesada que tiene la secuencia indicada en las SEQ ID NO: 77, 93, 109, 141, 157 o 170, y neutralizar la infección por hCMV.

10 El anticuerpo de la divulgación se puede unir a un epítipo formado por las proteínas gH, gL, UL128 y UL130 del hCMV y comprende una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, a al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y neutraliza la infección por hCMV. Un anticuerpo de acuerdo con la divulgación puede comprender una cadena pesada que tiene la secuencia indicada en la SEQ ID NO: 184, y neutraliza la infección por hCMV.

15 Los anticuerpos de la divulgación pueden comprender una cadena ligera con una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 % idéntica a las de las SEQ ID NOs: 201, 213, 14, 30, 46, 62, 126, 78, 94, 110, 142, 158, 185 o 171, y neutraliza la infección por hCMV.

20 El anticuerpo de la divulgación se puede unir a un epítipo en la proteína UL128 del hCMV y comprende una cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 201 o 213, y neutraliza la infección por hCMV. Un anticuerpo de acuerdo con la divulgación puede comprender una cadena ligera que tiene la secuencia indicada en la SEQ ID NO: 201 o 213, y neutraliza la infección por hCMV.

25 El anticuerpo de la invención se une a un epítipo formado por las proteínas hCMV UL130 y UL131A y comprende una cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62, y neutraliza la infección por hCMV. En una realización, un anticuerpo de acuerdo con la invención comprende una cadena ligera que tiene la secuencia indicada en la SEQ ID NO: 62, y neutraliza la infección por hCMV.

30 El anticuerpo de la divulgación se puede unir a un epítipo formado por las proteínas UL128, UL130 y UL131A del hCMV y comprende una cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 78, 94, 110, 142, 158 o 171, y neutraliza la infección por hCMV. Un anticuerpo de acuerdo la divulgación puede comprender una cadena ligera que tiene la secuencia indicada en la SEQ ID NO: 78, 94, 110, 142, 158 o 171, y neutraliza la infección por hCMV.

35 El anticuerpo de la divulgación se une a un epítipo formado por las proteínas gH, gL, UL128 y UL130 del hCMV y comprende una cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 185, y neutraliza la infección por CMVh. Un anticuerpo de acuerdo con la divulgación puede comprender una cadena ligera que tiene la secuencia indicada en la SEQ ID NO: 185, y neutralizar la infección por hCMV.

40 Los anticuerpos o fragmentos de anticuerpos de la divulgación pueden comprender una o más CDR de la cadena pesada o ligera de los anticuerpos a modo de ejemplo de la divulgación. Los anticuerpos o fragmentos de anticuerpos de la divulgación pueden comprender una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 316-321, 332, 336-341, 278-283, 352, 296-301, 312, 232-236, 149, 216-221, 246-251, 360, 361 y 262-267, y neutraliza la infección por hCMV.

45 Los anticuerpos de la divulgación pueden comprender una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de una o más de las SEQ ID NOs: 316-318, 332, 336-338, 278-280, 352, 296-298, 312, 232-234, 216-218, 246-248, 360, 361 y 262-264. Por ejemplo, los anticuerpos de la divulgación comprenden una cadena pesada que comprende SEQ ID NO: 316 para CDRH1, SEQ ID NO: 317 para CDRH2, SEQ ID NO: 318 para CDRH3; SEQ ID NO: 316 para CDRH1, SEQ ID NO: 317 para CDRH2, y SEQ ID NO: 332 para CDRH3; SEQ ID NO: 336 para CDRH1, SEQ ID NO: 337 para CDRH2, SEQ ID NO: 338 para CDRH3; SEQ ID NO: 278 para CDRH1, SEQ ID NO: 279 para CDRH2, SEQ ID NO: 280 para CDRH3; SEQ ID NO: 352 para CDRH1, SEQ ID NO: 279 para CDRH2, SEQ ID NO: 280 para CDRH3; SEQ ID NO: 296 para CDRH1, SEQ ID NO: 297 para CDRH2, SEQ ID NO: 298 para CDRH3; SEQ ID NO: 296 para CDRH1, SEQ ID NO: 312 para CDRH2, SEQ ID NO: 298 para CDRH3; SEQ ID NO: 232 para CDRH1, SEQ ID NO: 233 para CDRH2, SEQ ID NO: 234 para CDRH3; SEQ ID NO: 216 para CDRH1, SEQ ID NO: 217 para CDRH2, SEQ ID NO: 218 para CDRH3; SEQ ID NO: 246 para CDRH1, SEQ ID NO: 247 para CDRH2, SEQ ID NO: 248 para CDRH3; y SEQ ID NO: 360 para CDRH1, SEQ ID NO: 279 para CDRH2, SEQ ID

NO: 280 para CDRH3; y SEQ ID NO: 262 para CDRH1, SEQ ID NO: 263 para CDRH2, SEQ ID NO: 264 para CDRH3.

5 Los anticuerpos de la divulgación pueden comprender una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de una o más de las SEQ ID NOs: 319-321, 339-341, 281-283, 299-301, 149, 235, 236, 219-221, 249-251, 265-267. Por ejemplo, los anticuerpos de la divulgación comprenden una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 319 para CDRL1, SEQ ID NO: 320 para CDRL2, SEQ ID NO: 321 para CDRL3; SEQ ID NO: 339 para CDRL1, SEQ ID NO: 340 para CDRL2, SEQ ID NO: 341 para CDRL3; SEQ ID NO: 281 para CDRL1, SEQ ID NO: 282 para CDRL2, SEQ ID NO: 283 para CDRL3; SEQ ID NO: 299 para CDRL1, SEQ ID NO: 300 para CDRL2, SEQ ID NO: 301 para CDRL3; SEQ ID NO: 235 para CDRL1, SEQ ID NO: 149 para CDRL2, SEQ ID NO: 236 para CDRL3; SEQ ID NO: 219 para CDRL1, SEQ ID NO: 220 para CDRL2, SEQ ID NO: 221 para CDRL3; SEQ ID NO: 249 para CDRL1, SEQ ID NO: 250 para CDRL2, SEQ ID NO: 251 para CDRL3; y SEQ ID NO: 281 para CDRL1, SEQ ID NO: 282 para CDRL2, SEQ ID NO: 361 para CDRL3; y SEQ ID NO: 265 para CDRL1, SEQ ID NO: 266 para CDRL2, SEQ ID NO: 267 para CDRL3.

15 Los anticuerpos de la divulgación pueden comprender una cadena pesada con una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 % idéntica a la de las SEQ ID NOs: 328, 334, 348, 290, 294, 357, 308, 314, 242, 228, 258, 367 o 274, y neutraliza la infección por hCMV.

20 El anticuerpo de la divulgación se puede unir a un epítipo en la proteína gB del hCMV y comprende una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 328, 334, 348, 290, 294, 308, 357, 314 o 367, y neutraliza la infección por hCMV. Un anticuerpo de acuerdo con la divulgación puede comprender una cadena pesada que tiene la secuencia indicada en las SEQ ID NO: 328, 334, 348, 290, 294, 308, 357, 314 o 367 y neutraliza la infección por hCMV.

30 El anticuerpo de la divulgación puede unirse a un epítipo en la proteína gH del hCMV y comprende una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 242, 228 o 258, y neutraliza la infección por hCMV. Un anticuerpo de acuerdo con la divulgación puede comprender una cadena pesada que tiene la secuencia indicada en la SEQ ID NO: 242, 228 o 258, y neutraliza la infección por hCMV.

35 El anticuerpo de la divulgación se puede unir a un epítipo formado por las proteínas gM y gN del hCMV y comprende una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 274, y neutraliza la infección por hCMV. Un anticuerpo de acuerdo con la divulgación puede comprender una cadena pesada que tiene la secuencia indicada en la SEQ ID NO: 274, y neutraliza la infección por hCMV.

40 Los anticuerpos de la divulgación pueden comprender una cadena ligera con una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 % idéntica a la de las SEQ ID NOs: 329, 349, 291, 309, 243, 229, 259, 368 o 275, y neutraliza la infección por hCMV.

45 El anticuerpo de la divulgación puede unirse a un epítipo en la proteína gB del hCMV y comprende una cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 329, 349, 291, 309 o 368 y neutraliza la infección por hCMV. Un anticuerpo de acuerdo con la divulgación puede comprender una cadena ligera que tiene la secuencia indicada en las SEQ ID NO: 329, 349, 291, 309 o 368, y neutraliza la infección por hCMV.

50 El anticuerpo de la divulgación puede unirse a un epítipo en la proteína gH de hCMV y comprende una cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 243, 229 o 259, y neutraliza la infección por hCMV. Un anticuerpo de acuerdo con la divulgación puede comprender una cadena ligera que tiene la secuencia indicada en las SEQ ID NO: 243, 229 o 259, y neutraliza la infección por hCMV.

55 El anticuerpo de la divulgación se puede unir a un epítipo formado por las proteínas gM y gN del hCMV y comprende una cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos un 90 %, al menos 95 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 275, y neutraliza la infección por hCMV. Un anticuerpo de acuerdo con la divulgación puede comprender una cadena ligera que tiene la secuencia indicada en la SEQ ID NO: 275, y neutraliza la infección por hCMV.

65

El anticuerpo de la invención no es MSL-109, 8F9, 3E3 o R551A. El anticuerpo de la invención no es 1F11, 2F4, 5A2 o 6G4, divulgados en las solicitudes de los Estados Unidos números 11/969.104 y 12/174.568.

5 Ejemplos de anticuerpos incluyen, pero no se limitan a, 15D8, 4N10, 10F7, 10P3, 4122, 8L13, 2C12, 8C15, 916, 7B13, 8J16, 8121, 7113, 7H3, 6B4, 5F1, 10C6, 4H9, 2B11, 11B12, 13H11, 3G16 y 6L3. Un ejemplo de anticuerpo de la invención es 4122.

10 Las variantes de 15D8 que neutralizan la infección por hCMV consisten en una variante de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO: 208 ("variante 1 de 15D8") y la SEQ ID NO: 212 ("variante 2 de 15D8") y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO: 213 (variante 2 de 15D8). Las secuencias de ácido nucleico que codifican las variantes de la cadena pesada se indican en la SEQ ID NO: 209 (variante 1 de 15D8) y en la SEQ ID NO: 214 (variante 2 de 15D8). El ácido nucleico que codifica la cadena ligera variante se indica en la SEQ ID NO: 215 (variante 2 de 15D8). Por lo tanto, se divulgan anticuerpos que comprenden las cadenas pesadas variantes de 15D8 (SEQ ID NOs: 208, 212) y la cadena ligera variante (SEQ ID NO: 213) que neutralizan la infección por hCMV.

20 Como se usa en la presente memoria, el término "15D8" se utiliza para referirse a cualquiera y/o todas las variantes de 15D8 que neutralizan la infección por hCMV, por ejemplo, aquellas con las cadenas pesadas que corresponden a las SEQ ID NOs: 208 y 212 y con las cadenas ligeras que corresponden a la SEQ ID NO: 213.

25 Una variante de 7H3 que neutraliza la infección por hCMV consiste en una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO: 334 ("variante 1 de 7H3"). La secuencia de ácido nucleico que codifica la cadena pesada variante se indica en la SEQ ID NO: 335. Por lo tanto, se divulgan los anticuerpos que comprenden la cadena pesada variante de 7H3 (SEQ ID NO: 334) que neutralizan la infección por hCMV.

30 Como se usa en la presente memoria, el término "7H3" se usa para referirse a cualquiera y/o todas las variantes de 7H3 que neutralizan la infección por hCMV, por ejemplo, aquellas con las cadenas pesadas que corresponden a la SEQ ID NO: 334.

35 Una variante de 5F1 que neutraliza la infección por hCMV consiste en una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO: 294 ("variante 1 de 5F1"). La secuencia de ácido nucleico que codifica la cadena pesada variante se indica en la SEQ ID NO: 295. Por lo tanto, se divulgan los anticuerpos que comprenden la cadena pesada variante de 5F1 (SEQ ID NO: 294) que neutralizan la infección por hCMV.

40 Como se usa en la presente memoria, el término "5F1" se usa para referirse a cualquiera y/o todas las variantes de 5F1 que neutralizan la infección por hCMV, por ejemplo, aquellas con las cadenas pesadas que corresponden a la SEQ ID NO: 294.

45 Una variante de 4H9 que neutraliza la infección por hCMV consiste en una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO: 314 ("variante 1 de 4H9"). La secuencia de ácido nucleico que codifica la cadena pesada variante se indica en la SEQ ID NO: 315. Por lo tanto, se divulgan los anticuerpos que comprenden la cadena pesada variante de 4H9 (SEQ ID NO: 314), que neutralizan la infección por hCMV.

50 Como se usa en la presente divulgación, el término "4H9" se usa para referirse a cualquiera y/o a todas las variantes de 4H9 que neutralizan la infección por hCMV, por ejemplo, aquellas con las cadenas pesadas que corresponden a la SEQ ID NO: 314.

55 Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR del anticuerpo 15D8 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano. Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR de la variante 1 del anticuerpo 15D8 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano. Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR de la variante 2 del anticuerpo 15D8 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano. Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR del anticuerpo 8121 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano.

60 Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR del anticuerpo 4N10 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano. Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR del anticuerpo 10F7 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano. Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR del anticuerpo 10P3 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano. Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR del anticuerpo 4122 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano. Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR del

anticuerpo 8L13 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano.

Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR del anticuerpo 2C12 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano. Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR del anticuerpo 8C15 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano. Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR del anticuerpo 916 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano. Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR del anticuerpo 7B13 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano. Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR del anticuerpo 8J16 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano. Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, comprende todas las CDR del anticuerpo 7113 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano.

Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR del anticuerpo 7H3 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano. Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR de la variante 1 del anticuerpo 7H3 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano. Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo puede comprender todas las CDR del anticuerpo 6B4 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano. Un anticuerpo de la divulgación o fragmento de unión al antígeno del mismo puede comprender todas las CDR del anticuerpo 5F1 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano. Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR del anticuerpo 10C6 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano. Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR del anticuerpo 4H9 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano. Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR de la variante 1 del anticuerpo 4H9 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano. Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR del anticuerpo 2B11 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano.

Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR del anticuerpo 11B12 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador. Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR del anticuerpo 13H11 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano. Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR del anticuerpo 3G16 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano. Un anticuerpo de la divulgación, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede comprender todas las CDR del anticuerpo 6L3 como se indica en la Tabla 1, y neutraliza la infección por hCMV en un hospedador humano.

La divulgación comprende además un anticuerpo, o fragmento del mismo, que se une a un epítipo capaz de unirse a un anticuerpo de la invención, o un anticuerpo que compite con un anticuerpo de la invención.

Los anticuerpos de la divulgación también incluyen moléculas de anticuerpos híbridos que comprenden una o más CDR de un anticuerpo de la invención y una o más CDR de otro anticuerpo para el mismo epítipo. En una realización, dichos anticuerpos híbridos comprenden tres CDR de un anticuerpo de la invención y tres CDR de otro anticuerpo para el mismo epítipo. Ejemplos de anticuerpos híbridos comprenden i) las tres CDR de la cadena ligera de un anticuerpo de la invención y las tres CDR de la cadena pesada de otro anticuerpo para el mismo epítipo, o ii) las tres CDR de la cadena pesada de un anticuerpo de la divulgación y las tres CDR de la cadena ligera de otro anticuerpo para el mismo epítipo.

En otro aspecto, la invención también incluye secuencias de ácido nucleico que codifican las cadenas ligeras y pesadas y las CDR de los anticuerpos de la presente invención. Las secuencias de ácido nucleico de acuerdo con la divulgación incluyen secuencias de ácido nucleico que tienen al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 %, o al menos 99 % de identidad con el ácido nucleico que codifica una cadena pesada o ligera de un anticuerpo de la invención. Una secuencia de ácido nucleico de la divulgación puede tener la secuencia de un ácido nucleico que codifica una CDR de cadena pesada o ligera de un anticuerpo de la invención. Por ejemplo, se divulga una secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la invención comprende las secuencias de ácido nucleico de las SEQ ID NOs: 55-60, 63 y 64. Una secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia que es al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a las secuencias de ácidos nucleicos de las SEQ ID NOs mencionadas anteriormente.

Debido a la redundancia del código genético, existirán variantes de estas secuencias que codifican las mismas secuencias de aminoácidos. Estas variantes están incluidas dentro del alcance de la invención.

5 También se divulgan anticuerpos variantes que neutralizan la infección por hCMV. Por consiguiente, también se divulgan las variantes de las secuencias mencionadas en la solicitud. Tales variantes incluyen variantes naturales generadas por mutación somática *in vivo* durante la respuesta inmunitaria o *in vitro* tras el cultivo de clones de linfocitos B inmortalizados. En otra alternativa, pueden surgir variantes debido a la degeneración del código genético, como se ha mencionado anteriormente o pueden producirse debido a errores en la transcripción o traducción.

10 Se pueden obtener variantes adicionales de las secuencias de anticuerpo que tienen una afinidad y/o potencia mejoradas usando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, las sustituciones de aminoácidos se pueden usar para obtener anticuerpos con afinidad mejorada adicional. En otra alternativa, se puede usar la optimización de codones de la secuencia de nucleótidos para mejorar la eficacia de la traducción en los sistemas de expresión para la producción del anticuerpo. Además, también se divulgan polinucleótidos que comprenden una secuencia optimizada para la especificidad del anticuerpo o actividad neutralizante mediante la aplicación de un método de evolución dirigida a cualquiera de las secuencias de ácido nucleico de la invención.

20 Las secuencias variantes de los anticuerpos que neutralizan la infección por hCMV pueden compartir el 70 % o más (es decir 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 %, 99 % o más) de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias presentadas en la solicitud. Dicha identidad de secuencia se puede calcular con respecto a la longitud completa de la secuencia de referencia (es decir la secuencia presentada en la solicitud). El porcentaje de identidad, como se menciona en la presente memoria, se puede determinar utilizando la versión 2.1.3 de BLAST con los parámetros predeterminados especificados por el NCBI (Centro Nacional de Información Biotecnológica) [matriz Blosum 62; penalización por apertura de hueco = 11 y penalización por extensión de hueco = 1].

25 Además se incluyen dentro del alcance de la invención los vectores de expresión, que comprenden una secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la invención. Las células transformadas con tales vectores también se incluyen dentro del alcance de la invención. Los ejemplos de tales células incluyen, pero no se limitan a, células eucariotas, por ej., células de levadura, células animales o células de plantas. En una realización, las células son de mamífero, por ej., células humanas, CHO, HEK293T, PER.C6, NS0, mieloma o hibridoma.

30 La divulgación también se refiere a anticuerpos monoclonales que se unen a un epítipo capaz de unirse a los anticuerpos de la invención, que incluyen, pero no se limitan a, un anticuerpo monoclonal seleccionado del grupo que consiste en 15D8, 4N10, 10F7, 10P3, 4122, 8L13, 2C12, 8C15, 916, 7B13, 8J16, 8121, 7113, 7H3, 6B4, 5F1, 10C6, 4H9, 11B12, 13H11, 3G16, 2B11 y 6L3.

40 Los anticuerpos monoclonales y recombinantes son particularmente útiles en la identificación y purificación de los polipéptidos individuales u otros antígenos contra los que están dirigidos. Los anticuerpos tienen una utilidad adicional y es que pueden emplearse como reactivos en inmunoensayos, radioinmunoensayos (RIA) o ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA). En estas aplicaciones, los anticuerpos se pueden marcar con un reactivo detectable analíticamente tal como un radioisótopo, una molécula fluorescente o una enzima. Los anticuerpos también se pueden usar para la identificación y caracterización molecular (mapeo de epítipos) de antígenos.

45 Los anticuerpos se pueden acoplar a un fármaco para su administración a un sitio de tratamiento o se pueden acoplar un marcador detectable para facilitar la formación de imágenes de un sitio que comprende células de interés, tales como células infectadas con el hCMV. Los métodos de acoplamiento de anticuerpos a fármacos y marcadores detectables son bien conocidos en la técnica, como lo son los métodos para la formación de imágenes usando marcadores detectables. Los anticuerpos marcados se pueden emplear en una amplia variedad de ensayos, que emplean una amplia variedad de marcadores. La detección de la formación de un complejo anticuerpo-antígeno entre un anticuerpo y un epítipo de interés (un epítipo de hCMV) puede facilitarse uniendo una sustancia detectable al anticuerpo. Los medios de detección adecuados incluyen el uso de marcadores tales como radionucleidos, enzimas, coenzimas, fluorescentes, quimioluminiscentes, cromógenos, sustratos o cofactores de enzimas, inhibidores de enzimas, complejos de grupos prostéticos, radicales libres, partículas, colorantes y similares. Los ejemplos de enzimas adecuadas incluyen peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, β -galactosidasa o acetilcolinesterasa; ejemplos de complejos de grupos prostéticos adecuados incluyen estreptavidina/biotina y avidina/biotina; ejemplos de materiales fluorescentes adecuados incluyen umbeliferona, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, diclorotriazinilamina fluoresceína, cloruro de dansilo o ficoeritrina; un ejemplo de un material luminescente es luminol; ejemplos de materiales bioluminiscentes incluyen luciferasa, luciferina y aequorina; y ejemplos de material radiactivo adecuado incluyen ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S , o ^3H . Dichos reactivos marcados pueden usarse en una variedad de ensayos bien conocidos, tales como radioinmunoensayos, inmunoensayos enzimáticos, por ejemplo, ELISA, inmunoensayos fluorescentes y similares. Véase por ejemplo, referencias 15-18.

65 Un anticuerpo puede conjugarse con un resto terapéutico tal como una citotoxina, un agente terapéutico o un ion de metal radiactivo o radioisótopo. Los ejemplos de radioisótopos incluyen, pero no están limitados a, 1-131, 1-123, 1-125, Y-90, Re-188, Re-186, At-211, Cu-67, Bi-212, Bi-213, Pd-109, Tc-99, In-111 y similares. Dichos conjugados de

anticuerpos pueden usarse para modificar una respuesta biológica dada; la fracción de fármaco no debe interpretarse como limitada a agentes terapéuticos químicos clásicos. Por ejemplo, la fracción de fármaco puede ser una proteína o polipéptido que posee una actividad biológica deseada. Dichas proteínas pueden incluir, por ejemplo, una toxina tal como abrina, ricina A, exotoxina de *Pseudomonas* o la toxina de la difteria.

5 Las técnicas para conjugar dicha fracción terapéutica a anticuerpos son bien conocidas. Véase, por ejemplo, Arnon *et al.* (1985) "Monoclonal Antibodies for Immunotargeting of Drugs in Cancer Therapy", en *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, ed. Reisfeld *et al.* (Alan R. Liss, Inc.), páginas 243-256; ed. Hellstrom *et al.* (1987) "Antibodies for Drug Delivery", en *Controlled Drug Delivery*, ed. Robinson *et al.* (2ª ed, Marcel Dekker, Inc.), páginas 623-653; 10 Thorpe (1985) "Antibody Carriers of Cytotoxic Agents in Cancer Therapy: A Review", en *Monoclonal Antibodies '84: Biological and Clinical Applications*, ed. Pinchera *et al.* páginas. 475-506 (Editrice Kurtis, Milano, Italia, 1985)); "Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody in Cancer Therapy", en *Monoclonal Antibodies for Cancer Detection and Therapy* ed. Baldwin *et al.* (Academic Press, Nueva York, 1985), páginas 303-316; y Thorpe *et al.* (1982) *Immunol. Rev.* 62:119-158.

15 En otra alternativa, un anticuerpo se puede conjugar con un segundo anticuerpo para formar un heteroconjugado de anticuerpo como se describe en la referencia 19. Además, se pueden usar enlazadores entre los marcadores y los anticuerpos de la invención [20]. Los anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos se pueden marcar directamente con yodo, indio o irio radiactivos u otra partícula radiactiva conocida en la técnica [21]. El 20 tratamiento puede consistir en una combinación de tratamiento con anticuerpos conjugados y no conjugados administrados simultáneamente o posteriormente [22, 23].

Los anticuerpos también pueden unirse a un soporte sólido.

25 Adicionalmente, los anticuerpos, o fragmentos de anticuerpos funcionales de los mismos, pueden modificarse químicamente mediante conjugación covalente con un polímero para, por ejemplo, aumentar su semivida circulante, por ejemplo. Los ejemplos de polímeros y los métodos para unirlos a los péptidos se muestran en las referencias 24-27. En algunas realizaciones, los polímeros se pueden seleccionar de polioles polioxietilados y polietilenglicol (PEG). El PEG es soluble en agua a temperatura ambiente y tiene la fórmula general: $R(O-CH_2-CH_2)_n O-R$ donde R 30 puede ser hidrógeno, o un grupo protector tal como un grupo alquilo o alcohol. En una realización, el grupo protector puede tener entre 1 y 8 átomos de carbono. En una realización adicional, el grupo protector es metilo. El símbolo n es un número entero positivo. En una realización, n está entre 1 y 1.000. En otra realización, n está entre 2 y 500. En una realización, el PEG tiene un peso molecular promedio entre 1.000 y 40.000. En una realización adicional, el PEG tiene un peso molecular entre 2.000 y 20.000. En una realización adicional, el PEG tiene un peso molecular 35 entre 3.000 y 12.000. En una realización, el PEG tiene por lo menos un grupo hidroxilo. En otra realización, el PEG tiene un grupo hidroxilo terminal. En otra realización más, es el grupo hidroxilo terminal el que se activa para que reaccione con un grupo amino libre sobre el inhibidor. Sin embargo, se entenderá que el tipo y la cantidad de los grupos reactivos se pueden variar para conseguir un PEG/anticuerpo conjugado covalentemente.

40 Los polioles polioxietilados solubles en agua también son útiles. Incluyen sorbitol polioxietilado, glucosa polioxietilada, glicerol polioxietilado (POG) y similares. En una realización se usa POG. Sin estar ligados a ninguna teoría y debido a que la cadena principal de glicerol del glicerol polioxietilado es la misma cadena principal que existe naturalmente en, por ejemplo, animales y seres humanos en mono-, di-, triglicéridos, esta ramificación no necesariamente se consideraría como un agente extraño por el cuerpo. En algunas realizaciones, el POG tiene un 45 peso molecular en el mismo intervalo que PEG. La estructura de POG se muestra en la referencia 28, y en la referencia 24 se encuentra una descripción de los conjugados POG/IL-2.

Otro sistema de administración de fármacos que se puede usar para aumentar la semivida circulatoria es el liposoma. Los métodos para preparar sistemas de administración de liposomas se describen en las referencias 29, 50 30 y 31. En la técnica se conocen otros sistemas de administración de fármacos y se describen en, por ejemplo, las referencias 32 y 33.

Los anticuerpos de la invención se pueden proporcionar en forma purificada. Normalmente, el anticuerpo estará presente en una composición que está sustancialmente exenta de otros polipéptidos, por ejemplo, donde menos del 90 % (en peso), habitualmente menos del 60 % y más habitualmente menos del 50 % de la composición está 55 compuesta por otros polipéptidos.

Los anticuerpos pueden ser inmunógenos en hospedadores no humanos (o heterólogos) por ejemplo en ratones. En particular, los anticuerpos pueden tener un idiotipo que es inmunógeno en hospedadores no humanos, pero no en un hospedador humano. Los anticuerpos para uso humano incluyen aquellos que no se pueden aislar fácilmente de hospedadores tales como ratones, cabras, conejos, ratas, mamíferos que no son primates, etc. y que generalmente no se pueden obtener por humanización o a partir de ratones xeno. 60

Los anticuerpos pueden ser de cualquier isotipo (por ej. IgA, IgG, IgM es decir una cadena pesada α , γ o μ), pero generalmente será IgG. Dentro del isotipo IgG, los anticuerpos pueden ser de la subclase IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. Los anticuerpos pueden tener una cadena ligera κ o λ . 65

Producción de anticuerpos

Los anticuerpos monoclonales se pueden preparar mediante cualquier método conocido en la técnica. La metodología general para fabricar anticuerpos monoclonales utilizando tecnología de hibridoma es bien conocida [34, 35]. Preferiblemente, se usa el método alternativo de la inmortalización del EBV descrito en la referencia 36.

Usando el método descrito en la referencia 36, se pueden transformar los linfocitos B que producen el anticuerpo de la invención con el EBV en presencia de un activador de linfocitos B policlonal. La transformación con el EBV es una técnica estándar y puede adaptarse fácilmente para incluir activadores de linfocitos B policlonales.

Se pueden añadir estimulantes adicionales de crecimiento y diferenciación celular durante la etapa de transformación para mejorar aún más la eficacia. Estos estimulantes pueden ser citocinas tales como IL-2 e IL-15. En un aspecto, durante la etapa de inmortalización se añade IL-2 para mejorar más la eficacia de la inmortalización, aunque su uso no es esencial.

Los linfocitos B inmortalizados producidos usando estos métodos pueden cultivarse posteriormente usando métodos conocidos en la técnica y aislarse los anticuerpos a partir de los mismos.

Los anticuerpos también se pueden preparar cultivando células de plasma individuales en placas de cultivo de micropocillos usando el método descrito en la Solicitud de Patente del Reino Unido 0819376.5. Además, a partir de cultivos de células plasmáticas individuales, se puede extraer ARN y se puede realizar la PCR de las células individuales usando métodos conocidos en la técnica. Las regiones VH y VL de los anticuerpos se pueden amplificar por RT-PCR, secuenciar y clonar en un vector de expresión que a continuación se transfecta en células HEK293T u otras células del hospedador. La clonación del ácido nucleico en vectores de expresión, la transfección de las células hospedadoras, el cultivo de las células hospedadoras transfectadas y el aislamiento del anticuerpo producido se puede realizar usando cualquier método conocido por los expertos en la materia.

Los anticuerpos monoclonales se pueden purificar adicionalmente, si se desea, usando filtración, centrifugación y diversos métodos cromatográficos tales como HPLC o cromatografía de afinidad. Las técnicas para la purificación de anticuerpos monoclonales, que incluyen técnicas para producir anticuerpos de calidad farmacéutica, son bien conocidas en la técnica.

Se pueden obtener fragmentos de anticuerpos monoclonales a partir de anticuerpos monoclonales mediante métodos que incluyen digestión con enzimas, tales como pepsina o papaína, y/o mediante escisión de enlaces disulfuro por reducción química. En otra alternativa, se pueden obtener fragmentos de los anticuerpos monoclonales por clonación y expresión de parte de las secuencias de las cadenas pesada o ligera. Los "fragmentos" de anticuerpos pueden incluir fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂ y Fv. La invención también abarca los fragmentos Fv monocatenarios (scFv) derivados de las cadenas pesada y ligera de un anticuerpo monoclonal de la invención, por ej., la invención incluye un scFv que comprende las CDR de un anticuerpo de la invención. También están incluidos monómeros y dímeros de cadena pesada o ligera, así como anticuerpos monocatenarios, por ejemplo, el Fv monocatenario en el cual los dominios variables de la cadena pesada y ligera están unidos por un enlazador peptídico.

Se pueden usar técnicas convencionales de biología molecular para preparar secuencias de ADN que codifican los anticuerpos o fragmentos de los anticuerpos de la presente invención. Las secuencias de ADN deseadas se pueden sintetizar completamente o parcialmente usando técnicas de síntesis de oligonucleótidos. La mutagénesis dirigida al sitio y las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se pueden usar según convenga.

Se puede usar cualquier sistema de célula hospedadora/vector adecuado para la expresión de las secuencias de ADN que codifican las moléculas de anticuerpo o fragmentos de las mismas. Se pueden usar sistemas bacterianos, por ejemplo, *E. coli* y otros sistemas microbianos, en parte, para la expresión de fragmentos de anticuerpos tales como fragmentos Fab y F(ab')₂ y especialmente fragmentos Fv y fragmentos de anticuerpos monocatenarios, por ejemplo, Fvs monocatenarios. Se pueden usar sistemas de expresión en células hospedadoras eucariotas, por ejemplo, de mamífero para la producción de moléculas de anticuerpo más grandes, que incluyen moléculas de anticuerpo completas. Las células hospedadoras de mamífero adecuadas incluyen células CHO, HEK293T, PER.C6, NS0, mieloma o hibridoma.

La presente invención también proporciona un método para la producción de una molécula de anticuerpo de acuerdo con la presente invención que comprende cultivar una célula hospedadora que comprende un vector de la presente invención en condiciones adecuadas para conseguir la expresión de la proteína a partir del ADN que codifica la molécula de anticuerpo de la presente invención y aislar la molécula de anticuerpo.

Una molécula de anticuerpo puede comprender solo un polipéptido de la cadena pesada o ligera, en cuyo caso solo se necesita usar una secuencia codificante de polipéptido de la cadena pesada o ligera para transfectar las células hospedadoras. Para la producción de productos que comprenden tanto cadenas pesadas como ligeras, la línea celular puede transfectarse con dos vectores, un primer vector que codifica un polipéptido de la cadena ligera y un

segundo vector que codifica un polipéptido de la cadena pesada. Como alternativa, se puede usar un único vector, incluyendo el vector secuencias que codifican polipéptidos de la cadena ligera y de la cadena pesada.

- 5 Como alternativa, los anticuerpos pueden producirse i) expresando una secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la invención en una célula, y ii) aislando el producto de anticuerpo expresado. Adicionalmente, el método puede incluir iii) purificar el anticuerpo.

Selección y aislamiento de linfocitos B

- 10 Los linfocitos B transformados pueden seleccionarse con el fin de obtener aquellos que producen anticuerpos de la especificidad de antígeno deseada, y a continuación pueden producirse clones de linfocitos B individuales a partir de las células positivas.

- 15 La etapa de selección puede llevarse a cabo mediante ELISA, tinción de tejidos o células (incluyendo células transfectadas), un ensayo de neutralización o uno de varios otros métodos conocidos en la técnica para identificar la especificidad de antígeno deseada. El ensayo se puede seleccionar basándose en el reconocimiento de antígeno simple, o se puede seleccionar basándose adicionalmente en una función deseada, por ej., para seleccionar anticuerpos neutralizantes en lugar de solo anticuerpos que se unen a antígenos, seleccionar anticuerpos que puedan cambiar las características de las células diana, como sus cascadas de señalización, su forma, su tasa de crecimiento, su capacidad de influir en otras células, su respuesta a la influencia por otras células o por otros reactivos o por un cambio en las condiciones, su estado de diferenciación, etc.

- 20 La etapa de clonación para separar clones individuales de la mezcla de células positivas se puede llevar a cabo usando dilución limitante, micromanipulación, deposición de células individuales mediante clasificación celular u otro método conocido en la técnica.

- 25 Los clones de linfocitos B inmortalizados de la divulgación se pueden usar de diferentes maneras por ej., como fuente de anticuerpos monoclonales, como fuente de ácido nucleico (ADN o ARNm) que codifica un anticuerpo monoclonal de interés, para investigación, etc.

- 30 La divulgación proporciona una composición que comprende linfocitos de memoria B inmortalizados, en la que las células producen anticuerpos con alta potencia neutralizante específica del hCMV, y en la que los anticuerpos se producen a razón de ≥ 5 pg por célula por día. La divulgación también proporciona una composición que comprende clones de un linfocito de memoria B inmortalizado, en la que los clones producen un anticuerpo monoclonal con una alta afinidad específica por el hCMV, y en la que el anticuerpo se produce a razón de ≥ 5 pg por célula por día. Preferiblemente, dichos clones producen un anticuerpo monoclonal con una alta potencia para neutralizar la infección por hCMV.

- 35 Ejemplos de clones de linfocitos B inmortalizados de acuerdo con la divulgación incluyen, pero no se limitan a, 15D8, 4N10, 10F7, 10P3, 4122, 8L13, 2C12, 8C15, 916, 7B13, 8J16, 8I21, 7113, 7H3, 6B4, 5F1, 10C6, 4H9, 11B12, 13H11, 3G16, 2B11 y 6L3.

Epítomos

- 45 Como se ha mencionado anteriormente, los anticuerpos pueden usarse para cartografiar los epítomos a los que se unen. Los inventores han descubierto que los diversos anticuerpos que neutralizan la infección por hCMV de células endoteliales, células epiteliales, células retinianas y células dendríticas, están dirigidos hacia epítomos en la proteína del hCMV UL128, epítomos formados por las proteínas del hCMV UL130 y UL131A, epítomos formados por las proteínas del hCMV UL128, UL130 y UL131A, epítomos formados por las proteínas del hCMV gH, gL, UL128 y UL130, gB, gH, o epítomos formados por las proteínas del hCMV gM y gN. Los epítomos a los que se unen los anticuerpos de la divulgación pueden ser lineales (continuos) o conformacionales (discontinuos) y pueden estar formados por una sola proteína del hCMV o por la combinación de 2, 3 o más proteínas del hCMV.

- 50 Los epítomos reconocidos por los anticuerpos de la presente divulgación pueden tener varios usos. El epítomo y mimotopos de los mismos en forma purificada o sintética se pueden usar para provocar respuestas inmunitarias (es decir como una vacuna, o para la producción de anticuerpos para otros usos) o para seleccionar suero del paciente para obtener anticuerpos que inmunoreaccionan con el epítomo o mimotopos de los mismos. En una realización, dicho epítomo o mimotopo, o antígeno que comprende dicho epítomo o mimotopo, se puede usar como una vacuna para provocar una respuesta inmunitaria. Los anticuerpos y fragmentos de anticuerpos también se pueden usar en un método para controlar la calidad de las vacunas. En particular, los anticuerpos pueden usarse para comprobar que el antígeno en una vacuna contiene el epítomo inmunogénico específico en la conformación correcta.

- 55 El epítomo también puede ser útil para la selección de ligandos que se unen a dicho epítomo. Dichos ligandos incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos; incluidos los de camellos, tiburones y otras especies, fragmentos de anticuerpos, péptidos, productos de tecnología de presentación en fagos, aptámeros, adnectinas o fragmentos de otras proteínas víricas o celulares, pueden bloquear el epítomo y así prevenir la infección.

Expresión recombinante

Los linfocitos de memoria B inmortalizados también se pueden usar como una fuente de ácido nucleico para la clonación de genes de anticuerpos para la expresión recombinante posterior. La expresión de fuentes recombinantes es más común para fines farmacéuticos que la expresión de linfocitos B o hibridomas por ej. por razones de estabilidad, reproducibilidad, facilidad de cultivo, etc.

Por lo tanto, la divulgación proporciona un método para preparar una célula recombinante, que comprende las etapas de: (i) obtener uno o más ácidos nucleicos (por ej., genes de la cadena pesada y/o ligera) del clon de linfocitos B que codifica el anticuerpo de interés; y (ii) insertar el ácido nucleico en un hospedador de expresión para permitir la expresión del anticuerpo de interés en ese hospedador de interés.

De forma similar, la divulgación proporciona un método para preparar una célula recombinante, que comprende las etapas de: (i) secuenciar el ácido o ácidos nucleicos del clon de linfocitos B que codifica el anticuerpo de interés; y (ii) usar la información de la secuencia de la etapa (i) para preparar el ácido o ácidos nucleicos para su inserción en un hospedador de expresión para permitir la expresión del anticuerpo de interés en ese hospedador. El ácido nucleico se puede, aunque no es necesario, manipular entre las etapas (i) y (ii) para introducir sitios de restricción, cambiar el uso de codones y/u optimizar las secuencias reguladoras de transcripción y/o traducción.

La divulgación también proporciona un método para preparar una célula recombinante, que comprende la etapa de transformar una célula hospedadora con uno o más ácidos nucleicos que codifican un anticuerpo monoclonal de interés, en el que los ácidos nucleicos son ácidos nucleicos que se derivaron de un clon de linfocitos B inmortalizado. . Por lo tanto, los procedimientos para preparar primero el o los ácidos nucleicos y luego usarlos para transformar una célula hospedadora pueden realizarse en diferentes momentos por diferentes personas en diferentes lugares (por ej. en diferentes países).

Estas células recombinantes pueden usarse luego para fines de expresión y cultivo. Son particularmente útiles para la expresión de anticuerpos para producción farmacéutica a gran escala. También se pueden usar como el principio activo de una composición farmacéutica. Se puede utilizar cualquier técnica de cultivo adecuada, que incluye, pero no se limita a, cultivo estático, cultivo en botella giratoria, fluido de ascitis, cartucho de biorreactor de fibra hueca, minifermentador modular, tanque agitado, cultivo de microvehículos, perfusión de núcleo cerámico, etc.

Los métodos para obtener y secuenciar genes de inmunoglobulina de linfocitos B son bien conocidos en la técnica (por ej., ver referencia 37).

El hospedador de expresión es preferiblemente una célula eucariota, que incluye células de levadura y animales, particularmente células de mamífero (por ej., células CHO, células NS0, células humanas tales como células PER.C6 [Crucell; referencia 38] o HKB-11 [Bayer; referencias 39 y 40], células de mieloma [41 y 42], etc.), así como células vegetales. Los hospedadores de expresión preferidos pueden glicosilar el anticuerpo, particularmente con estructuras de carbohidratos que no son inmunógenas en los seres humanos. En una realización, el hospedador de expresión es capaz de crecer en medios sin suero. En una realización adicional, el hospedador de expresión es capaz de crecer en cultivo sin la presencia de productos derivados de animales.

El hospedador de expresión se puede cultivar para dar una línea celular.

La divulgación proporciona un método para preparar una o más moléculas de ácido nucleico (por ej., genes de la cadena pesada y ligera) que codifican un anticuerpo de interés, que comprende las etapas de: (i) preparar un clon de linfocitos B inmortalizado; (ii) obtener del clon de linfocitos B ácido nucleico que codifica el anticuerpo de interés. La divulgación también proporciona un método para obtener una secuencia de ácido nucleico que codifica un anticuerpo de interés, que comprende las etapas de: (i) preparar un clon de linfocitos B inmortalizado de acuerdo con la invención; (ii) secuenciar el ácido nucleico del clon de linfocitos B que codifica el anticuerpo de interés.

La divulgación también proporciona un método para preparar una molécula o moléculas de ácido nucleico que codifica un anticuerpo de interés, que comprende la etapa de obtener el ácido nucleico a partir de un clon de linfocitos B que se ha obtenido a partir de un linfocito B transformado de la invención. Por lo tanto, los procedimientos para obtener primero el clon de linfocitos B y luego preparar el ácido o ácidos nucleicos a partir de este se pueden realizar en momentos muy diferentes por diferentes personas y en diferentes lugares (por ej., en diferentes países).

La divulgación proporciona un método para preparar un anticuerpo (por ej., para uso farmacéutico), que comprende las etapas de: (i) obtener y/o secuenciar uno o más ácidos nucleicos (por ej., genes de la cadena pesada y ligera) del clon de linfocitos B seleccionado que expresa el anticuerpo de interés; (ii) insertar el o los ácidos nucleicos en o usar el o los ácidos nucleicos para preparar un hospedador de expresión que pueda expresar el anticuerpo de interés; (iii) cultivar o subcultivar el hospedador de expresión en condiciones en las que se exprese el anticuerpo de interés; y, opcionalmente, (iv) purificar el anticuerpo de interés.

La divulgación también proporciona un método para preparar un anticuerpo que comprende las etapas de: cultivar o subcultivar una población de células hospedadoras de expresión en condiciones en las que se expresa el anticuerpo de interés y, opcionalmente, purificar el anticuerpo de interés, en el que dicha población de células hospedadoras de expresión se ha preparado (i) proporcionando ácido o ácidos nucleicos del linfocito B seleccionado que codifica el anticuerpo de interés que es producido por una población de linfocitos de memoria B preparados como se describió anteriormente, (ii) insertando el ácido o ácidos nucleicos en un hospedador de expresión que puede expresar el anticuerpo de interés, y (iii) cultivando o subcultivando hospedadores de expresión que comprenden dichos ácidos nucleicos insertados para producir dicha población de células hospedadoras de expresión. Por lo tanto, los procedimientos para preparar primero el hospedador de expresión recombinante y luego cultivarlo para expresar el anticuerpo pueden realizarse en momentos muy diferentes por diferentes personas y en diferentes lugares (por ej., en diferentes países).

Además, las líneas celulares que expresan ejemplos de anticuerpos de la invención, 4N10, 2C12, 8C15, 8121, 6B4, 10C6, 4H9, 11B12, 3G16 y 6L3 se depositaron en el Advanced Biotechnology Center (ABC), Largo Rossana Benzi 10, 16132 Génova (Italia), conforme a los términos del Tratado de Budapest, el 9 de julio de 2008, (con los números de depósito PD 08009, PD 08007, PD 08006, PD 08005, PD 08004, PD 08014, PD 08013, PD 08011, PD 08012, y PD 08010, respectivamente) y una línea de linfocitos B inmortalizada que expresa 7H3 se depositó el 16 de julio de 2008 con el número de depósito PD 08017. También se divulga un anticuerpo, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, expresado a partir de las líneas celulares anteriores, así como los anticuerpos, y fragmentos de unión al antígeno del mismo, con la misma secuencia de aminoácidos que la expresada a partir de las líneas celulares anteriores.

Estos depósitos se proporcionan para la comodidad de los expertos en la materia y no son una admisión de que tales depósitos se requieran para practicar la invención ni que las realizaciones equivalentes no estén dentro del conocimiento de la técnica a la vista de la presente divulgación. La disponibilidad pública de estos depósitos no es una concesión de una licencia para hacer, usar o vender los materiales depositados bajo esta u otras patentes.

Composiciones farmacéuticas

La invención proporciona una composición farmacéutica que contiene los anticuerpos y/o fragmentos de anticuerpos de la invención y/o el ácido nucleico que codifica dichos anticuerpos. Una composición farmacéutica también puede contener un vehículo farmacéuticamente aceptable para permitir la administración. El vehículo no debe inducir la producción de anticuerpos perjudiciales para el individuo que recibe la composición y no debe ser tóxico. Los vehículos adecuados pueden ser macromoléculas grandes, de metabolismo lento, tales como proteínas, polipéptidos, liposomas, polisacáridos, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos, aminoácidos poliméricos, copolímeros de aminoácidos y partículas víricas inactivas.

Se pueden usar sales farmacéuticamente aceptables, por ejemplo sales de ácidos minerales, tales como hidroclouros, hidrobromuros, fosfatos y sulfatos, o sales de ácidos orgánicos, tales como acetatos, propionatos, malonatos y benzoatos.

Los vehículos farmacéuticamente aceptables en composiciones terapéuticas pueden contener adicionalmente líquidos tales como agua, solución salina, glicerol y etanol. Adicionalmente, sustancias auxiliares, tales como agentes humectantes o emulsionantes o sustancias tamponantes del pH, pueden estar presentes en tales composiciones. Tales vehículos permiten que las composiciones farmacéuticas se formulen como comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, pastas y suspensiones, para su ingestión por el paciente.

Las formas de administración pueden incluir aquellas formas adecuadas para administración parenteral, por ej., por inyección o infusión, por ejemplo mediante inyección en bolo o infusión continua. Cuando el producto es para inyección o infusión, puede adoptar la forma de una suspensión, solución o emulsión en un vehículo oleoso o acuoso y puede contener agentes de formulación, tales como agentes de suspensión, conservantes, estabilizantes y/o dispersantes. Como alternativa, la molécula de anticuerpo puede estar en forma seca, para su reconstitución antes del uso con un líquido estéril apropiado.

Una vez formuladas, las composiciones de la invención se pueden administrar directamente al sujeto. En una realización, las composiciones están adaptadas para administración a sujetos humanos.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden administrarse por cualquier vía que incluyen, entre otras, la vía oral, intravenosa, intramuscular, intraarterial, intramedular, intraperitoneal, intratecal, intraventricular, transdérmica, transcutánea, tópica, subcutánea, intranasal, enteral, sublingual, intravaginal o rectal. Los hiposprays también pueden usarse para administrar las composiciones farmacéuticas de la invención. Generalmente, las composiciones terapéuticas se pueden preparar como inyectables, ya sea como soluciones líquidas o como suspensiones. Asimismo se pueden preparar formas sólidas adecuadas para solución o suspensión en vehículos líquidos antes de la inyección.

65

La administración directa de las composiciones generalmente se realizará por inyección subcutánea, intraperitoneal, intravenosa o intramuscular, o se administrará al espacio intersticial de un tejido. Las composiciones también se pueden administrar en una lesión. El tratamiento de dosificación puede ser un esquema de dosis única o un esquema de dosis múltiple. Los productos farmacéuticos a base de anticuerpos conocidos pueden servir de orientación en cuanto a la frecuencia de administración por ej., si un medicamento debe ser administrado diariamente, semanalmente, mensualmente, etc. La frecuencia y la dosis también pueden depender de la gravedad de los síntomas.

Las composiciones de la invención se pueden preparar de diversas formas. Por ejemplo, las composiciones se pueden preparar como inyectables, como soluciones líquidas o suspensiones. También se pueden preparar formas sólidas adecuadas para solución o suspensión en vehículos líquidos antes de la inyección (por ej., una composición liofilizada, como Synagis™ y Herceptin™, para la reconstitución con agua estéril que contiene un conservante). La composición puede prepararse para administración tópica por ej., como una pomada, crema o polvo. La composición puede prepararse para administración oral por ej., como un comprimido o cápsula, como un aerosol, o como un jarabe (opcionalmente con sabor). La composición puede prepararse para administración pulmonar por ej., como inhalador, usando un polvo fino o un aerosol. La composición puede prepararse como un supositorio o pesario. La composición puede prepararse para administración nasal, aural u ocular por ej., como gotas. La composición puede estar en forma de kit, diseñada de modo que una composición combinada se reconstituya justo antes de la administración a un paciente. Por ejemplo, un anticuerpo liofilizado se puede proporcionar en forma de kit con agua estéril o un tampón estéril.

Se apreciará que el principio activo en la composición será una molécula de anticuerpo, un fragmento de anticuerpo o variantes y derivados de los mismos. Como tal, será susceptible a la degradación en el tracto gastrointestinal. Por lo tanto, si la composición se va a administrar mediante una ruta que usa el tracto gastrointestinal, la composición necesitará contener agentes que protejan al anticuerpo contra la degradación pero que liberen el anticuerpo una vez que se haya absorbido del tracto gastrointestinal.

Una descripción completa de vehículos farmacéuticamente aceptables se presenta en Gennaro (2000) Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 20ª edición, ISBN: 0683306472.

Las composiciones farmacéuticas de la invención generalmente tienen un pH entre 5,5 y 8,5, en algunas realizaciones esto puede estar entre 6 y 8, y en realizaciones adicionales aproximadamente 7. El pH puede mantenerse mediante el uso de un tampón. La composición puede ser estéril y/o apirógena. La composición puede ser isotónica con respecto a los seres humanos. En una realización, las composiciones farmacéuticas de la invención se suministran en envases herméticamente cerrados.

Las composiciones farmacéuticas incluirán una cantidad efectiva de uno o más anticuerpos y/o uno o más ácidos nucleicos, es decir una cantidad que es suficiente para tratar, mejorar o prevenir una enfermedad o afección deseada, o para exhibir un efecto terapéutico detectable. Los efectos terapéuticos también incluyen la reducción de los síntomas físicos. La cantidad eficaz precisa para cualquier sujeto particular dependerá de su tamaño y estado de salud, la naturaleza y el alcance de la afección, y los fármacos o combinación de fármacos seleccionados para la administración. La cantidad efectiva para una situación dada se determina mediante experimentación de rutina y se determinará a juicio del médico. Para los fines de la presente invención, una dosis eficaz generalmente será de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg, o de aproximadamente 0,05 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg de las composiciones de la presente invención en el individuo al que se administra. Los productos farmacéuticos a base de anticuerpos conocidos pueden servir de orientación a este respecto, por ej., Herceptin™ se administra por infusión intravenosa de una solución de 21 mg/ml, con una dosis de carga inicial de 4 mg/kg de peso corporal y una dosis de mantenimiento semanal de 2 mg/kg de peso corporal; Rituxan™ se administra semanalmente a 375 mg/m²; etc.

En una realización, las composiciones pueden incluir más de uno (por ej., 2, 3, 4, 5, etc.) anticuerpos de la divulgación para proporcionar un efecto terapéutico aditivo o sinérgico. En otra realización, la composición puede comprender uno o más (por ej., 2, 3, 4, 5, etc.) anticuerpos de la divulgación y uno o más (por ej., 2, 3, 4, 5, etc.) anticuerpos adicionales que neutralizan la infección por hCMV.

Por ejemplo, un anticuerpo puede unirse a un epítipo formado por las proteínas del hCMV UL130 y UL131A, mientras que otro se puede unir a un epítipo de la proteína del hCMV UL128, un epítipo diferente formado por UL130 y UL131A, un epítipo formado por UL128, UL130 y UL131A, un epítipo formado por gH, gL, UL128 y UL130, gB, gH, gL, gM, gN, gO, o un epítipo formado por gM y gN. Sin estar ligados a ninguna teoría, un anticuerpo puede dirigirse al mecanismo que media la infección de fibroblastos, mientras que el otro anticuerpo puede estar dirigido al mecanismo que media la infección de células endoteliales. Para un efecto clínico óptimo, puede ser ventajoso abordar ambos mecanismos de infección por hCMV y su mantenimiento.

La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende dos o más anticuerpos, en la que el primer anticuerpo es específico de un primer epítipo UL128, y el segundo anticuerpo es específico de un segundo epítipo UL128, una combinación de UL130 y UL131A, una combinación de UL128, UL130 y UL131A, una

combinación de gH, gL, UL128 y UL130, gB, gH, gL, gM, gN, gO, o una combinación de gM y gN.

En una realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende dos o más anticuerpos, en la que el primer anticuerpo es específico de un primer epítipo de una combinación de UL130 y 131A, y el segundo anticuerpo es específico de UL128, un segundo epítipo de una combinación de UL130 y 131A, una combinación de UL128, UL130 y UL131A, una combinación de gH, gL, UL128 y UL130, gB, gH, o una combinación de gM y gN.

La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende dos o más anticuerpos, en la que el primer anticuerpo es específico de un primer epítipo de una combinación de UL128, UL130 y UL131A, y el segundo anticuerpo es específico de UL128, una combinación de UL130 y UL131A, un segundo epítipo de una combinación de UL128, UL130 y UL131A, una combinación de gH, gL, UL128 y UL130, gB, gH, gL, gM, gN, gO, o una combinación de gM y gN.

La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende dos o más anticuerpos, en la que el primer anticuerpo es específico de un primer epítipo de una combinación de gH, gL, UL128, UL130 y UL131A, y el segundo anticuerpo es específico de UL128, una combinación de UL130 y UL131A, una combinación de UL128, UL130 y UL131A, un segundo epítipo de una combinación de gH, gL, UL128 y UL130, gB, gH, gL, gM, gN, gO, o una combinación de gM y gN.

La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende dos o más anticuerpos, en la que el primer anticuerpo es específico de un primer epítipo gB, y el segundo anticuerpo es específico de UL128, una combinación de UL130 y UL131A, una combinación de UL128, UL130 y UL131A, una combinación de gH, gL, UL128 y UL130, un segundo epítipo gB, gH, gL, gM, gN, gO, o una combinación de gM y gN.

La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende dos o más anticuerpos, en la que el primer anticuerpo es específico de un primer epítipo gH, y el segundo anticuerpo es específico de UL128, una combinación de UL130 y UL131A, una combinación de UL128, UL130 y UL131A, una combinación de gH, gL, UL128 y UL130, gB, un segundo epítipo de gH, gL, gM, gN, gO, o una combinación de gM y gN.

La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende dos o más anticuerpos, en la que el primer anticuerpo es específico de un primer epítipo de una combinación de gM y gN, y el segundo anticuerpo es específico de UL128, una combinación de UL130 y UL131A, una combinación de UL128, UL130 y UL131A, una combinación de gH, gL, UL128 y UL130, gB, gH, gL, gM, gN, gO, o un segundo epítipo de una combinación de gM y gN.

Los ejemplos de anticuerpos para su uso en una composición farmacéutica que se unen a un epítipo de la proteína UL128 del hCMV incluyen, pero no se limitan a, 15D8. Los ejemplos de anticuerpos para su uso en una composición farmacéutica que se unen a un epítipo formado por las proteínas del hCMV UL130 y UL131A incluyen, pero no se limitan a, 4N10, 10F7, 10P3, 4I22, 8L13, 1F11, 2F4 y 5A2 (véase la Solicitud de los Estados Unidos N.º 11/ 969.104, presentada el 3 de enero de 2008). Los ejemplos de anticuerpos para su uso en una composición farmacéutica que se unen a un epítipo formado por las proteínas del hCMV UL128, UL130 y UL131A incluyen, pero no se limitan a, 2C12, 7B13, 7113, 8C15, 8J16, 916 y 6G4 (véase la solicitud de los Estados Unidos N.º 12/174.568, presentada el 16 de julio de 2008). Los ejemplos de anticuerpos para su uso en una composición farmacéutica que se unen a un epítipo formado por las proteínas del hCMV gH, gL, UL128 y UL130 incluyen, pero no se limitan a, 8I21. Los ejemplos de anticuerpos de la invención para su uso en una composición farmacéutica que se unen a un epítipo de la proteína del hCMV gB incluyen, pero no se limitan a, 7H3, 10C6, 5F1, 6B4, 4H9 y 2B11. Los ejemplos de anticuerpos para su uso en una composición farmacéutica que se unen a un epítipo de la proteína del hCMV gH incluyen, pero no se limitan a, 11B12, 13H11 y 3G16. Los ejemplos de anticuerpos de la invención para su uso en una composición farmacéutica que se unen a un epítipo formado por las proteínas del hCMV gM y gN incluyen, pero no se limitan a, 6L3. La invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende dos o más anticuerpos, en la que el primer anticuerpo es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo de la invención y el segundo anticuerpo es un anticuerpo conocido actualmente en la técnica, o descubierto posteriormente, que neutraliza la infección por hCMV. Los ejemplos de tales anticuerpos incluyen, pero no se limitan a, MSL-109, 8F9 o 3E3.

La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 15D8 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 15D8 variante 1 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 15D8 variante 2 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 8I21 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 2C12 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La divulgación proporciona una

- composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 8C15 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 916 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 7B13 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 8J16 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 7113 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 10 La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 4N10 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 10F7 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 10P3 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 4122 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 8L13 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 20 La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 7H3 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 7H3 variante 1 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 10C6 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 5F1 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 6B4 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 4H9 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 4H9 variante 1 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 2B11 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 35 La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 13H11 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 11B12 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 3G16 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo 6L3 o un fragmento de unión al antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En una realización, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden comprender los anticuerpos anteriores de la invención o fragmentos de unión al antígeno de los mismos, como el único principio activo. La composición farmacéutica puede comprender 2 o más, por ej., 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más de los anticuerpos anteriores o fragmento de unión al antígeno del mismo. Como se describe en la presente memoria, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden comprender también un segundo anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, que neutraliza la infección por hCMV.

50 Los anticuerpos de la invención se pueden administrar (combinados o por separado) con otros compuestos terapéuticos por ej., con compuestos quimioterapéuticos, con radioterapia, etc. Los compuestos terapéuticos preferidos incluyen compuestos antiviricos tales como ganciclovir, foscarnet y ciclofovir. Dicha terapia de combinación proporciona una mejora aditiva o sinérgica a la eficacia terapéutica con respecto a los agentes terapéuticos individuales cuando se administran solos. El término "sinergia" se usa para describir un efecto combinado de dos o más agentes activos que es mayor que la suma de los efectos individuales de cada agente activo respectivo. Por lo tanto, cuando el efecto combinado de dos o más agentes da como resultado la "inhibición sinérgica" de una actividad o proceso, se pretende que la inhibición de la actividad o proceso sea mayor que la suma de los efectos inhibidores de cada agente activo respectivo. La expresión "efecto terapéutico sinérgico" se refiere a un efecto terapéutico observado con una combinación de dos o más terapias en las que el efecto terapéutico (medido por cualquiera de varios parámetros) es mayor que la suma de los efectos terapéuticos individuales observados con las respectivas terapias individuales.

Los anticuerpos se pueden administrar a aquellos pacientes que previamente no han mostrado respuesta al tratamiento de la infección por hCMV, es decir que han demostrado ser resistentes al tratamiento anti-hCMV. Tal tratamiento puede incluir tratamiento previo con un agente antivirico. Esto puede ser debido, por ejemplo, a la infección con una cepa del hCMV resistente a los antiviricos.

En las composiciones de la invención que incluyen anticuerpos de la invención, los anticuerpos pueden representar al menos el 50 % en peso (por ej., 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 %, 99 % o más) de la proteína total en la composición. Los anticuerpos están por lo tanto en forma purificada.

5 La divulgación proporciona un método para preparar un producto farmacéutico, que comprende las etapas de: (i) preparar un anticuerpo de la invención; y (ii) mezclar el anticuerpo purificado con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.

10 La divulgación también proporciona un método para preparar un producto farmacéutico, que comprende la etapa de mezclar un anticuerpo con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, en la que el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal que se ha obtenido a partir de un linfocito B transformado de la divulgación. Por lo tanto, los procedimientos para obtener primero el anticuerpo monoclonal y luego preparar el producto farmacéutico pueden realizarse en momentos muy diferentes por diferentes personas y en diferentes lugares (por ej., en diferentes países).

15 Como una alternativa a la administración de anticuerpos o linfocitos B con fines terapéuticos, es posible administrar ácido nucleico (generalmente ADN) que codifica el anticuerpo monoclonal (o fragmento activo del mismo) de interés a un sujeto, de tal modo que el ácido nucleico se puede expresar en el sujeto *in situ* para proporcionar un efecto terapéutico deseado. La terapia génica y los vectores de administración de ácidos nucleicos adecuados son conocidos en la técnica.

20 Las composiciones de la divulgación pueden ser composiciones inmunógenas, y en algunas realizaciones pueden ser composiciones de vacuna que comprenden un antígeno que comprende un epítipo de la proteína del hCMV UL128, formadas por las proteínas del hCMV UL130 y UL131A, formadas por las proteínas del hCMV UL128, UL130 y UL131A, formadas por las proteínas del hCMV gH, gL, UL128 y UL130, por la proteína del hCMV gB, por la proteína del hCMV gH, o formada por las proteínas del hCMV gM y gN. Las composiciones alternativas pueden comprender (i) un antígeno que comprende un epítipo formado por una combinación de proteínas del hCMV UL128, UL130 y UL131A, y (ii) un antígeno que comprende un epítipo que se encuentra en gB, gH, gL, gM, gN, gO, UL128, UL130 o UL131A, o una combinación de los mismos. Las vacunas de acuerdo con la invención pueden ser profilácticas (es decir para prevenir la infección) o terapéuticas (es decir para tratar la infección).

25 Las composiciones pueden incluir un agente antimicrobiano, particularmente si está empaquetado en un formato de dosis múltiple. Pueden comprender un detergente por ej., un Tween (polisorbato), tal como Tween 80. Los detergentes generalmente están presentes en niveles bajos por ej., <0.01 %. Las composiciones también pueden incluir sales de sodio (por ej., cloruro de sodio) para dar tonicidad. Una concentración de 10 ± 2 mg/ml de NaCl es típica.

30 Las composiciones pueden comprender un alcohol de azúcar (por ej., manitol) o un disacárido (por ej., sacarosa o trehalosa) por ej., en una concentración de aproximadamente 15-30 mg/ml (por ej., 25 mg/ml), especialmente si van a ser liofilizadas o si incluyen material que ha sido reconstituido a partir de material liofilizado. El pH de una composición para liofilización puede ajustarse a aproximadamente 6,1 antes de la liofilización.

35 Las composiciones también pueden comprender uno o más agentes inmunorreguladores. En una realización, uno o más de los agentes inmunorreguladores incluyen un adyuvante.

40 Las composiciones de epítipo pueden provocar tanto una respuesta inmunitaria celular como una respuesta inmunitaria humoral con el fin de atacar eficazmente una infección por hCMV. Esta respuesta inmunitaria puede inducir anticuerpos de larga duración (por ej., neutralizantes) y una inmunidad celular que puede aparecer rápidamente tras la exposición al hCMV.

50 **Tratamientos y usos médicos**

Los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos de la invención o derivados y variantes de los mismos se pueden usar para el tratamiento de la infección por hCMV, para la prevención de la infección por hCMV o para el diagnóstico de la infección por hCMV.

60 Los métodos de diagnóstico pueden incluir poner en contacto un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo con una muestra. Tales muestras pueden ser muestras de tejido tomadas de, por ejemplo, glándulas salivales, pulmón, hígado, páncreas, riñón, oído, ojo, placenta, sistema digestivo, corazón, ovarios, hipófisis, glándulas suprarrenales, tiroides, cerebro o piel. Los métodos de diagnóstico también pueden incluir la detección de un complejo antígeno/anticuerpo.

65 Por lo tanto, la divulgación proporciona (i) un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo o variantes y derivados del mismo de acuerdo con la invención, (ii) un clon de linfocitos B inmortalizado de acuerdo con la invención, (iii) un epítipo capaz de unirse a un anticuerpo de la invención o (iv) un ligando, preferiblemente un anticuerpo, capaz de unirse a un epítipo que se une a un anticuerpo de la invención para su uso en terapia.

También se divulga un método para tratar a un paciente que comprende administrar a ese paciente (i) un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo, o variantes y derivados del mismo de acuerdo con la invención, o un ligando, preferiblemente un anticuerpo, capaz de unirse a un epítipo que se une un anticuerpo de la invención.

- 5 La invención también proporciona el uso de (i) un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo de acuerdo con la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la infección por hCMV.

10 La invención proporciona un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo o una composición de la invención para su uso como un medicamento para la prevención o tratamiento de la infección por hCMV. La divulgación proporciona el uso de un anticuerpo y/o una proteína que comprende un epítipo al que se une dicho anticuerpo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un paciente y/o diagnóstico en un paciente. También proporciona un método para tratar un sujeto que necesita tratamiento, que comprende la etapa de administrar una composición de la divulgación al sujeto. En algunas realizaciones, el sujeto puede ser un ser humano. Una forma de comprobar la eficacia del tratamiento terapéutico implica seguir los síntomas de la enfermedad después de la administración de la composición de la divulgación. El tratamiento puede ser un esquema de dosis única o un esquema de dosis múltiples.

20 Un anticuerpo, un fragmento de unión al antígeno del mismo, un epítipo o una composición se puede administrar a un sujeto que necesita dicho tratamiento profiláctico o terapéutico. Tal sujeto incluye, pero no se limita a, alguien que está particularmente en riesgo o es susceptible de una infección por hCMV. Los ejemplos de sujetos incluyen, pero no se limitan a, sujetos inmunodeprimidos o mujeres embarazadas hCMV-seronegativas o infectadas recientemente con el hCMV. Los ejemplos de sujetos inmunodeprimidos incluyen, pero no se limitan a, aquellos afectados por el VIH o aquellos sometidos a terapia inmunosupresora.

- 25 Los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos también se pueden usar en la inmunización pasiva. Además, también se pueden usar en un kit para el diagnóstico de la infección por hCMV.

30 Los epítopos capaces de unirse a un anticuerpo de la divulgación, por ejemplo, los anticuerpos monoclonales 15D8, 4N10, 10F7, 10P3, 4122, 8L13, 2C12, 8C15, 916, 7B13, 8J16, 8121, 7113, 7H3, 6B4, 5F1, 10C6, 4H9, 2B11, 11B12, 13H11, 3G16, y 6L3 se pueden usar en un kit para controlar la eficacia de los procedimientos de vacunación detectando la presencia de anticuerpos anti-hCMV protectores.

35 Los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, o variantes y derivados de los mismos, como se describe en la presente memoria, también pueden usarse en un kit para controlar la fabricación de vacunas con la inmunogenicidad deseada.

40 La divulgación también proporciona un método para preparar un producto farmacéutico, que comprende la etapa de mezclar un anticuerpo monoclonal con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, en la que el anticuerpo monoclonal es un anticuerpo monoclonal que se ha obtenido a partir de un hospedador de expresión de la invención. Por lo tanto, los procedimientos para obtener primero el anticuerpo monoclonal (por ej., expresarlo y/o purificarlo) y luego mezclarlo con el vehículo o los vehículos farmacéuticos se puede realizar en momentos muy diferentes por diferentes personas y en diferentes lugares (por ej., en diferentes países).

45 Comenzando con un linfocito B transformado de la divulgación, se pueden realizar varias etapas de cultivo, subcultivo, clonación, subclonación, secuenciación, preparación de ácido nucleico etc. con el fin de perpetuar el anticuerpo expresado por el linfocito B transformado, con optimización opcional en cada etapa. En una realización preferida, los métodos anteriores comprenden además técnicas de optimización (por ej., afinidad de maduración u optimización) aplicadas a los ácidos nucleicos que codifican el anticuerpo. La divulgación abarca todas las células, ácidos nucleicos, vectores, secuencias, anticuerpos etc. usados y preparados durante tales etapas.

50 En todos estos métodos, el ácido nucleico usado en el hospedador de expresión puede manipularse para insertar, eliminar o modificar ciertas secuencias de ácido nucleico. Los cambios de dicha manipulación incluyen, pero no se limitan a, cambios para introducir sitios de restricción, para modificar el uso de codones, para añadir u optimizar secuencias reguladoras de la transcripción y/o traducción, etc. También es posible cambiar el ácido nucleico para alterar los aminoácidos codificados. Por ejemplo, puede ser útil introducir uno o más (por ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, etc.) sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos del anticuerpo. Tales mutaciones puntuales pueden modificar las funciones efectoras, la afinidad de unión al antígeno, las modificaciones postraduccionales, la inmunogenicidad, etc., pueden introducir aminoácidos para la unión de grupos covalentes (por ej., marcadores) o pueden introducir etiquetas (por ej., para fines de purificación). Las mutaciones se pueden introducir en sitios específicos o se pueden introducir aleatoriamente, seguido de la selección (por ej., evolución molecular). Por ejemplo, pueden mutarse aleatoriamente o direccionalmente uno o más ácidos nucleicos que codifican cualquiera de las regiones CDR, regiones variables de la cadena pesada o regiones variables de la cadena ligera de anticuerpos de la divulgación para introducir diferentes propiedades en los aminoácidos codificados. Dichos cambios pueden ser el resultado de un proceso iterativo en el que se conservan los cambios iniciales y se introducen nuevos cambios en otras posiciones de nucleótidos. Además, pueden combinarse los cambios obtenidos en etapas independientes. Las diferentes propiedades introducidas en los aminoácidos

codificados pueden incluir, pero no se limitan a, afinidad mejorada.

Generalidades

- 5 El término “que comprende” abarca “que incluye” así como “que consiste”, por ej., una composición “que comprende” X puede consistir exclusivamente en X o puede incluir algo adicional por ej., X + Y.

La palabra “sustancialmente” no excluye “completamente”, por ej., una composición que está “sustancialmente exenta” de Y puede estar completamente exenta de Y. Cuando sea necesario, la palabra “sustancialmente” puede omitirse de la definición de la invención.

El término “aproximadamente” en relación con un valor numérico x significa, por ejemplo, $x \pm 10\%$.

15 El término “enfermedad” como se usa en la presente memoria pretende generalmente ser sinónimo, y se usa indistintamente con los términos “trastorno” y “afección” (como en afección médica), ya que todos reflejan una condición anormal del cuerpo humano o animal o de una de sus partes que altera el funcionamiento normal, se manifiesta generalmente por signos y síntomas distintivos, y hace que el ser humano o animal tenga una duración o calidad de vida reducida.

20 Como se usa en la presente memoria, la referencia al “tratamiento” de un paciente pretende incluir la prevención y la profilaxis. El término “paciente” significa todos los mamíferos, incluidos los seres humanos. Los ejemplos de pacientes incluyen seres humanos, vacas, perros, gatos, caballos, cabras, ovejas, cerdos y conejos. En general, el paciente es un ser humano.

Ejemplos

Las realizaciones de ejemplo de la presente invención se proporcionan en los siguientes ejemplos. Los siguientes ejemplos se presentan solo a modo de ilustración y para ayudar a un experto de conocimientos comunes en la materia en el uso de la invención. Los ejemplos no están destinados de ninguna manera a limitar de otro modo el alcance de la invención.

Ejemplo 1: Clonación de linfocitos B y selección de actividad neutralizante del hCMV

35 Se identificaron donantes con altos títulos de anticuerpos neutralizantes de hCMV en el suero. Los linfocitos B de memoria se aislaron e inmortalizaron usando EBV y CpG como se describe en la referencia 36. Brevemente, los linfocitos B de memoria se aislaron mediante selección negativa usando perlas CD22, seguido de la eliminación de linfocitos B IgM⁺, IgD⁺ IgA⁺ usando anticuerpos específicos y clasificación de células. Las células clasificadas (IgG⁺) se inmortalizaron con EBV en presencia de CpG 2006 y se irradiaron las células mononucleares alogénicas. Los cultivos replicados que contenían cada uno 50 linfocitos B de memoria se establecieron en veinte placas de fondo U de 96 pocillos. Después de dos semanas, los sobrenadantes de cultivo se recogieron y se analizaron en cuanto a su capacidad para neutralizar la infección por hCMV de fibroblastos o células epiteliales en ensayos separados. Los clones de linfocitos B se aislaron a partir de cultivos policlonales positivos como se describe en la referencia 36. Las concentraciones de IgG en el sobrenadante de los clones seleccionados se determinaron usando un ELISA específico de IgG.

45 Para el ensayo de neutralización vírica, se mezcló una cantidad titulada de un aislado de hCMV clínico con un volumen igual de sobrenadante de cultivo o con diluciones de sueros humanos que contenían anticuerpos neutralizantes. Después de 1 hora de incubación a temperatura ambiente, la mezcla se añadió a monocapas confluyentes de células endoteliales (por ej., células HUVEC o células HMEC-1), células epiteliales (por ej., células retinianas ARPE), fibroblastos (por ej., MRC-9 o células estromales mesenquimales) o células mieloides (por ej., células dendríticas derivadas de monocitos) en placas de 96 pocillos de fondo plano y se incubaron a 37 °C durante dos días. El sobrenadante se descartó, las células se fijaron con metanol frío y se tiñeron con una mezcla de anticuerpos monoclonales de ratón contra antígenos tempranos del hCMV, seguido de una Ig anti-ratón de cabra marcada con fluoresceína. Las placas se analizaron usando un microscopio de fluorescencia. En ausencia de anticuerpos neutralizantes, las células infectadas fueron de 100-1.000/campo, mientras que en presencia de concentraciones saturantes de anticuerpos neutralizantes, la infección se inhibió por completo. El título neutralizante se indica como la concentración de anticuerpo (µg/ml) que proporciona una reducción del 50 % o del 90 % de la infección por hCMV.

60 La Tabla 5A muestra la neutralización de un aislado clínico del hCMV (VR1814) tanto en una línea celular fibroblástica (MRC-9) como en una línea celular epitelial retiniana humana (ARPE). Algunos anticuerpos neutralizaron la infección por hCMV de las células epiteliales (ARPE) pero no neutralizaron la infección de los fibroblastos (MRC-9). Esto concuerda con los datos previos de que las diferentes proteínas son responsables del tropismo hacia un tipo de célula particular [7]. La mayoría de estos anticuerpos, que son específicos de una o más proteínas del complejo proteico gH/gL/UL128/UL130/UL131A, neutralizaron la infección por hCMV de las células epiteliales a concentraciones muy bajas (50 % de reducción de la infección por hCMV en concentraciones que

varían de 0,01 µg/ml y 0,001 µg/ml). Otros anticuerpos, que son específicos de la proteína del hCMV gB, gH o una combinación de gM y gN, neutralizaron la infección por hCMV de fibroblastos y células epiteliales con potencia comparable. Estos resultados muestran que algunos de los anticuerpos neutralizantes del hCMV son igualmente potentes tanto en fibroblastos como en células epiteliales, mientras que otros muestran actividad diferencial en los dos tipos de células.

Basándose en el análisis mostrado en la Tabla 5A, los anticuerpos se agruparon en el Grupo 1 (infección por hCMV neutralizante de fibroblastos y células epiteliales) y el Grupo 2 (infección por hCMV neutralizante de células epiteliales). La Tabla 5B muestra un experimento independiente realizado usando anticuerpos purificados. Los resultados muestran que los anticuerpos del Grupo 2 neutralizaron la infección de células epiteliales con valores de CI_{90} (es decir, la concentración de anticuerpo necesaria para lograr una reducción del 90 % de la infección vírica) que varían de 0,007 µg/ml a 0,003 µg/ml mientras que los anticuerpos del Grupo 1 neutralizaron la infección tanto de fibroblastos como de células epiteliales con valores de CI_{90} que varían de 0,1 µg/ml a 30 µg/ml. Los anticuerpos del Grupo 2 también neutralizaron la infección de células endoteliales (HUVEC) y células mieloides (células dendríticas derivadas de monocitos) (datos no mostrados). Los anticuerpos del Grupo 1 también neutralizaron la infección de células endoteliales (HUVEC), células mieloides (células dendríticas derivadas de monocitos) y células del estroma mesenquimal de médula ósea, como se muestra para algunos anticuerpos representativos en la Tabla 5C. Los anticuerpos de la invención también neutralizaron la infección de células endoteliales (HUVEC) por diferentes aislados clínicos del hCMV: VR6952 (de orina), VR3480B1 (de sangre, resistente a ganciclovir) y VR4760 (de sangre, resistente a ganciclovir y foscarnet) (datos no mostrados).

Se prevé que los anticuerpos que neutralizan la infección de diferentes tipos de células pueden combinarse para producir un efecto de neutralización aditivo o sinérgico cuando los diferentes tipos de células están presentes durante la infección. Como ejemplo, un anticuerpo neutralizante, tal como 15D8 que es potente para neutralizar la infección de células epiteliales pero que no neutraliza la infección de fibroblastos podría combinarse con 3G16 que tiene actividad neutralizante de virus en fibroblastos. Como otro ejemplo, un anticuerpo neutralizante, tal como 9I6 que es potente para neutralizar la infección de células epiteliales pero no neutraliza la infección de fibroblastos, podría combinarse con 6B4 que tiene actividad neutralizante de virus en fibroblastos.

Tabla 5A

mAb	Donante	Especificidad ⁽²⁾	Neutralización 50 % ⁽¹⁾	
			MRC-9	ARPE
15D8	GRA	UL128	-	++++
4N10	GIO	UL130/UL131A	+	++++
10F7	PAP	UL130/UL131A	+	+++
10P3	PEL	UL130/UL131A	-	++++
4I22	PEL	UL130/UL131A	-	+++
8L13	PEL	UL130/UL131A	-	+++
2C12	PAP	UL128/UL130/UL131A	+	+++
7B13	PAP	UL128/UL130/UL131A	-	++++
7I13	PAP	UL128/UL130/UL131A	-	+++
8C15	PAP	UL128/UL130/UL131A	-	++++
8J16	PAP	UL128/UL130/UL131A	-	++++
9I6	PEL	UL128/UL130/UL131A	-	++++
8I21	PEL	gH/gL/UL128/UL130	-	+++
11B12	PAP	gH	+	+
13H11	GRA	gH	+	+++
3G16	PEL	gH	+	+
7H3	PEL	gB	+	-
10C6	PEL	gB	+	+
5F1	PEL	gB	+	+
6B4	PEL	gB	+	+
4H9	PEL	gB	+	+
6L3	PEL	gM/gN	No realizado	+

1) Valores que indican la concentración de anticuerpo necesaria para proporcionar una reducción del 50 % de la infección por hCMV de los fibroblastos (por ej., MRC-9) o células epiteliales (p.ej., células retinianas ARPE). La concentración es como se indica a continuación:

++++ <0,001 µg/ml; +++ <0,01 µg/ml; ++ <0,1 µg/ml; + ≤ 2 µg/ml;

- No neutralizante a la concentración más alta probada (2 µg/ml).

2) Especificidad como se define en la Tabla 6.

Tabla 5B

Grupo	mAb	Donante	Especificidad ⁽²⁾	Neutralización 90 % ⁽¹⁾	
				MRC-9	ARPE
2	15D8	GRA	UL128	nn ⁽³⁾	0,008
2	4N10	GIO	UL130/UL131A	nn	0,02
2	10F7	PAP	UL130/UL131A	nn	0,002
2	10P3	PEL	UL130/UL131A	nn	0,0025
2	4I22	PEL	UL130/UL131A	nn	0,0015
2	8L13	PEL	UL130/UL131A	nn	0,001
2	2C12	PAP	UL128/UL130/UL131A	nn	0,006
2	7B13	PAP	UL128/UL130/UL131A	nn	0,003
2	7I13	PAP	UL128/UL130/UL131A	nn	0,008
2	8C15	PAP	UL128/UL130/UL131A	nn	0,0025
2	8J16	PAP	UL128/UL130/UL131A	nn	0,0008
2	9I6	PEL	UL128/UL130/UL131A	nn	0,0007
2	8I21	PEL	gH/gL/UL128/UL130	nn	0,03
1	11B12	PAP	gH	3,5	1,2
1	13H11	GRA	gH	1,12	0,4
1	3G16	PEL	gH	1,0	0,3
1	7H3	PEL	gB	3	0,6
1	10C6	PEL	gB	0,75	0,2
1	5F1	PEL	gB	0,5	0,1
1	6B4	PEL	gB	1,0	0,15
1	4H9	PEL	gB	10	0,4
1	2B11	PEL	gB	0,75	0,2
1	6L3	PEL	gM/gN	30	10

1) Los valores que indican la concentración de anticuerpo en µg/ml requerida para proporcionar una reducción del 90 % de la infección por hCMV (VR1814) de los fibroblastos (p.ej, MRC-9) o células epiteliales (p.ej, células retinianas ARPE),

2) Especificidad como se define en la Tabla 6,

3) nn, no neutralizante a la concentración más alta probada (10 µg/ml),

Tabla 5C

Grupo	mAb	Especificidad	Neutralización 50 % ⁽¹⁾		
			HUVEC	Mo-DC	BM-MSc
1	7H3	gB	nd	0,06	2
1	10C6	gB	0,19	0,02	0,3
1	5F1	gB	0,21	0,05	0,3
1	6B4	gB	nd	0,11	2

1) Los valores que indican la concentración de anticuerpo en µg/ml requerida para proporcionar una reducción del 50 % de la infección por hCMV (VR1814) de las células primarias. HUVEC, células endoteliales de vena umbilical humana, Mo-DC, células dendríticas derivadas de monocitos, BM-MSc, células estromales de médula ósea mesenquimales.

5 Ejemplo 2: Identificación de los antígenos diana reconocidos por los anticuerpos monoclonales

Para cartografiar la especificidad de los anticuerpos neutralizantes del hCMV, se transfectaron células HEK293T con uno o más vectores que codifican las proteínas del hCMV de longitud completa UL128, UL130, UL131A, gH, gL, gB, gM y gN. Después de 36 h, las células se fijaron, se permeabilizaron y se teñieron con los anticuerpos monoclonales humanos seguido de IgG anti-humana de cabra. La Figura 1 muestra la unión de anticuerpos representativos a células HEK293T que expresan una o más proteínas del hCMV. La Tabla 6 muestra el patrón de tinción de todos los diferentes anticuerpos contra células HEK293T transfectadas con el gen del hCMV. Con la excepción del anticuerpo 15D8, que teñía las células transfectadas con UL128, todos los otros anticuerpos del Grupo 2 no teñieron transfectantes de un solo gen, lo que sugiere que pueden reconocer epítomos que requieren la coexpresión de más de un producto génico. De hecho, cinco anticuerpos (4N10, 10F7, 10P3, 4I22 y 8L13) teñían células que coexpresaban UL130 y UL131A, seis anticuerpos (2C12, 7B13, 7I13, 8C15, 8J16 y 9I6) teñían células que coexpresaban UL128, UL130 y UL131A, y un anticuerpo (8I21) teñía células transfectadas con UL128 y UL130 así como con gH y gL. Todos estos anticuerpos también teñieron las células HEK293T transfectadas con todos los genes que forman el complejo gH/gL/UL128-130. Entre los anticuerpos del Grupo 1, tres (11B12, 13H11 y 3G16) teñían células que expresan la proteína del hCMV gH, seis (7H3, 10C6, 5F1, 6B4, 4H9 y 2B11) teñían células que expresaban la proteína del hCMV gB y uno (6L3) teñía células que coexpresaban las proteínas del hCMV gM y gN.

Tabla 6.

Células HEK293T transfectadas con:	Anticuerpo monoclonal						
	Grupo 2				Grupo 1		
	15D8	4N10 10F7 10P3 4I22 8L13	2C12 7B13 7I13 8C15 8J16 9I6	8I21	11B12 13H11 3G16	7H3 10C6 5F1 6B4 4H9 2B11	6L3
UL128	+	-	-	-	-	-	nd ⁽¹⁾
UL130	-	-	-	-	-	-	nd
UL131A	-	-	-	-	-	-	nd
UL128+UL130	+	-	-	-	-	-	nd
UL128+UL131A	+	-	-	-	-	-	nd
UL130+UL131A	-	+	-	-	-	-	nd
UL128+UL130+UL131A	+	+	+	-	-	-	-
gH	-	-	-	-	+	-	-
gH+gL	-	-	-	-	+	-	-
gH+UL128+UL130+UL131A	+	+	+	-	+	nd	nd
gL+UL128+UL130+UL131A	+	+	+	-	-	nd	nd
gH+gL+UL128	+	-	-	-	+	nd	nd
gH+gL+UL130	-	-	-	-	+	nd	nd
gH+gL+UL131A	-	-	-	-	+	nd	nd
gH+gL+UL128+UL130	+	-	-	+	+	nd	nd
gH+gL+UL128+UL130+UL131A	+	+	+	+	+	-	-
gB	-	-	-	nd	-	+	-
gM	nd	-	-	nd	nd	nd	-
gN	nd	-	-	nd	nd	nd	-
gM+gN	-	-	-	-	nd	nd	+

1) nd, no realizado

5 Para explorar adicionalmente la identidad de los sitios de antígeno a los que se unen los anticuerpos, se realizaron experimentos de competición cruzada. Aquí, las células HEK293T se transfectaron con vectores que codifican las proteínas del hCMV de longitud completa gH, gL, UL128, UL130 y UL131A. Las células se incubaron a continuación con un exceso de 20 veces de un anticuerpo neutralizante del hCMV competidor antes de la adición de un anticuerpo biotinilado. Este procedimiento se repitió varias veces con diferentes anticuerpos competidores y anticuerpos biotinilados. En estos experimentos se incluyeron cuatro anticuerpos descritos en la Solicitud de patente N.º 11/ 969.104 (1F11, 2F4 y 5A2) y en la Solicitud de patente N.º 12/174.568 (6G4). Los datos se muestran en la

10 Tabla 7A, B.

Tabla 7A.

Competidor (exceso 20 veces)	Especificidad ⁽¹⁾	Inhibición de la unión (%)						
		15D8- biotina	4N10- biotina	10F7- biotina	4I22- biotina	1F11- biotina	2F4- biotina	5A2- biotina
15D8	UL128	100	0	0	0	0	0	0
4N10	UL130/UL131A	0	100	0	0	0	0	100
10F7	UL130/UL131A	0	0	100	100	100	100	0
10P3	UL130/UL131A	0	nd	nd	0	0	0	nd
4I22	UL130/UL131A	nd	0	100	100	100	100	0
8L13	UL130/UL131A	nd	nd	100	nd	100	nd	nd
1F11	UL130/UL131A	0	0	100	100	100	100	0
2F4	UL130/UL131A	nd	0	100	100	100	100	0
5A2	UL130/UL131A	nd	100	0	0	0	50 ⁽²⁾	100
2C12	UL128/UL130/UL131A	0	0	0	0	0	0	0
7B13	UL128/UL130/UL131A	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
7I13	UL128/UL130/UL131A	nd	nd	nd	nd	0	nd	nd
8C15	UL128/UL130/UL131A	nd	nd	nd	0	nd	nd	nd
8J16	UL128/UL130/UL131A	nd	nd	nd	0	0	0	nd
9I6	UL128/UL130/UL131A	nd	nd	Nd	0	0	0	nd
6G4	UL128/UL130/UL131A	0	0	0	0	0	0	0
8I21	gH/gL/UL128/UL130	0	90	nd	0	0	0	95

1) Especificidad tal como se define en la Tabla 6.

2) La competencia por debajo del 100 % puede deberse al solapamiento parcial de los epítomos o a impedimento estérico o a una menor afinidad.

Tabla 7B.

Competidor (exceso 20 veces)	Especificidad ⁽¹⁾	Inhibición de la unión (%)					
		2C12-biotina	8C15-biotina	8J16-biotina	916-biotina	6G4-biotina	8121-biotina
15D8	UL128	0	nd	Nd	nd	0	0
4N10	UL130/UL131A	0	nd	Nd	nd	0	90 ⁽²⁾
10F7	UL130/UL131A	0	nd	Nd	nd	0	0
10P3	UL130/UL131A	0	nd	Nd	nd	0	0
4I22	UL130/UL131A	0	nd	0	nd	nd	0
8L13	UL130/UL131A	nd	nd	Nd	nd	nd	nd
1F11	UL130/UL131A	0	nd	Nd	nd	0	0
2F4	UL130/UL131A	0	nd	Nd	0	0	0
5A2	UL130/UL131A	0	nd	Nd	0	0	92
2C12	UL128/UL130/UL131A	100	100	100	100	100	0
7B13	UL128/UL130/UL131A	100	100	100	100	100	0
7I13	UL128/UL130/UL131A	0	0	0	0	0	0
8C15	UL128/UL130/UL131A	100	100	100	100	100	0
8J16	UL128/UL130/UL131A	100	100	100	70	100	0
916	UL128/UL130/UL131A	100	100	100	100	100	0
6G4	UL128/UL130/UL131A	100	100	100	100	100	0
8I21	gH/gL/UL128/UL130	0	nd	Nd	nd	0	100
3G16	gH	0	nd	Nd	nd	0	0

1) Especificidad tal como se define en la Tabla 6.

2) La competencia por debajo del 100 % puede deberse al solapamiento parcial de los epítomos o a impedimento estérico o a una menor afinidad.

5 Basándose en los datos de la Tabla 7A, B, se pueden distinguir al menos siete sitios antigénicos distintos en el complejo del hCMV formado por gH, gL, UL128 y UL130 (Tabla 8). El sitio 1 está presente en UL128 y está definido por el anticuerpo 15D8. Los sitios 2 a 4 están formados por la combinación de UL130 y UL131A y están definidos por los anticuerpos 10F7, 4I22, 8L13, 1F11 y 2F4 (sitio 2), por 4N10 y 5A2 (sitio 3), y por 10P3 (sitio 4), respectivamente. Los sitios 5 y 6 están formados por la combinación de UL128, UL130 y UL131A y están definidos por los anticuerpos 2C12, 7B13, 8C15, 8J16, 916 y 6G4 (sitio 5) y por 7I13 (sitio 6), respectivamente. Finalmente, el sitio 7 está formado por la combinación de gH, gL, UL128 y UL130 y está definido por el anticuerpo 8I21. Los anticuerpos que definen el sitio 7 y el sitio 3 compitieron parcialmente entre sí, lo que sugiere que estos sitios pueden estar próximos en la estructura del complejo gH/gL/UL128-131A.

15 Se anticipa que los anticuerpos neutralizantes dirigidos a diferentes epítomos en la misma diana se pueden usar en combinación para lograr una neutralización robusta de la infección del virus, como se ejemplifica por 10F7 y 4N10 o por 8J16 y 7I13. Además, se prevé que los anticuerpos neutralizantes dirigidos a diferentes moléculas diana o combinaciones de moléculas diana se puedan usar juntos para lograr una neutralización robusta del virus. Como un ejemplo, la Tabla 8 sugiere que 15D8 y 10F7, 15D8 y 2C12, u 8J16 y 8I21 podrían combinarse para producir efectos de neutralización del hCMV aditivos o sinérgicos.

Tabla 8.

Antígeno diana	Sitio antigénico	Anticuerpos que definen el sitio antigénico
UL128	1	15D8
UL130/UL131A	2	10F7, 4I22, 8L13, 1F11, 2F4
UL130/UL131A	3	4N10, 5A2
UL130/UL131A	4	10P3
UL128/UL130/UL131A	5	2C12, 7B13, 8C15, 8J16, 916, 6G4
UL128/UL130/UL131A	6	7I13
gH/gL/UL128/UL130	7	8I21

25 De una manera similar a la descrita en la Tabla 7, las células HEK293T se transfectaron con un vector que codifica gH de longitud completa para examinar la unión de competición cruzada de los anticuerpos anti-gH. Como puede verse en la Figura 2A y en la Tabla 9, se identificaron al menos dos sitios de unión diferentes en la proteína del hCMV gH. El anticuerpo 3G16 define un sitio y los anticuerpos 11B12 y 13H11 definen un segundo sitio. Finalmente, las células HEK293T se transfectaron con un vector que codificaba gB de longitud completa para examinar la unión de competición cruzada de los anticuerpos anti-gB. Como se puede ver en la Figura 2B y la Tabla 10, se identificaron al menos tres sitios antigénicos diferentes en la proteína del hCMV gB. El anticuerpo 6B4 define un

sitio, 7H3 define un segundo sitio y el conjunto de 10C6, 5F1, 4H9 y 2B11 define un tercer sitio. El anticuerpo 6B4 (que reconoce el sitio 1 de la gB) reaccionó mediante ELISA con el péptido gB 69-78 (CE₅₀ de 0,044 µg/ml). Se prevé que los anticuerpos que se dirigen a sitios diferentes incluso en la misma molécula diana se puedan usar en combinación para lograr una neutralización robusta del virus.

5

Tabla 9.

Competidor (exceso 20 veces)	Especificidad ⁽¹⁾	Inhibición de la unión (%) de:			Sitio antigénico en gH
		3G16-biotina	11B12-biotina	13H11-biotina	
3G16	gH	100	0	0	1
11B12	gH	0	100	100	2
13H11	gH	0	100	100	2

1) Como se define en la Tabla 6

Tabla 10.

Competidor (exceso 20 veces)	Especificidad ⁽¹⁾	Inhibición de la unión (%) de:						Sitio antigénico en gH
		7H3-biotina	10C6-biotina	5F1-biotina	6B4-biotina	4H9-biotina	2B11-biotina	
6B4	gB	0	0	0	100	0	0	1
7H3	gB	100	0	0	0	0	0	2
10C6	gB	0	100	100	0	100	100	3
5F1	gB	0	100	100	0	100	100	3
4H9	gB	0	100	100	0	100	100	3
2B11	gB	0	100	100	0	100	100	3

1) Como se define en la Tabla 6.

2) La competencia por debajo del 100 % puede deberse a una superposición parcial de epítomos, a impedimento estérico o a una menor afinidad.

10 Como resumen, **15D8** se une a un epítomo de UL128 que es distinto del epítomo reconocido por 2C12, 7B13, 6G4 (todos ellos específicos de una combinación de UL128, UL130 y UL131A) y del epítomo reconocido por 8121 (específico de una combinación de gH, gL, UL128 y UL130). Además, la unión de **15D8** a su epítomo no es inhibida por 4N10, 10F7, 10P3 y 1F11 (todos ellos específicos de una combinación de UL130 y UL131A).

15 **4N10** se une a un epítomo que requiere la expresión de UL130 y UL131A y que es igual o se solapa en gran medida a los epítomos reconocidos por 5A2 (específico de una combinación de UL130 y UL131A) y 8121 (específico de una combinación de gH, gL, UL128 y UL130) pero distinto de los epítomos reconocidos por 10F7, 4122, 1F11, 2F4 (todos ellos específicos de una combinación de UL130 y UL131A), 2C12 y 6G4 (ambos específicos de una combinación de UL128, UL130 y UL131A). Además, la unión de **4N10** a su epítomo no es inhibida por 15D8 (específico de UL128).

25 **10F7** se une a un epítomo que requiere la expresión de UL130 y UL131A que es igual o se solapa en gran medida con el epítomo o los epítomos reconocidos por 4122, 8L13, 1F11 y 2F4 pero distinto del epítomo o epítomos reconocidos por 4N10 y 5A2 (ambos específicos de una combinación de UL130 y UL131A), así como distinto de los epítomos reconocidos por 2C12 y 6G4 (ambos específicos de una combinación de UL128, UL130 y UL131A). Además, la unión de **10F7** a su epítomo no es inhibida por 15D8 (específico de UL128) o por 13H11 (específico de gH).

30 **4122** se une a un epítomo que requiere la expresión de UL130 y UL131A y que es igual o que se solapa parcialmente al epítomo o epítomos reconocidos por 2F4, 1F11 y 10F7 pero distinto del epítomo o epítomos reconocidos por 4N10, 10P3 y 5A2 (todos ellos específicos de un combinación de UL130 y UL131A) y distinto de los epítomos reconocidos por 2C12, 8C15, 8J16, 916, 6G4 (todos ellos específicos de una combinación de UL128, UL130 y UL131A) y 8121 (específico de una combinación de gH, gL, UL128 y UL130). Además, la unión de **4122** a su epítomo no es inhibida por los anticuerpos 15D8 (específico de UL128) o por 13H11 (específico de gH).

35 **2C12** se une a un epítomo que requiere la expresión de los productos de los genes del hCMV UL128, UL130 y UL131A y que es el mismo o se solapa en gran parte con el epítomo o epítomos reconocidos por 7B13, 8C15, 8J16, 916 y 6G4 pero distinto del epítomo reconocido por 7113 (todos ellos específicos de una combinación de UL128, UL130 y UL131A) y distinto del epítomo o epítomos reconocidos por 15D8 (específico de UL128), 4N10, 10F7, 10P3, 4122, 8L13, 1F11, 2F4, 5A2 (todos ellos específicos de una combinación de UL130 y UL131A) y 8121 (específico de una combinación de gH, gL, UL128 y UL130). Además, la unión de **2C12** a su epítomo no es inhibida por 3G16 (específico de gH).

40 **8C15** se une a un epítomo que requiere la expresión de los productos de los genes del hCMV UL128, UL130 y

UL131A y que es el mismo o se solapa en gran parte con el epítipo o epítipos reconocidos por 2C12, 7B13, 8J16, 916 y 6G4 pero distinto del epítipo reconocido por 7I13 (todos ellos específicos de una combinación de UL128, UL130 y UL131A).

5 **8J16** se une a un epítipo que requiere la expresión de los productos de los genes del hCMV UL128, UL130 y UL131A y que es el mismo o se solapa en gran parte con el epítipo o epítipos reconocidos por 2C12, 7B13, 8C15, 916 y 6G4, pero distinto del epítipo reconocido por 7I13 (todos específicos de una combinación de UL128, UL130 y UL131A) y del epítipo reconocido por 4I22 (específico de una combinación de UL130 y UL131A).

10 **9I6** se une a un epítipo que requiere la expresión de los productos de los genes del hCMV UL128, UL130 y UL131A y que es el mismo o se solapa en gran parte con el epítipo o epítipos reconocidos por 2C12, 7B13, 8C15, 8J16 y 6G4 pero distinto del epítipo reconocido por 7I13 (todos ellos específicos de una combinación de UL128, UL130 y UL131A) y de los epítipos reconocidos por 2F4 y 5A2 (específicos de una combinación de UL130 y UL131A).

15 **8I21** se une a un epítipo que requiere la expresión de los productos de los genes del hCMV gH, gL, UL128 y UL130 y que puede solaparse parcialmente con el epítipo o epítipos reconocidos por 4N10 y 5A2 (ambos específicos de una combinación de UL130 y UL131A) pero distinto de los epítipos reconocidos por 15D8 (específico de UL128), 10F7, 10P3, 4I22, 1F11, 2F4 (todos ellos específicos de una combinación de UL130 y UL131A), 2C12, 7B13, 7I13, 8C15, 8J16, 916 y 6G4 (todos ellos específicos de una combinación de UL128, UL130 y UL131A). Además, la unión
20 de **8I21** a su epítipo no es inhibida por 3G16 (específico de gH).

3G16 se une a un epítipo de gH que es distinto del epítipo o epítipos reconocidos por 11B12 y 13H11 (ambos específicos de gH).

25 **11B12** se une a un epítipo de gH que es igual o se solapa en gran parte con el epítipo reconocido por 13H11 y distinto de los epítipos reconocidos por 3G16 (ambos específicos de gH).

13H11 se une a un epítipo de gH que es igual o se solapa en gran parte con el epítipo reconocido por 11B12 y distinto de los epítipos reconocidos por 3G16 (ambos específicos de gH).

30 **6B4** reconoce un epítipo de gB que es distinto del epítipo o epítipos reconocidos por 7H3, 4H9, 5F1, 10C6 y 2B11 (todos ellos específicos de gB).

35 **7H3** se une a un epítipo de gB que es distinto del epítipo o epítipos reconocidos por 6B4, 7H3, 4H9, 5F1, 10C6 y 2B11 (todos ellos específicos de gB).

10C6 se une a un epítipo de gB que es igual o parcialmente solapado con el epítipo o epítipos reconocidos por 5F1, 4H9 y 2B11, pero distinto del epítipo o epítipos reconocidos por 7H3 y 6B4 (todos ellos específicos de gB).

40 **5F1** se une a un epítipo de gB que es el mismo o se solapa en gran parte con el epítipo o epítipos reconocidos por 10C6, 4H9 y 2B11 pero distinto del epítipo o epítipos reconocidos por 6B4 y 7H3 (todos ellos específicos de gH).

4H9 se une a un epítipo de gB que es el mismo o se solapa en gran parte con el epítipo o epítipos reconocidos por 5F1, 10C6 y 2B11, pero distinto del epítipo o epítipos reconocidos por 6B4 y 7H3 (todos ellos específicos de gH).

45 **2B11** se une a un epítipo de gB que es el mismo o se solapa en gran parte con el epítipo o epítipos reconocidos por 5F1, 10C6 y 4H9 pero distinto del epítipo o epítipos reconocidos por 6B4 y 7H3 (todos ellos específicos de gH).

Ejemplo 3: Amplitud de la actividad neutralizante del anticuerpo 15D8

50 UL128 es el gen más conservado del locus UL132-128. Sin embargo, las secuencias derivadas de varios aislados clínicos revelaron la existencia de 10 variantes con una o más mutaciones en comparación con la secuencia VR1814. Por lo tanto, investigamos si la unión del anticuerpo 15D8 específico de UL128 se vería afectada por cualquiera de estas mutaciones. Con este objetivo, se alinearon secuencias publicadas de aminoácidos de variantes
55 de UL128 de aislados clínicos (VR4603-M, VR4836-M, VR5001-M, VR4254-M, VR4969-M, VR4313-M, VR4116-M, VR5235-T, VR5055-T, VR4168-A, VR1814-PCR) y cepas de laboratorio (Towne, TB40/E, AD169, Merlin y Toledo) y se sintetizó un gen que codifica una proteína que incluye todas las sustituciones de aminoácidos descritas, así como una mutación adicional que se vio que se generaba a una frecuencia muy alta *in vitro* tras la amplificación por PCR (F33V). La secuencia de nucleótidos del gen sintético fue:

60

atgaacagcaaagacctgacgccgtcttgacgaccttggctgctattggaccacagccgcgtgccgcgggtacgcgcagaagaatgtt
 gcaattcataaacgtcaaccacccgccggaacgctgttacgattcaaaatgtgcaatctgttcaccgtcgcgctgcgggtgccggacggc
 gaagtctgctacagtcgccgagaaaacggctgagatfcgctggatcgtcaccacatgaccattcattgacacgccagggtaccacaaca
 aactgacgagctgcaactacaatccgttatacctcgaagctgacggcgcaatacgtcgcggcaagtgcgacaaggcgcagtagctg
 ctgggcgccgctggcagcgttccctatcgtatggatcaacctggaatacgacaagataaccggatcgtgggcctggatcagtagctggag
 agcgttaagaacacaaaacggctggatgtgtgccgcgctaaaatgggctatatgctgcagtag.

Las células HEK293T se transfectaron con el UL128 original de VR1814 o con el gen pan-mutado y se tiñeron con diluciones en serie del anticuerpo 15D8. Como se muestra en la Figura 3, la proteína de UL128 original y del pan-mutado fueron reconocidas por 15D8 con una eficacia comparable (tinción saturada a ~ 0,2 µg/ml). Estos hallazgos indican que 15D8 reconoce un epítipo altamente conservado en la proteína codificada por UL128.

REFERENCIAS

10 [1] Plachter et al. (1996) *Adv Virus Res* 46:195-261.

[2] Gerna et al. (2002) *J Med Virol* 66:335-339.

15 [3] Adler, B., L. Scrivano, Z. Ruzcics, B. Rupp, C. Sinzger, and U. Koszinowski. 2006. Role of human cytomegalovirus UL131A in cell type-specific virus entry and release. *J Gen Virol* 87:2451-2460.

[4] Gerna, G., E. Percivalle, D. Lilleri, L. Lozza, C. Fornara, G. Hahn, F. Baldanti, and M.G. Revello. 2005. Dendritic-cell infection by human cytomegalovirus is restricted to strains carrying functional UL131-128 genes and mediates efficient viral antigen presentation to CD8+ T cells. *J Gen Virol* 86:275-284.

20 [5] Hahn, G., M.G. Revello, M. Patrone, E. Percivalle, G. Campanini, A. Sarasini, M. Wagner, A. Gallina, G. Milanesi, U. Koszinowski, F. Baldanti, and G. Gerna. 2004. Human cytomegalovirus UL131-128 genes are indispensable for virus growth in endothelial cells and virus transfer to leukocytes. *J Virol* 78:10023-10033.

25 [6] Patrone, M., M. Secchi, L. Fiorina, M. Ierardi, G. Milanesi, and A. Gallina. 2005. Human cytomegalovirus UL130 protein promotes endothelial cell infection through a producer cell modification of the virion. *J Virol* 79:8361-8373.

30 [7] Wang, D., and T. Shenk. 2005. Human cytomegalovirus virion protein complex required for epithelial and endothelial cell tropism. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:18153-18158.

[8] Wang, D., and T. Shenk. 2005. Human cytomegalovirus UL131 open reading frame is required for epithelial cell tropism. *J Virol* 79:10330-10338.

35 [9] Nigro et al. 2005. Passive immunization during pregnancy for congenital cytomegalovirus infection. *N Engl J Med* 353:1350-1362.

[10] Borucki et al. 2004. A phase II, double-masked, randomized, placebo-controlled evaluation of a human monoclonal anti-Cytomegalovirus antibody (MSL-109) in combination with standard therapy versus standard therapy alone in the treatment of AIDS patients with Cytomegalovirus retinitis. *Antiviral Res* 64:103-111.

40 [11] McLean et al. 2005. Recognition of human cytomegalovirus by human primary immunoglobulins identifies an innate foundation to an adaptive immune response. *J Immunol*, 174:4768-4778.

45 [12] Lefranc et al. 2003. IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains. *Dev Comp Immunol*. 27(1):55-77.

[13] Lefranc et al. 1997. Unique database numbering system for immunogenetic analysis. *Immunology Today*, 18:509.

50 [14] Lefranc (1999) *The Immunologist*, 7:132-136.

[15] US 3.766.162

55 [16] US 3.791.932

[17] US 3.817.837

- [18] US 4.233.402
- [19] US 4.676.980
- 5 [20] US 4.831.175
- [21] US 5.595.721
- [22] WO00/52031
- 10 [23] WO00/52473
- [24] US 4.766.106
- 15 [25] US 4.179.337
- [26] US 4.495.285
- [27] US 4.609.546
- 20 [28] Knauf et al. (1988) *J. Bio. Chem.* 263:15064-15070
- [29] Gabizon et al. (1982) *Cancer Research* 42:4734
- 25 [30] Cafiso (1981) *Biochem Biophys Acta* 649:129
- [31] Szoka (1980) *Ann. Rev. Biophys. Eng.* 9:467
- [32] Poznansky et al. (1980) *Drug Delivery Systems* (R.L. Juliano, ed., Oxford, N.Y.) pp. 253-315
- 30 [33] Poznansky (1984) *Pharm Revs* 36:277
- [34] Kohler, G. and Milstein, C., 1975, *Nature* 256:495-497.
- 35 [35] Kozbar et al. 1983, *Immunology Today* 4:72.
- [36] WO2004/076677
- [37] Chapter 4 of *Kuby Immunology* (4th edition, 2000; ASIN: 0716733315
- 40 [38] Jones et al. *Biotechnol Prog* 2003,19(1):163-8
- [39] Cho et al. *Cytotechnology* 2001,37:23-30
- 45 [40] Cho et al. *Biotechnol Prog* 2003,19:229-32
- [41] US 5.807.715
- [42] US 6.300.104
- 50

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Humab, LLC

5 <120> ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES DEL CITOMEGALOVIRUS HUMANO Y USO DE LOS MISMOS

<130> HMB0007-401-PC

10 <150> 61/081.334

<151> 16-07-2008

<160> 370

15 <170> Patentin versión 3.5

<210> 1

<211> 8

20 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 1

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Val

25 **1 5**

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

30 <213> *Homo sapiens*

<400> 2

Val Ile Pro Ile Phe Asp Thr Val

35 **1 5**

<210> 3

<211> 21

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

40 <400> 3

Ala Arg Gly Ile Leu Ala Tyr Cys Gly Gly Asp Cys Tyr Asn Thr Pro

1 5 10 15

Tyr Gly Met Asp Val

20

45 <210> 4

<211> 6

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

50 <400> 4

Gln Ser Ile Ser Ser Trp

1 5

55 <210> 5

<211> 3

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*
 <400> 5

Lys Ala Ser
1

5

<210> 6
 <211> 8
 <212> PRT
 10 <213> *Homo sapiens*
 <400> 6

Gln Gln Tyr Asn Ser Ser Trp Thr
1 5

15

<210> 7
 <211> 24
 <212> ADN
 20 <213> *Homo sapiens*
 <400> 7
ggaggcacct tcagcagcta tggt 24

25

<210> 8
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

30

<400> 8
gtcatcccta tctttgatac agta 24

35

<210> 9
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 9
gcgagaggaa ttctagcata ttgtggtggt gattgctata ataccotta cggtatggac 60
gtc 63

40

<210> 10
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

45

<400> 10
cagagtatta gtagctgg 18

50

<210> 11
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

55

<400> 11
aaggcgtct 9

<210> 12
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

ES 2 682 596 T3

<400> 12

caacagtata atagttcgtg gacg

24

<210> 13

5 <211> 128

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 13

10

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Gly Ile Leu Ala Tyr Cys Gly Gly Asp Cys Tyr Asn Thr Pro
100 105 110

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

<210> 14

15 <211> 106

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 14

20

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

ES 2 682 596 T3

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

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

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

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

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Ser Trp Thr
 85 90 95

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

<210> 15
 <211> 385
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 15
 caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgagggtc 60
 tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc agctatgta tcatctgggt ggcacaggcc 120
 cctggacaag gtcttgagt gatggggggg gtcaccccta tctttgatac agtaaattac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt acogoggagc aatccacgag tactgcctac 240
 atggagctga gcagcctgaa atctgaggac acggcogtat attactgtgc gagaggaatt 300
 ctagcatatt gtggtggtga ttgctataat accccttacg gtatggacgt ctggggccaa 360
 gggaccacgg tcaccgtctc ctacg 385

10

<210> 16
 <211> 319
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 16
 gacatccaga tgaccagtc tccttccatc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggccagtca gagtattagt agctggttgg cctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc caaaactcct aatctataag gcgcttagtt tagaaattgg ggtccatca 180
 aggatcagcg gcagtgatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gatgatttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt cgtggacgtt cggccaaggg 300
 acgaaggtgg aatcaaac 319

20

<210> 17
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 17

Gly Phe Thr Phe Gly Asp Tyr Ala
1 5
 10
 <210> 18
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 15
 <400> 18

Ile Arg Ser Lys Ala Tyr Gly Gly Thr Thr
1 5 10
 20
 <210> 19
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 19

Thr Arg Ala Ser Ser Leu Leu Trp Leu Leu Asn Pro Gln Pro Asn Phe
1 5 10 15
 25
Asp Tyr
 <210> 20
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 30
 <400> 20

Asn Ile Gly Ser Asn Asn
1 5
 35
 <210> 21
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 40
 <400> 21

Asp Asp Ser
1
 45
 <210> 22
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 50
 <400> 22

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Pro Val
1 5 10

ES 2 682 596 T3

5	<210> 23 <211> 24 <212> ADN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 23 ggattcacct ttggtgatta tgct	24
10	<210> 24 <211> 30 <212> ADN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 24 attagaagca aagcttatgg tgggacaaca	30
20	<210> 25 <211> 54 <212> ADN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 25 actagagcat cttcattact atggttacta aaccctcaac ccaactttga ctac	54
25	<210> 26 <211> 18 <212> ADN <213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 26 aacattggaa gtaacaat	18
35	<210> 27 <211> 9 <212> ADN <213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 27 gatgatagc	9
45	<210> 28 <211> 33 <212> ADN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 28 caggtgtggg atagtagtag tgatcatccg gta	33
50	<210> 29 <211> 127 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i>	
55	<400> 29	

ES 2 682 596 T3

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

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

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

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

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

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

Tyr Cys Thr Arg Ala Ser Ser Leu Leu Trp Leu Leu Asn Pro Gln Pro
100 105 110

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

<210> 30
<211> 108
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

5

<400> 30

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

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

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

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

10

ES 2 682 596 T3

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

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

Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

5 <210> 31
<211> 382
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<400> 31

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc cagggcggtc cctgagactc 60
tctgtacag cttctggatt cacctttggt gattatgcta tgagctggtt cgcaccaggct 120
ccaggaagg ggctggagtg ggtaggtttc attagaagca aagcttatgg tgggacaaca 180
gaatagcccg cgtctgtgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc caaaagcadc 240
gcctatctgc aatgaacag cctgaaaacc gaggacacag ccgtgtatta ctgtactaga 300
gcatcttcat tactatggtt actaaaccct caaccctaac ttgactactg gggccaggga 360
10 accctgggtca ccgtctctc ag 382

15 <210> 32
<211> 325
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<400> 32

tcctatgtgc tgactcagcc accctcgggtg tcagtggccc caggacagac ggccaggatt 60
acctgtgggg gaaacaacat tgggaagtaac aatgtgcact ggtaccagca gaagccaggc 120
caggcccctg tgctggctgt ctatgatgat agcgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180
ttctctggct ccaactctgg gaacacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg 240
gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg gatagtagta gtgatcatcc ggtattcggc 300
20 ggagggacca agctgaccgt cctag 325

25 <210> 33
<211> 8
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 33

Gly Phe Thr Phe His Asn Tyr Arg
1 5

30 <210> 34
<211> 8

<212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 34
 5 **Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys**
 1 5

 <210> 35
 <211> 19
 10 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 35

 Ala Arg Gly Glu Gly Tyr Thr Tyr Gly Val Val Tyr Ser Tyr Ser Ala
 1 5 10 15

 Met Asp Val
 15

 <210> 36
 <211> 6
 20 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 36

 Val Leu Pro Asn Gln Tyr
 1 5
 25

 <210> 37
 <211> 3
 30 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 37

 Lys Asp Thr
 1
 35

 <210> 38
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 40

 <400> 38

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

 <210> 39
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 45

 <400> 39
 50 **ggattcacct ttcataacta tcgc**

 <210> 40
 <211> 24
 <212> ADN

ES 2 682 596 T3

<213> *Homo sapiens*

<400> 40
ataaagcaag atggaagtga gaaa 24

5

<210> 41
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

10

<400> 41
gcgaggggtg aagggtacac ctatggtgtc gtctactcct attccgctat ggacgtc 57

15

<210> 42
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

20

<400> 42
gtattgccaa accaatat 18

25

<210> 43
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

30

<400> 43
aaagacact 9

35

<210> 44
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

40

<400> 44
caatcagcag acagcagtgg tgccgattat gtc 33

45

<210> 45
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 45

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

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

ES 2 682 596 T3

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

Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Ser Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Glu Gly Tyr Thr Tyr Gly Val Val Tyr Ser Tyr Ser Ala
 100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Ile Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 46
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 46

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

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asn Val Leu Pro Asn Gln Tyr Ala
 20 25 30

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

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

Ser Ser Gly Thr Thr Val Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Ala Glu
 65 70 75 80

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

Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105

10

<210> 47
 <211> 379
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

15

ES 2 682 596 T3

<400> 47

```

gaggtgcagc tggtagagtc tgggggaggc ttggtccggc ctggggggtc cctgagactc      60
tcatgtgcag cctctggatt cacctttcat aactatcgca tgaactgggt cggccaggct      120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtggccaac ataaagcaag atggaagtga gaaatcctat      180
gtggactctg tgaggggccc attcaccacc tccagagaca actccaagaa ttcactctat      240
ctgcaaatta acagcctgcg agccgaggac acggctgtct attactgtgc gaggggtgaa      300
gggtacacct atggtgtcgt ctactcctat tccgctatgg acgtctgggg ccaagggacc      360
acagtcacgc tctcctcag                                     379
    
```

5 <210> 48
 <211> 325
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 48

```

tctatgagc tgacacagcc accctcgggtg tcagtgtccc caggacagac ggccaggatc      60
acctgctctg gaaatgtatt gccaaaccaa tatgcttctt ggtaccagca gaagccaggc      120
caggcccttg tattggtgat atataaagac actgagaggc cctcagggat ccctgggcga      180
ttctctggct ccagctcagg gacgacagtc acgttgacca tcagtggagt ccaggcagag      240
gacgaggctg actattactg tcaatcagca gacagcagtg gtgcogatta tgtcttcgga      300
actgggacca aggtcacctg cctag                                     325
    
```

15 <210> 49
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 49

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

25 <210> 50
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 50

Ile Ser Tyr Asp Gly Asp Asn Lys
1 5

35 <210> 51
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 51

ES 2 682 596 T3

Ala Arg Glu Glu Leu Val Gly Leu Met Pro Pro Tyr Tyr Asn Tyr Gly
 1 5 10 15

Leu Asp Val

5
 <210> 52
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 52

Asn Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr
 1 5

10
 <210> 53
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 53

Asp Asn Asp
 1

20
 <210> 54
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 54

Glu Thr Trp Asp Thr Ser Leu Ser Ala Ala Val Val
 1 5 10

30
 <210> 55
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

35
 <400> 55
ggattcacct tcagttccta tgct 24

40
 <210> 56
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

45
 <400> 56
atttcatatg atggcgacaa caaa 24

50
 <210> 57
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

50
 <400> 57
gcgagagaag agttagtcgg gttgatgcct ccctattaca actacggatt ggacgtc 57

55
 <210> 58
 <211> 24

ES 2 682 596 T3

<212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 58
aactccaaca tcggaataa ttat 24

10 <210> 59
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 59
gacaatgat 9

20 <210> 60
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 60
gaaacatggg ataccagcct gagtgctgct gttgtc 36

30 <210> 61
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 61

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

35 <210> 62
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

ES 2 682 596 T3

<400> 62

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

5 <210> 63
 <211> 379
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 63

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggg gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tctgtgtag cctctggatt caccttcagt tcctatgcta tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg gactggagtg ggtggcagtt attcatatg atggcgacaa caaattctac 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaggatc tccagagaca catccaagaa tacactgtat 240
 ctggaaatga acagcctgag agctgcggac acggctatat attactgtgc gagagaagag 300
 ttagtcgggt tgatgcctcc ctattacaac tacggattgg acgtctgggg ccaaggaacc 360
 acggtcaccg tctcgtcag 379

15 <210> 64
 <211> 334
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 64

ES 2 682 596 T3

cagtctgtgt tgactcagcc gccctcagtg tctgoggcgc caggacagaa ggtcaccatc 60
 tctgtctctg gaagcaactc caacatcggg aataattatg tatcgtggta ccagcagctc 120
 ccaggaagag cccccaaact cctcatttat gacaatgatc accgaccctc agggattcct 180
 gaccgattct ctggctccaa gtctggcagc tcagccaccc tggtcatcac cggactccag 240
 actggggagc aggcggatta ttactgcgaa acatgggata ccagcctgag tgctgctgtt 300
 gtcttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc ctac 334

5 <210> 65
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 65

10 **Gly Phe Ser Leu Asn Thr Asn Gly Val Gly**
 1 5 10

15 <210> 66
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 66

20 **Ile Tyr Trp Asn Gly Asn Glu**
 1 5

25 <210> 67
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 67

Val His Trp Pro Gln Gly Leu Thr Thr Val Thr Arg Leu Ala Phe Asp
 1 5 10 15

Ile

30 <210> 68
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 68

Thr Ser Asp Val Gly Arg Tyr Asn Phe
 1 5

40 <210> 69
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

45 <400> 69

ES 2 682 596 T3

<211> 125
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 77

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

10 <210> 78
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 78

ES 2 682 596 T3

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

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

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

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

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

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

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

<210> 79
 <211> 376
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 79

cagatcacct tgagggagtc tggctcctacg ctgggtgaaac ccacacagac cctcacgctg 60
 acctgcacct tctctggctt ctcaactcaac actaatggag tgggtgtggg ctggatccgt 120
 cagccccag gaaagccct ggagtggctt gcaactcattt actggaatgg taatgagggc 180
 tacagcccct ctctgaaaag cagactcacc atcaccaagg acacctcaa aaaccaggtg 240
 gtctgacaa tgaccaacat ggaccctgtg gacacagcca catattactg tgtacactgg 300
 cccaagggt tgactacggt gacaagactt gcttttgata tctggggcca aggactatg 360
 gtcacogtct cttcag 376

10

<210> 80
 <211> 337
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 80

cagtctgcc tgactcagcc tcgctcagtg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc 60
 tctctgactg gaaccaccag tgatgttggc cgttataact ttgtctctg gtaccaacaa 120

ES 2 682 596 T3

caccaggca aagccccaa actcctgatg tatgatgtca gtcagcggcc ctcaggggtc 180
 cctagtcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240
 caggctgagg atgaggctgt ttttactgc tgctcatatg caggcggcaa tttttctct 300
 tatgtcttcg gaactgggac caaggtcacc gtcctag 337

5 <210> 81
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 81

10 **Gly Gly Ser Ile Arg Ser Tyr Tyr**
 1 5

15 <210> 82
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 82

20 **Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr**
 1 5

25 <210> 83
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 83

30 **Ala Arg His Asp Val Ile Val Val Arg Gly Val Phe Asp Val**
 1 5 10

35 <210> 84
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 84

40 **Ser Ser Asp Ile Gly Thr Tyr Asn Leu**
 1 5

45 <210> 85
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 85

50 **Asp Gly Ser**
 1

ES 2 682 596 T3

<210> 86
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 86

Cys Ser Tyr Ala Gly Thr Ser Asp Phe Phe Val Val
1 5 10

 10
 <210> 87
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

 15
 <400> 87
ggtggctcca tccggagtta ctac 24

 <210> 88
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

 20
 <400> 88
atctattaca gtgggaacac c 21

 25
 <210> 89
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

 30
 <400> 89
gcgagacatg atgtgatagt agtcogoggt gtctttgatg tc 42

 <210> 90
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

 35
 <400> 90
agcagtgata ttggaactta taacctt 27

 40
 <210> 91
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

 45
 <400> 91
gatggcagt 9

 50
 <210> 92
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

 55
 <400> 92
tgctcatatg ctggtactag cgatttcttt gtggtt 36

 60
 <210> 93
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

ES 2 682 596 T3

<400> 93

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 Arg 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 His Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Leu Gln
 50 55 60
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Leu Asp Thr Pro 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
 Arg His Asp Val Ile Val Val Arg Gly Val Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser
 115 120

5

<210> 94
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10

<400> 94

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

ES 2 682 596 T3

50

55

60

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

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

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

5 <210> 95
<211> 361
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<400> 95
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccaggt ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatccgg agttactact ggagctggat ccggcagccc 120
ccagggaaagg gactggagtg gattgggcac atctattaca gtgggaacac caactacagc 180
cctccctcc agagtcgagt caccatatca ttagacacgc ccaagaacca attctccctg 240
cggctgagct ctgtgaccgc cgcagacacg gccgtctatt actgtgagag acatgatgtg 300
atagtagtcc gcggtgtctt tgatgtctgg ggccaaggga cagtggtcac cgtctcttca 360
g 361

10
15 <210> 96
<211> 337
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<400> 96
cagtctgcc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtcac ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagcag tgatattgga acttataacc ttgtctcctg gtaccaacaa 120
caccaggca aagcccccaa agtcctaatt tatgatggca gtaagcggcc ctcaggggtt 180
totagtcgct tctctgcctc caagtctggc aacacggcct cctgacaat ctctgggctc 240
caggctgagg acgagactga ttattactgc tgctcatatg ctggtactag cgatttcttt 300
gtggttttcg gcggaggac caagctgacc gtctctgg 337

20
25 <210> 97
<211> 8
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 97

Gly Asp Thr Phe Pro Ala Tyr Trp

1 5

5 <210> 98
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 98

Ile Tyr Pro Ile Asp Ser Glu Thr

1 5

15 <210> 99
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 99

Ala Arg Gly Thr Ser Thr Gly Leu Arg Glu Ala Phe His Ile

1 5 10

20 <210> 100
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 100

Gln Ser Leu Gly Tyr Ser Asp Gly Asn Thr Tyr

1 5 10

30 <210> 101
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 101

Glu Val Ser

1

40 <210> 102
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

45 <400> 102

Met Gln Gly Thr His Trp Pro Pro Met Cys Ser

1 5 10

50 <210> 103
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 103

ES 2 682 596 T3

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

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

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Thr Ser Thr Gly Leu Arg Glu Ala Phe His Ile Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 110
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 110

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

Gln Pro Ala Tyr Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Gly 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 Glu Val Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

Thr His Trp Pro Pro Met Cys Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu
 100 105 110

Ile Lys

10

ES 2 682 596 T3

<210> 111
 <211> 364
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 5 <400> 111
 gaggtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc 60
 tcctgtaggg aatctggaga cacttttccc gcctactgga tcgcctgggt gcgccagatg 120
 cccgggaaag gcctggagtg gatgggaatt atctatccta ttgactotga gaccacatat 180
 agcccgctcct tccaaggcca ggtcaccatt tcagccgaca agtccatcaa caccgcctac 240
 ctgcagtgga gcagcctgaa ggcctcggac tccgccattt attactgtgc ccgggggaca 300
 agtactggcc tcagagaggc tttcatatc tggggccaag ggacaatggt caccgtctct 360
 tcag 364

10 <210> 112
 <211> 343
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 15 <400> 112
 gatgttgtga tgactcagtc tccactctcc ctggccgtca cccttgaca gccggcctac 60
 atctcctgca ggtcaagtca aagcctogga tacagtgatg gaaacaccta tttgaattgg 120
 tttcagcaga gaccaggcca atctcccagg cgcctaattt atgaggtttc taaccggac 180
 tctggggctc cagacagatt cagcggcagt gggctcggca ctgattcac actgaaaatc 240
 agcaggggtg aggctgagga tgttgggact tattactgca tgcaaggtac aactggcct 300
 cccatgtgca gttttggcca ggggaccaag ttggagatca aac 343

20 <210> 113
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 25 <400> 113
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly
1 5

30 <210> 114
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 114
Ile Trp Asn Asp Gly Ser Lys Lys
1 5

35 <210> 115
 <211> 19
 <212> PRT

ES 2 682 596 T3

<213> *Homo sapiens*

<400> 115

Ala Arg Asp Glu Gly Val Gln Met Val Phe Ala Met Pro Asp Tyr Gly
1 5 10 15

5 **Met Asp Val**

<210> 116

<211> 6

<212> PRT

10 <213> *Homo sapiens*

<400> 116

Lys Leu Gly Asp Lys Phe
1 5

15

<210> 117

<211> 3

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

20

<400> 117

Gln Asp Ser
1

25

<210> 118

<211> 11

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

30

<400> 118

Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Ala His Tyr Val
1 5 10

35

<210> 119

<211> 24

<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

<400> 119

40

ggattcacct tcagtaatta tggc

24

<210> 120

<211> 24

<212> ADN

45

<213> *Homo sapiens*

<400> 120

atatggaatg atggaagtaa gaaa

24

50

<210> 121

<211> 57

<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

ES 2 682 596 T3

<400> 121
gcgagagatg aaggtgtaca aatggtgttc gccatgcctg actacggtat ggacgtc 57

5 <210> 122
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 122
aaattggggg ataaattc 18

15 <210> 123
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 123
caagattcc 9

25 <210> 124
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 124
caggcgtggg acagcagcac tgcccattat gtc 33

<210> 125
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 125

Gln Val Gln Leu Leu 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 Asn 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 Asn Asp Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr

35

ES 2 682 596 T3

cagggtgcagt tgctggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aattatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggaatg atggaagtaa gaaatattat 180
 gcagagtcog tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacagtatat 240
 ctacaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatgaa 300
 ggtgtacaaa tgggtttcgc catgcctgac tacggtatgg acgtctgggg ccaggggacc 360
 acggtcaccg tctcctcag 379

5 <210> 128
 <211> 325
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 128
 tcctatgaac tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccagcatc 60
 acttgctctg gagataaatt gggggataaa ttcgcttgct ggtatcagca gaggccaggc 120
 cagtctecta tactggtcac ctatcaagat tccaagcggc cctcagggat ccctgagcga 180
 ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actctgacca tccgcgggac ccaggctatg 240
 gatgaggctg actattactg tcaggcgtgg gacagcagca ctgoccatta tgtcttogga 300
 actgggacca aggtcacctg ccttg 325

15 <210> 129
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 129

Gly Phe Ser Phe Ser Asn Tyr Gly
 1 5

20 <210> 130
 <211> 8
 <212> PRT
 25 <213> *Homo sapiens*

<400> 130

Ile Pro Ser Asp Gly Asn Tyr Gln
 1 5

30 <210> 131
 <211> 10
 <212> PRT
 35 <213> *Homo sapiens*

<400> 131

ES 2 682 596 T3

Ala His Leu Gly Gly Gly Leu Phe Asp Phe
1 5 10

5 <210> 132
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 132

Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Glu Phe
1 5

10 <210> 133
 <211> 3
 <212> PRT
 15 <213> *Homo sapiens*
 <400> 133

Asp Val Asp
1

20 <210> 134
 <211> 8
 <212> PRT
 25 <213> *Homo sapiens*
 <400> 134

Tyr Ser Ser Ala Asp Thr Trp Val
1 5

30 <210> 135
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 35 <400> 135
ggattctcct tcagtaatta tggc 24

40 <210> 136
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 45 <400> 136
ataccgtctg atggaaatta tcaa 24

50 <210> 137
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 55 <400> 137
gccacctcg gggggggttt atttgacttc 30

55 <210> 138
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 138
agcagtgatg ttggtgggta tgagttt 27

5 <210> 139
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 139
gatgtcgat 9

15 <210> 140
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 140
tactcatctg cagacacctg ggtc 24

20 <210> 141
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 141

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

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

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

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

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

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

Ala His Leu Gly Gly Gly Leu Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

30 <210> 142
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

ES 2 682 596 T3

<400> 142

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

5 <210> 143
 <211> 352
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 143
 caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctggggggtc cctgagattg 60
 tectgtgcag cgtctggatt ctccttcagt aattatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcactt ataccgtctg atggaaatta tcaatactat 180
 acagactccg tgaagggccg attcacctgc tccagagaca attccaggaa cacgttgtat 240
 ctgcaaatga agagcctgag agctgaggac acggctagat atcattgtgc ccacctcggg 300
 gggggtttat ttgacttctg gggccagggc accctgggtca ccgtctcctc ag 352

15 <210> 144
 <211> 325
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 144
 cagtctgcc tgaatcagcc tcgctcagtg tccgggtctc ctggacagtc agtctccatc 60
 tcctgcaactg gctccagcag tgatgttggg ggttatgagt ttgtctcctg gtaccaaac 120
 caccaggca aagccccaa actcataatt tatgatgtcg ataagcggcc ctcaggggtc 180

ES 2 682 596 T3

cctgatcgct tctctggctc caggtctggc gacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240
 caggctgagg atgaggctga ttattactgc tactcatctg cagacacctg ggtcttcggc 300
 ggagggacca agctcactgt cctag 325

5 <210> 145
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 145

10 **Gly Gly Phe Thr Ser Ser Tyr Tyr**
 1 5

15 <210> 146
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 146

20 **Val Tyr Tyr Gly Glu Ser Thr**
 1 5

25 <210> 147
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 147

30 **Ala Arg Glu Val Asp Lys Arg Gly Phe Asp Tyr**
 1 5 10

35 <210> 148
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 148

40 **Gln Ser Val Ser Gly Gly Tyr**
 1 5

45 <210> 149
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 149

50 **Gly Ala Ser**
 1

55 <210> 150
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 150

Gln Gln Tyr Gly Arg Thr Pro Leu Thr
 1 5

5 <210> 151
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 151
ggtggcttca ccagtagtta ttat 24

<210> 152
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 152
gtgtattacg gtgaaagtac c 21

20 <210> 153
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 153
gcgagagaag tggataaacg gggctttgac tac 33

30 <210> 154
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 154
cagagtgtta gcggcggtta c 21

40 <210> 155
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 155
ggtgcatcc 9

45 <210> 156
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 156
cagcagtatg gtaggacacc gctcact 27

55 <210> 157
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 157

ES 2 682 596 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 Ser Val Ser Gly Gly Phe Thr Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 158
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 158

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 Gly Gly
 20 25 30

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

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

10

ES 2 682 596 T3

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

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

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

5 <210> 159
<211> 352
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<400> 159
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcagtg tctctggtgg cttcaccagt agttattatt ggagttggat cggcaggcc 120
cccgggaagg gactggagtg gattggctat gtgtattacg gtgaaagtac cgattacaac 180
cctccctca agagtcgagc caccatatca atagacacgt ccaagaacca attctccctg 240
aagctgagct ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtctatt attgtgagag agaagtggat 300
10 aaacggggct ttgactactg gggccagga gccttggtca cgtctcctc ag 352

15 <210> 160
<211> 325
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<400> 160
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctatctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagggttagc ggcggttact tagcctgta ccagcaggaa 120
cctggccagg ctcccaggct cgtcatctat ggtgcatoca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtgccagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcac cagactggag 240
ccagaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta ggacaccgct cactttcggc 300
20 ggagggacca aggtggagat caaac 325

25 <210> 161
<211> 8
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 161
Ile Ser Tyr Asp Ala Ser Ser Lys
1 5

30 <210> 162
<211> 17
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

ES 2 682 596 T3

<400> 162

Ala Lys Ala Leu Arg Tyr Leu Asp Trp Phe Leu Ser Asp Pro Phe Asp
1 5 10 15

Tyr

5 <210> 163
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 163

Gln Ser Val Ser Ser Asp Phe
1 5

15 <210> 164
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 164

Gln Gln Tyr Ala Ala Ser Pro Pro
1 5

25 <210> 165
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 165
ggattcacct tcagtaacta tggc 24

35 <210> 166
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 166
atatottatg atgcaagtag taaa 24

45 <210> 167
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 167
gcgaaagccc tacgatatct tgactggttc ctctcggacc ccttcgacta c 51

55 <210> 168
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

60 <400> 168
cagagtgtta gtagcgactt c 21

65 <210> 169

ES 2 682 596 T3

<211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 169
 cagcagtatg ctgcctcacc gcc

24

10 <210> 170
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 170

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 Asn Tyr
 20 25 30

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

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

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

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

Ala Lys Ala Leu Arg Tyr Leu Asp Trp Phe Leu Ser Asp Pro Phe Asp
 100 105 110

15 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

20 <210> 171
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 171

ES 2 682 596 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 Asp
 20 25 30

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

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

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

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

Pro Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 172
 <211> 373
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 172

cagggtgcaac tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctcagactc 60
 tctctgtgcag cctctggatt caccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccagggt 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcttatg atgcaagtag taaatactat 180
 acagactccg tgcagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacactgttt 240
 ctgcaaatga acagcctgag aggtgaagac acggctgtgt attactgtgc gaaagcccta 300
 cgatatcttg actggttcct ctcggacccc ttcgactact ggggccaggg aacctggtc 360
 accgtctcct cag 373

10

<210> 173
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 173

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gggccagtca gagtgtagt agcgacttct tagcctggta ccagcagaaa 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatoca gcagggccac tggcatccca 180
 gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag ccgactggag 240

ES 2 682 596 T3

cctgaagatt ttgcagtcta ttactgtcag cagtatgctg cctcaccgcc cttcggccaa 300
 gggacacgac tggagattaa ac 322

5 <210> 174
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 174

10 **Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asp Gly**
 1 5

15 <210> 175
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 175

20 **Ile Ser Ser Asp Gly Ser Thr Pro**
 1 5

25 <210> 176
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 176

Ala Lys Asp Trp Ala Leu Phe Arg Trp Leu Arg Thr Phe Asp His
 1 5 10 15

30 <210> 177
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 35 <400> 177

Gln Ser Val Gly Ile Asn
 1 5

40 <210> 178
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 45 <400> 178

Gln Gln Tyr Asn Asp Trp Pro Pro Trp Thr
 1 5 10

50 <210> 179
 <211> 24
 <212> AND
 <213> *Homo sapiens*

	<400> 179		
	ggattcacct tcagtagcga cggc		24
5	<210> 180 <211> 24 <212> ADN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 180 atatcatctg acggaagtac tcca		24
15	<210> 181 <211> 45 <212> ADN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 181 gccaaagatt gggcattatt tcggtggcta cgaacctttg atcat		45
25	<210> 182 <211> 18 <212> ADN <213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 182 cagagtgttg gcatcaat		18
35	<210> 183 <211> 30 <212> ADN <213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 183 caacaatata atgactggcc tccgtggacg		30
	<210> 184 <211> 122 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 184		
	Leu Val Glu 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 Asp		
	20 25 30		
	Gly Met His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val		
	35 40 45		
	Ala Phe Ile Ser Ser Asp Gly Ser Thr Pro Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
	50 55 60		

ES 2 682 596 T3

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 Met Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Trp Ala Leu Phe Arg Trp Leu Arg Thr Phe Asp His Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 185
<211> 108
5 <212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 185

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

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

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

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Ser Gly Phe Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 186
<211> 367
15 <212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<400> 186

ctggtggaac tgggtggagtc tgggggagggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agcgacggca tgcactgggt ccgccagagt 120

ES 2 682 596 T3

ccaggcaggg ggctggaatg ggtggccttt atatcatctg acggaagtac tccatactat 180
 gctgactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacactgtat 240
 ctgcaaatga acagcctcag agctgaggac acggctatgt acttctgtgc caaagattgg 300
 gcattatttc ggtggctacg aacctttgat cattggggcc aggggaaccct ggtcaccgtc 360
 tcctcag 367

<210> 187
 <211> 325
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 187

gaaacgggta tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctctggggg aagagccacc 60
 ctctcctgca gggccagtoa gagtgttggc atcaatttag cctggtacca gcagaaacct 120
 ggccaggctc ccaggctcct catctatggg gcacocacca gggcctctgg tttccagcc 180
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttoactctca ccatcaccag cctgcagtct 240
 gaagattttg cagtctatta ctgtcaacaa tataatgact ggcctccgtg gacgttcggc 300
 caagggacca aggtggagat caaac 325

<210> 188
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 188

Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr Trp
1 5

<210> 189
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 189

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Ile
1 5

<210> 190
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 190

Ala Arg His Ala Ile Arg Gly Asp Gly Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 191
 <211> 6

<212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 191
 5
Lys Leu Gly Glu Lys Tyr
1 5
 <210> 192
 <211> 3
 10 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 192
Gln Asp Thr
1
 15
 <210> 193
 <211> 9
 20 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 193
Gln Ala Trp Asp Thr Asn Thr Val Ile
1 5
 25
 <210> 194
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 30 <400> 194
ggatacagct ttaccaacta ctgg 24
 35 <210> 195
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 40 <400> 195
atctatcctg gtgactctga tacc 24
 45 <210> 196
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 196
gcgagacatg caatacagg agatgggttt gactac 36
 50 <210> 197
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 55 <400> 197
aaattggggg aaaaatac 18
 <210> 198

ES 2 682 596 T3

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

<210> 202
 <211> 358
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 202
 gaggtgcagc tgggtgcagtc tggagcagaa gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc 60
 tcctgtcagg cttctggata cagctttacc aactactgga tcgcctgggt ggcagatg 120
 ccgggaaag gcctggagtg gatgggcatc atctatcctg gtgactctga tatcaaatac 180
 agcccgctct tccgaggcca ggtcaccatc tcagccgaca agtccatcag taatgccttc 240
 ctccagtggc gaagcctgag ggcctoggac accgccatgt attactgtgc gagacatgca 300
 atacgaggag atgggtttga ctactggggc caggaaccc tggtcaccgt ctctcag 358

10

<210> 203
 <211> 319
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 203
 tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccaccatc 60
 acctgctctg gagataaatt gggggaaaaa tacgcttget ggtatcagca gaagccaggc 120

ES 2 682 596 T3

cagtcccctg ttttggatcat gtatcaagat acgaagcggc cctcagggat ccctgagcga 180
 ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actctgacca tcagcgggac ccgggctatg 240
 gatgaagctg actattactg tcaggcgtgg gacaccaaca ctgtgatatt cggcggaggg 300
 accaagctga ccgtcctag 319

5 <210> 204
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 204

10 **Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr**
 1 5

15 <210> 205
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 205

20 **Gly Arg His Ala Ile Arg Gly Asp Gly Phe Asp Tyr**
 1 5 10

25 <210> 206
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 206

atctatcctg gtgactctga tacc 24

30 <210> 207
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 207

35 **gggagacatg caatacgagg agatgggttt gactac 36**

40 <210> 208
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 208

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

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

ES 2 682 596 T3

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

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

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

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

Gly Arg His Ala Ile Arg Gly Asp Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 209
 <211> 358
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 209

gaggtgcagc tgggtgcagtc tggagcagaa gtgaaaaagc cccgggagtc tctgaagatc 60
 tcctgtcagg cttctggata cagctttacc aactactgga tcgcctgggt gcgccagatg 120
 cccgggaaag gcctggagtg gatgggcatc atctatcctg gtgactctga taccaaatac 180
 agccccgtcct tccgaggcca ggtcaccatc tcagccgaca agtccatcag tactgccttc 240
 ctccagtggc gaagcctgag ggctcggac accgccatgt attactgtgg gagacatgca 300
 atacgaggag atgggtttga ctactggggc cagggaaacc tggtcaccgt ctctcag 358

10

<210> 210
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 210

Glu Arg His Ala Ile Arg Gly Asp Gly Phe Asp Tyr
 1 5 10

20

<210> 211
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

25

<400> 211

gagagacatg caatacgagg agatggggtt gactac

36

ES 2 682 596 T3

<210> 212
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 212

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

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

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

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

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

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

Glu Arg His Ala Ile Arg Gly Asp Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

10

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

15

<400> 213

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Glu Lys Tyr Ala
 20 25 30

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

Gln Asp Thr Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

ES 2 682 596 T3

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Arg Ala Met
 65 70 75 80

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

5 <210> 214
 <211> 358
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 214
 gaggtgcagc tgggtgcagtc tggagcagaa gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc 60
 tcctgtcagg cttctggata cagctttacc aactactgga tcgcctgggt gcgccagatg 120
 cccgggaaag gcctggagtg gatgggcatc atctatcctg gtgactctga taccaaatac 180
 agcccgtcct tccgaggcca ggtcaccatc tcagccgaca agtccatcag tactgccttc 240
 ctccagtggc gaagcctgag ggctcggac accgccatgt attactgtga gagacatgca 300
 atacgaggag atgggtttga ctactggggc cagggaaacc tggtcaccgt ctctcag 358

10
 15 <210> 215
 <211> 319
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 215
 tcctatgtcc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccaccatc 60
 acctgctctg gagataaatt gggggaaaaa tacgcttgct ggtatcagca gaagccaggc 120
 cagtcccctg ttttggtcat gtatcaagat acgaagcggc cctcagggat ccctgagcga 180
 ttctctggct ccaactctgg gaacacagcc actctgacca tcagcgggac ccgggctatg 240
 gatgaagctg actattactg tcaggcgtgg gacaccaaca ctgtgatatt cggcggaggg 300
 accaagctga ccgtcctag 319

20
 25 <210> 216
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 216
 Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Tyr
 1 5

30 <210> 217
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 217

Ile His Pro Ser Ser Gly Gly Thr
 1 5

5 <210> 218
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 218

Gly Arg Ala Phe Arg Ile Leu Gly Leu Ser Asp Val Phe Val Asn Asp
 1 5 10 15

15 <210> 219
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 219

Gln Gly Ile Asn Asn Tyr
 1 5

25 <210> 220
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 220

30 Ala Ala Ser
 1

35 <210> 221
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 221

Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Phe Thr
 1 5

40 <210> 222
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

45 <400> 222

ggatacacct tcaccaacta ctat 24

50 <210> 223
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

55 <400> 223

atccacccta gtagtggtgg caca 24

ES 2 682 596 T3

<210> 224
 <211> 48
 <212> ADN
 5 <213> *Homo sapiens*

 <400> 224
gggagagcct ttcggatctt gggactttcg gatgtctttg ttaatgac 48

 10 <210> 225
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

 15 <400> 225
cagggcatta acaattat 18

 <210> 226
 <211> 9
 20 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 226
gctgcatcc 9

 25 <210> 227
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

 30 <400> 227
caaaagtata acagtgcccc cttcaact 27

 <210> 228
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

 40 <400> 228

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 Asn Tyr
20 25 30

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

ES 2 682 596 T3

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

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

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

Gly Arg Ala Phe Arg Ile Leu Gly Leu Ser Asp Val Phe Val Asn Asp
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 229
<211> 107
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 229

5

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

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

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

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

10

<210> 230
<211> 370
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<400> 230

15

caggtgcagt tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt

60

ES 2 682 596 T3

tcctgcaagg catctggata caccttcacc aactactata tacactgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag gacttgagt gatgggaata atccacccta gtagtgggtg cacaagctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtttcc 240
 atggacctga gcagcctgag atctgaagac acggccgtat attactgtgg gagagccttt 300
 cggatcttgg gactttcgga tgtctttggt aatgactggg gccagggaac tgtggtcacc 360
 gtctcctcag 370

5 <210> 231
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 231

gacatccaga tgaccocagtc tccatocctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcgagtca gggcattaac aattatttag cctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagttc ctaagctcct gatctatgct gcatccacat tgcaatcagg ggtcccctct 180
 cggttcagtg gcagtggatc tgggacagct ttcaccctca ccatcctcag cctgcagcct 240
 gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaag tataacagtg cccccttcac tttoggcct 300
 10 gggaccaaag tggacatcaa ac 322

15 <210> 232
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 232

Gly Phe Thr Phe Thr Ser Ser Ala
 1 5

20 <210> 233
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 25 <400> 233

Ile Val Leu Gly Ser Gly Asn Thr
 1 5

30 <210> 234
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 35 <400> 234

ES 2 682 596 T3

Ala Ala Asp Arg Gly Arg Gly Gly Tyr Asn Val Tyr Thr Tyr

1 5 10

5 <210> 235
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 235

Gln Thr Ile Ser Asn Thr Tyr

1 5

15 <210> 236
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 236

Gln Gln Asn Gly Gln Ser Pro Trp Thr

1 5

20 <210> 237
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 237

30 **ggattcacct ttactagctc tgct** 24

<210> 238
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 238

atcgtccttg gcagcggtaa caca 24

40 <210> 239
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

45 <400> 239

gcggcagata ggggtagagg tggatacaat gtatacactt ac 42

50 <210> 240
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 240

55 **cagactatta gtaacaccta c** 21

<210> 241
 <211> 27

ES 2 682 596 T3

<212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 241

5 cagcagaatg gtcagtcacc ttggacg

27

<210> 242
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10

<400> 242

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

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

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

Gly Trp Ile Val Leu Gly Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

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

15

Gln Gly Thr Leu Val Ala Val Ser Ser
 115 120

<210> 243
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

20

<400> 243

ES 2 682 596 T3

Glu Ile Val Met 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 Thr Ile Ser Asn Thr
 20 25 30

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

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

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

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

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

5 <210> 244
 <211> 364
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 244
 caaatgcagc tgggtgcagtc tgggcctcaa gtgaagaagc ctgggacctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggatt cacctttact agctctgcta tgcagtgggt gcggcaggct 120
 cgtggacagc gccctgagtg gataggatgg atcgctcttg gcagcggtaa cacaaactac 180
 gcacagaagt tccaggaaag agtcaccctt accagggaca tgtccactgc tacagcctac 240
 atggaactga gcagcctgag atccgaggac acggccgtgt attactgtgc ggcagatagg 300
 ggtagaggtg gatacaatgt atacaactac tggggccagg ggaccctggt cgccgtctcc 360
 tcag 364

15 <210> 245
 <211> 325
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 245

ES 2 682 596 T3

gaaattgtga tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gactattagt aacacctagc tggcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcaetc tcaccatccg cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagaatggtc agtcaccttg gacgttcggc 300
caagggacca acgtggaaat caaac 325

5 <210> 246
<211> 8
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 246

10 **Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr**
1 5

15 <210> 247
<211> 8
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 247

20 **Ile Asn Pro Met Thr Gly Ala Thr**
1 5

25 <210> 248
<211> 18
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 248

Ala Arg Gly Gly Pro Thr Ser Thr Arg Ile Thr Gly Lys Arg His Phe
1 5 10 15

Asp Leu

30 <210> 249
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
35 <400> 249

Ile Ser Asp Val Gly Ala Tyr Asn Ser
1 5

40 <210> 250
<211> 3
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 250

Asp Val Thr
1

5 <210> 251
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 251

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

10 <210> 252
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 252
ggatacacct tcaccggcta ctat 24

20 <210> 253
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 253
atcaacccta tgactggagc caca 24

30 <210> 254
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 254
gcgagaggag gtcctaccag tacccgaata acagggaaac ggcacttcga tctc 54

40 <210> 255
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

45 <400> 255
atcagtgacg ttggtgctta taactct 27

50 <210> 256
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

55 <400> 256
gacgtcact 9

<210> 257
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 257

agctcatata caaccagtga cacttatgtc

30

5

<210> 258
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 258

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

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

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

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

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

Ile Glu Leu Thr Arg Leu Arg Ser Asp Asp Ser Ala Val Phe Phe Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Gly Pro Thr Ser Thr Arg Ile Thr Gly Lys Arg His Phe
 100 105 110

Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Ile Thr Val Ala Ser
 115 120 125

10

<210> 259
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 259

ES 2 682 596 T3

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

5 <210> 260
 <211> 376
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 260
 cgggcgcaagt tgggtgcagtc tgcggctgag atgaagaacc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tctgogagg cttctggata caccttcacc ggctactatg tacactggat gcgacaggcc 120
 cccggacaag gactagagtg gatgggatgg atcaacccta tgactggagc cacaaagtct 180
 ccacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cttccaccac cgcaaccac 240
 atagaactga ctaggctgag atctgaogac agtgccgtct ttttctgtgc gagaggaggt 300
 cctaccagta cccgaataac agggaaacgg cacttcgatc tctggggcog cggcaccctg 360
 atcactgtcg cctcag 376

15 <210> 261
 <211> 331
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 261

ES 2 682 596 T3

cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggagagtc gatcaccatc 60
 tcctgcaactg gaaccatcag tgacgttggg gcttataact ctgtctcctg gtaccaacaa 120
 cactcaggca cagccccga actcatcatt tatgacgtca ctaatcggcc cgcaggggtt 180
 tcgagtogct tctctggctc caagtctggc aacaaggcct ccctgacct ctcttggctc 240
 cagtctgagg acgaggctga atattattgc agctcatata caaccagtga cacttatgtc 300
 ttcggaagtg ggaccaagt caccgtccta a 331

5 <210> 262
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 262

10 **Gly Phe Thr Val Ser Thr Thr Tyr**
 1 5

15 <210> 263
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 263

20 **Ile His Thr Gly Gly Ile Phe Gly Val Gly Gly Thr**
 1 5 10

25 <210> 264
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 264

30 **Ala Arg Glu His Arg Gly Thr Ile Asp Ala Phe Asp Ala**
 1 5 10

35 <210> 265
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 265

40 **Gln Asn Ile Arg Asn Tyr**
 1 5

45 <210> 266
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 266

Thr Thr Ser
 1

ES 2 682 596 T3

<400> 274

Glu Val Arg Leu Glu 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 Val Ser Thr Thr
 20 25 30

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

Ser Leu Ile His Thr Gly Gly Ile Phe Gly Val Gly Gly Thr Ser Tyr
 50 55 60

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

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

Ile Tyr Phe Cys Ala Arg Glu His Arg Gly Thr Ile Asp Ala Phe Asp
 100 105 110

Ala Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Ile Val Ser Ser
 115 120

5

<210> 275

<211> 106

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

10

<400> 275

ES 2 682 596 T3

Asp Ile His 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 Asn Ile Arg 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 Thr Thr Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Val Asn Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Ser Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Asp Gly Trp Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Met Lys
 100 105

<210> 276
 <211> 373
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 276
 gaggtgcgac tggaggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacogtcagt accacctaca tggcctgggt ccgccaggct 120
 ccaggaagg ggctggaatg ggtctcactt attcataccg gtggcatttt tggcgttggc 180
 ggtacatcct acgcagactc cgtgaagggc agattcacca tctccagaga cacttccaag 240
 aacacagtgt ctcttcaaat gagcagcctg agagtcgagg acacggccat ctatttctgt 300
 gcgaggaac atcggggaac tatogatgct tttgatgcct ggggccaagg gacagtggtc 360
 atcgtctctt cag 373

10

<210> 277
 <211> 319
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 277

ES 2 682 596 T3

gacatccaca tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctggtggaga cagagtcacc 60
 atcaottgoc gggcaagtca gaacattcga aattatttaa attggtatca acataaacca 120
 gggaaagccc ctaaactcct gatctatact acatcccgtc tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccgtcaacag cctgcaacca 240
 gaagactttg caagttacta ctgtcaacag agttacgatg ggtggacgtt cggccagggg 300
 accaaggtgg aatgaaac 319

5 <210> 278
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 278

10 **Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Glu**
 1 5

15 <210> 279
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 279

20 **Ile Asp Phe Thr Gly Ser Thr Ile**
 1 5

25 <210> 280
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 280

30 **Val Arg Asp Ala Gly Arg Trp Gly Thr Ser Trp Tyr Tyr Phe Asp Tyr**
 1 5 10 15

35 <210> 281
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 281

40 **Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp**
 1 5

45 <210> 282
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 282

Gly Asn Asn
1
 5 <210> 283
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 283

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Asn Gly Trp Val
1 5 10
 10 <210> 284
 <211> 24
 <212> ADN
 15 <213> *Homo sapiens*
 <400> 284
ggattcactt tcagtagcta tgag 24

20 <210> 285
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 25 <400> 285
attgatttta ctggctcaac catc 24

30 <210> 286
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 286
gtgagagatg cgggocgttg gggcaccagt tggactact ttgactat 48

35 <210> 287
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 40 <400> 287
agctccaaca tcggggcagg ttatgat 27

45 <210> 288
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 50 <400> 288
ggtaacaac 9

55 <210> 289
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 289
 60 **cagtcgtatg acagcagcct gaatggttg gtg 33**

ES 2 682 596 T3

<210> 290
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 290

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

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

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

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

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

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

10 <210> 291
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 291

ES 2 682 596 T3

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

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

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

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

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

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

Leu Asn Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 292
 <211> 370
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 292

gcggtgcagc tgggtggagtc tgggggcccgc ttggcacagc ctggacggtc cctgaggctc 60
 tcgtgtaaag tgtctggatt cactttcagt agctatgaga tgaactgggt ccgccaggct 120
 ccaggaagg ggctggagtg gattgcatac attgatttta ctggctcaac catctactac 180
 gcagactctg tgaagggacg attcaccatt tocagagaca ccgccaggaa ctcactctat 240
 ctgcagatga acaaattgag agtcgaggac acggctgttt attactgtgt gagagatgcg 300
 ggccgttggg gcaccagttg gtactacttt gactattggg gccagggaac cctggtcacc 360
 gtctcctcag 370

10

<210> 293
 <211> 334
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 293

cagtctgtgc tgaocgagcc gccctcagtg totggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
 tctgcaactg ggctcagctc caacatcggg gcaggttatg atatacactg gtatcagcag 120
 attccaggaa aagcccccaa actcctcctc tatggtaaca acaatcggcc ctcaggggtc 180

ES 2 682 596 T3

cctgaccgat tctctggctc taagtctggc acctcagtct ccttggccat cactgggctc 240
 caggctgagg atgaggctga ttattactgc cagtcgtatg acagcagcct gaatgggttg 300
 gtgttcggcg gagggaccag gttgaccgtc ctaa 334

5 <210> 294
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 294

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

10
 15 <210> 295
 <211> 370
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 295

gcggtgcagc tggtggagtc tgggggagac ttggcacagc ctggacggtc cctgaggctc 60
 tcgtgtaaag tgtctggatt cactttcagt agctatgaga tgaactgggt ccgccaggct 120
 ccaggaagg ggctggagtg gattgcatac attgatttta ctggctcaac catctactac 180
 gcagactctg tgaagggacg attcaccatt tccagagaca ccgccaggaa ctcactctat 240
 ctgcagatga acaaattgag agtcgaggac acggctgttt attactgtgt gagagatgag 300

```

ggccggttggg gcaccagttg gtactacttt gactattggg gccagggaac cctggtcacc      360
gtctcctcag                                          370

    <210> 296
    <211> 8
5    <212> PRT
    <213> Homo sapiens

    <400> 296

    Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Glu
    1                               5

10

    <210> 297
    <211> 8
    <212> PRT
15   <213> Homo sapiens

    <400> 297

    Ile Asp Phe Thr Gly Ser Ile Ile
    1                               5

20

    <210> 298
    <211> 16
    <212> PRT
25   <213> Homo sapiens

    <400> 298

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

30

    <210> 299
    <211> 9
    <212> PRT
    <213> Homo sapiens

35   <400> 299

    Ser Ser Asn Phe Gly Ala Gly Tyr Asp
    1                               5

40

    <210> 300
    <211> 2
    <212> PRT
    <213> Homo sapiens

    <400> 300

    Gly Ser
    1

45

    <210> 301
    <211> 11
    <212> PRT
50   <213> Homo sapiens

    <400> 301

```

ES 2 682 596 T3

	Gln	Ser	Tyr	Asp	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Trp	Val	
	1				5					10		
5												
10												24
15												
20												24
25												
30												
35												
40												
45												6
50												
55												33
60												

ES 2 682 596 T3

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

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

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

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

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

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

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

Trp Gly Gln Gly Val Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 309
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 309

10

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

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

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

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

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

ES 2 682 596 T3

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

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

5 <210> 310
<211> 370
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<400> 310
gcggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacggc ctggagggtc cctgagactc 60
tctctgtcag cctctggatt caccttcagt tctcatgaga tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggaag ggctggaatg gctttcatac attgatttta ctggcagtat tatatactac 180
gcagactctg tgaggggtcg gttcaccatc tccagagaca acaccaaaaa gtcactgttt 240
ctgcaaatga acagcctgag agacgaggat acggctcttt attactgtgc gagagatggg 300
ggtcgttggg gcaccagttg gtactacttt gactactggg gccagggagt cctggtcacc 360
10 gtctctcag 370

15 <210> 311
<211> 331
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<400> 311
cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccata 60
acctgcactg ggagcagttc caacttcggg gcaggttatg atggacactg gtaccagcaa 120
cttcaggaa cagcccccaa actcctcatc tatggtagca atcggcctc aggggtccct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagtctccc tggccatcac tgggctccag 240
gctgacgatg aggctgatta ttactgccag tcctatgaca gcagcctgag cgcttgggtg 300
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta c 331

20 <210> 312
<211> 8
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

25 <400> 312

Ile Asp Phe Thr Gly Ser Ser Ile
1 5

30 <210> 313
<211> 24
<212> ADN

ES 2 682 596 T3

<213> *Homo sapiens*

<400> 313

attgatttta ctggcagtag tata

24

5

<210> 314

<211> 123

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

10

<400> 314

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

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

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

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

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

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

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

Trp Gly Gln Gly Val Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

15

<210> 315

<211> 370

<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

20

<400> 315

gcggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacggc ctggagggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt tctcatgaga tgcactgggt cggccaggct 120

ccaggaagg ggctggaatg gctttcatac attgatttta ctggcagtag tatatactac 180

gcagactctg tgaggggtcg gttcaccatc tccagagaca ataccaaaa gtcactgttt 240

ctgcaaatga acagcctgag agacgaggat acggctcttt attactgtgc gagagatggg 300

ggtcggtggg gcaccagttg gtactacttt gactactggg gccagggagt cctggtcacc 360

gtctcctcag

370

5 <210> 316
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 316
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr
1 5

10 <210> 317
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 317
Phe Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr
1 5

20 <210> 318
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 318
Ala Lys Asp Ser Ala Lys Thr Ala Ser Ala Tyr Tyr Gly Leu Asn Phe
1 5 10 15

Phe Tyr Tyr Gly Met Asp Val
20

30 <210> 319
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 319
Ser Ser Asn Ile Gly Lys Asn Tyr
1 5

35 <210> 320
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 320
Lys Asn Asn
1

45 <210> 321
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 321

ES 2 682 596 T3

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp 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 Phe Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Phe Val Gln Asn 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 Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

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

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

Ser Ser
 130

<210> 329
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 329

5

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

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

Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Val Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

10

ES 2 682 596 T3

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

5 <210> 330
 <211> 391
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 330

caggtgcagc	tggtgcagtc	tggggctgaa	gtgaagaacc	ctggggcctc	agtgaaggtc	60
tcttgcaagg	cttctggata	caccttcacc	gactactata	tacactgggt	gogacaggcc	120
cctggacaag	gacttgagtg	gatgggctgg	ttcaacccta	acagtgggtg	cacaaacttt	180
gtacagaact	ttcagggcag	ggtcaccatg	accagggaca	cgtccatcag	cacagcctac	240
atggagctca	gcaggctgag	atctgacgac	acggccatgt	attactgtgc	gaaagattcc	300
gcgaaaactg	cgagtgctta	ttatggactg	aacttcttct	actacggtat	ggacgtctgg	360
ggccaaggga	ccacggtcac	cgtctcctca	g			391

10 <210> 331
 <211> 331
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 331

cagtctgtac	tgagtcagcc	accctcagca	tctgggaccc	cgggcagag	ggtcaccatc	60
tcttgttctg	gaagcagttc	caacatcgga	aagaattatg	tatattggta	ccagcaggtc	120
ccaggaacgg	ccccaaaact	cctcatgttt	aagaataatc	agcgaccctc	aggggtccct	180
gaccgattct	ctggctccaa	gtctggcacc	tctgcctccc	tggccatcag	tgggctccgg	240
tccgaggatg	aggctgatta	ttattgttca	gcgtgggatg	gcagcctgag	tcgtccacta	300
ttcggcggag	ggaccaaggt	gaccgtccta	g			331

20 <210> 332
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

ES 2 682 596 T3

<400> 332

Ala Arg Asp Ser Ala Lys Thr Ala Ser Ala Tyr Tyr Gly Leu Asn Phe
 1 5 10 15

Phe Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 20

5 <210> 333
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 333

gcgagagatt ccgcgaaaac tgcgagtgct tattatggac tgaacttctt ctactacggt 60
 atggacgctc 69

15 <210> 334
 <211> 130
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 334

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp 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 Phe Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Phe Val Gln Asn 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 Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Asp Ser Ala Lys Thr Ala Ser Ala Tyr Tyr Gly Leu Asn Phe
 100 105 110

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

Ser Ser
 130

ES 2 682 596 T3

<210> 335
 <211> 391
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 5 <400> 335
cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgaa gtgaagaacc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcttgcaagg cttctggata caccttcacc gactactata tacactgggt gogacaggcc 120
cctggacaag gacttgagtg gatgggctgg ttcaacccta acagtgggtg cacaaacttt 180
gtacagaact ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240
atggagctca gcaggctgag atctgacgac acggccatgt attactgtgc gagagattcc 300
gcgaaaactg cgagtgctta ttatggactg aacttcttct actacggtat ggacgtctgg 360
ggccaagga ccacggtcac cgtctcctca g 391

10 <210> 336
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 336
Gly Phe Arg Phe Asn Glu Phe Asn
1 5

20 <210> 337
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 337
Ile Ser Ile Asp Gly Arg His Lys
1 5

30 <210> 338
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 338
Val Thr Asp Gly Lys Ala Val Asp Gly Phe Ser Gly Ile Leu Glu Phe
1 5 10 15

40 <210> 339
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 339
Gln Ser Val Gly Gly Tyr
1 5

<210> 340
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 340

Asp Ala Ser
1
 10
 <210> 341
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 15
 <400> 341

Gln Gln Arg Asn Asn Trp Pro Pro Leu Thr
1 5 10
 20
 <210> 342
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 25
 <400> 342
ggattcaggt tcaatgaatt taat 24
 30
 <210> 343
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 35
 <400> 343
atctcaattg atgggagaca caaa 24
 40
 <210> 344
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 45
 <400> 344
gtgacagatg ggaaagcagt ggatggggtt tccggaattt tagagttc 48
 50
 <210> 345
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 55
 <400> 345
cagagtgttg gcggtac 18
 60
 <210> 346
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 65
 <400> 346
gatgcatcc 9
 70
 <210> 347

ES 2 682 596 T3

<211> 30
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 347
 cagcagcgtgta acaactgggcc accactcact 30

10 <210> 348
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 348

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 Arg Phe Asn Glu Phe
 20 25 30

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

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

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

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

Val Thr Asp Gly Lys Ala Val Asp Gly Phe Ser Gly Ile Leu Glu Phe
 100 105 110

15 Trp Gly Gln Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Thr
 115 120

20 <210> 349
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 349

ES 2 682 596 T3

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Trp Ala Ser Gln Ser Val Gly Gly Tyr
 20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 350
 <211> 370
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 350

cagggtgcaac tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caggttcaat gaatttaata tgcaactgggt cggccaggct 120
 ccaggcaagg gcctggagtg ggtggcagtt atctcaattg atgggagaca caaatacaac 180
 gcagactccg tggagggccg attcaccatc tccagagaca attocagaaa cactctttat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agttgaggac acggctcttt attactgtgt gacagatggg 300
 aaagcagtg atgggttttc cggaatttta gagttctggg gccagggaac cccagtcacc 360
 gtctccacag 370

10

<210> 351
 <211> 325
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 351

gaaattgtgt tgacacagtc tccggccacc ctgtctttgt ctccagggga gagagccacc 60
 ctctcctgct gggccagtca gagtgttggc ggctacttag cctggtacca acaaaaacct 120
 ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccatca gggccactgg catcccagcc 180
 aggttoagtg gcagtgggtc tgggacacac ttaactotca ccatcaatag cctcgagcct 240

ES 2 682 596 T3

gaagattttg ccgtttatta ctgtcagcag cgtaacaact ggccaccact cactttcggc 300
ggagggacca aggtggagat caaac 325
 <210> 352
 <211> 8
 5 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 352

Gly Phe Ser Phe Ser Asn Phe Glu
 10 **1 5**
 <210> 353
 <211> 24
 <212> ADN
 15 <213> *Homo sapiens*
 <400> 353
ggattcagtt tcagtaactt tgag 24
 20 <210> 354
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 25 <400> 354
attgatttta ctggctctac catc 24
 <210> 355
 <211> 48
 <212> ADN
 30 <213> *Homo sapiens*
 <400> 355
gtgagagatg cgggccggtg gggcaccagt tggtactatt ttgactat 48
 35 <210> 356
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 40 <400> 356
cagtcatatg acagcagcct gaatggttgg gtg 33
 <210> 357
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 45 <400> 357
 50 **Ala Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ala Gln Pro Gly Arg**
1 5 10 15

ES 2 682 596 T3

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Phe
 20 25 30

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

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

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

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

5

<210> 358
 <211> 370
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 358

gcggtgcagc tgggtggaatc cggggggcggc ttggcacagc ctggacggtc cctgaggctc 60
 tcgtgtaaag tgtccggatt cagtttcagt aactttgaga tgaactgggt ccgccaggct 120
 ccaggggaagg ggctggagtg gattgcatat attgatttta ctggctctac catctactac 180
 tcagactctg tgaagggacg gtttaccatt tccagagaca ccgccaggaa ctactctat 240
 ctgcagatga acaaattgag agtcgaggac acggctgttt attactgtgt gagagatgcg 300
 ggccggtggg gcaccagttg gtactatattt gactattggg gccagggcac cctggtcacc 360
 gtctoctcag 370

10

<210> 359
 <211> 334
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 359

ES 2 682 596 T3

cagtctgtgc tgacgcagcc gcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
 tcttgcactg ggctcagctc caacatcggg gcagggtatg atatacactg gtatcagcag 120
 attccaggaa aagcccccaa actcctcatc tatggtaaca acaatcggcc ctcaggggtc 180
 cctgaccgat tctctggctc taagtctggc acctcagtet ccttggccat cactgggctc 240
 caggctgagg atgaggctga ttattactgc cagtcatatg acagcagcct gaatggttgg 300
 gtgttcggcg gagggaccag gttgaccgtc ctaa 334

5 <210> 360
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 360

Gly Phe Thr Phe Gly Ser Tyr Glu
 1 5

15 <210> 361
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 361

20 Gln Ser Tyr Asp Asn Ser Leu Asn Gly Trp Val
 1 5 10

25 <210> 362
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 362
ggattcacct toggaagcta tgaa 24

30 <210> 363
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 363
attgacttta ctggttcaac catc 24

40 <210> 364
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

45 <400> 364
gtgagagatg cgggcoctg gggcaccagt tggtattact ttgactat 48

50 <210> 365
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

ES 2 682 596 T3

<400> 365
ggcaacaac 9

5 <210> 366
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 366
cagtcctatg acaacagcct gaatggttgg gtg 33

15 <210> 367
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 367

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

20 <210> 368
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 368

ES 2 682 596 T3

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

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

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

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

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

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

Leu Asn Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Thr Val Leu
 100 105 110

5 <210> 369
 <211> 370
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 369
 gcggtgcggc tgggtggagtc tgggggaggc ttggcacagc ctggacggtc cctgagactc 60
 tcgtgtcaag tgtctggatt caccttcgga agctatgaaa tgaactgggt cggccaggct 120
 cccggcaagg gactggagtg gattgcctac attgacttta ctggttcaac catctactac 180
 gcagactctg tgaagggcog attcaccata tccagaaaca ccgccaggaa ctactctat 240
 ctgcagatga acagcctgag agtcgaggac acggctgttt attactgtgt gagagatgcg 300
 ggccgctggg gcaccagttg gtattacttt gactattggg gcccaaggaac ccgggtcacc 360
 gtotcccag 370

15 <210> 370
 <211> 334
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 370

ES 2 682 596 T3

cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg totggggccc cagggcagag ggtcaccatc	60
tctgcactg ggatcagctc caacatcggg gcaggttatg atatacactg gtatcagcag	120
attccaggaa aagcccccaa actcctcgtc tatggcaaca acaatcggcc ctcaggagtc	180
cctgaccgat tctctggctc taagtctggc acctcagttc ccctggccat cactgggctc	240
caggttgagg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acaacagcct gaatggttg	300
gtgttcggcg gagggaccag gttgaccgtc ctaa	334

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un anticuerpo aislado, o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une a un epítopo formado por las proteínas del citomegalovirus humano (hCMV) UL130 y UL131A, en el que el anticuerpo o fragmento neutraliza la infección de células epiteliales humanas por el hCMV y comprende regiones variables de la cadena pesada y ligera que tienen secuencias de aminoácidos al menos un 85 % idénticas a las SEQ ID NOs: 61 y 62, respectivamente.
- 10 2. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la reivindicación 1, en el que el anticuerpo comprende secuencias CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena pesada como se expone en las SEQ ID NOs: 49, 50 y 51, respectivamente, y secuencias CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena ligera como se expone en las SEQ ID NOs: 52, 53 y 54, respectivamente.
- 15 3. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el anticuerpo comprende las secuencias de la región variable de la cadena pesada y ligera expuestas en las SEQ ID NOs: 61 y 62, respectivamente.
- 20 4. El anticuerpo o fragmento de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo monoclonal humano, un anticuerpo monocatenario, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv o scFv.
- 25 5. Una molécula de ácido nucleico aislada que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el anticuerpo o fragmento de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores.
6. Un vector de expresión que comprende un ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 5.
7. Una célula transformada con un vector de expresión de acuerdo con la reivindicación 6.
- 30 8. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 35 9. La composición farmacéutica de la reivindicación 8, que además comprende un segundo anticuerpo, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, que neutraliza la infección por hCMV.
- 40 10. La composición farmacéutica de la reivindicación 9 en la que dicho segundo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se une a una proteína del hCMV gH, una proteína del hCMV gB, una proteína del hCMV UL128, un segundo epítopo formado por ambas proteínas del hCMV UL130 y UL131A, un epítopo formado por las proteínas del hCMV UL128, UL130 y UL131A, un epítopo formado por las proteínas del hCMV gH, gL, UL128 y UL130, o un epítopo formado por las proteínas del hCMV gM y gN.
- 45 11. Un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10 para su uso en un método de tratamiento o prevención de la infección por hCMV.
12. Uso del anticuerpo o porción de unión al antígeno del mismo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de la infección por hCMV.
13. Un método para producir anticuerpos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende (i) cultivar una célula de acuerdo con la reivindicación 7 y (ii) aislar anticuerpos.

Figura 1

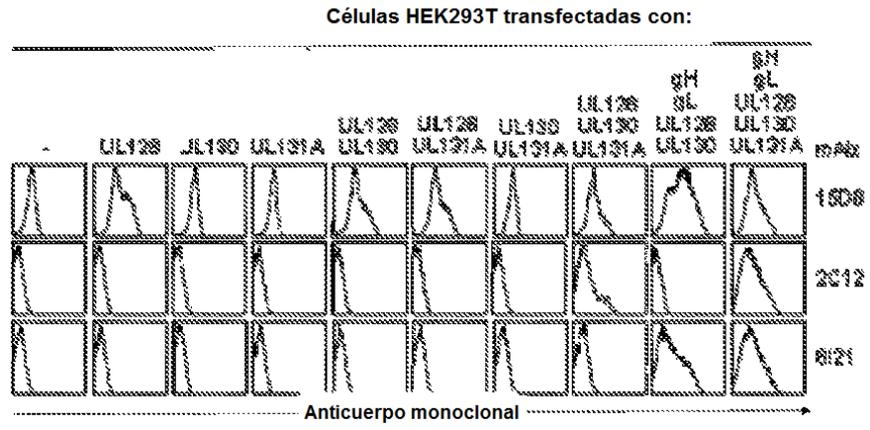
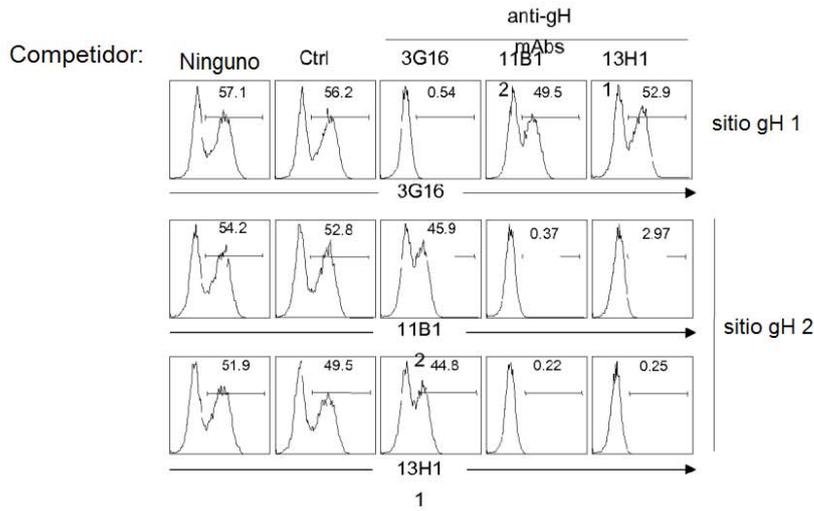


Figura 2

A



B

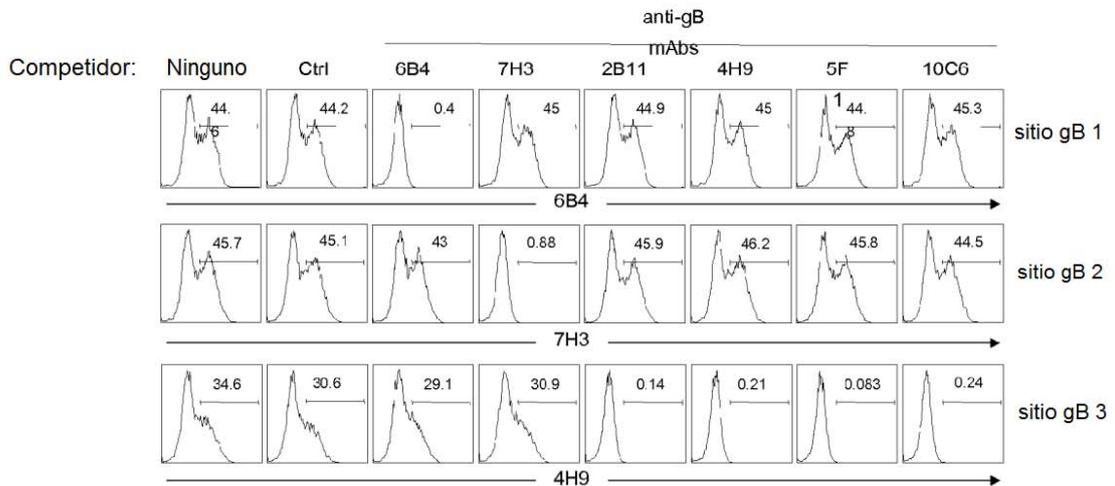


Figura 3

