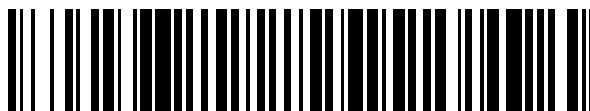


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 700 160**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.08.2013** **PCT/US2013/055921**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.02.2014** **WO14031712**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.08.2013** **E 13753402 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.10.2018** **EP 2888280**

54 Título: **Anticuerpos humanos contra GFR 3 y métodos de uso de los mismos**

30 Prioridad:

22.08.2012 US 201261692029 P

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

14.02.2019

73 Titular/es:

REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.
(100.0%)
777 Old Saw Mill River Road
Tarrytown, NY 10591, US

72 Inventor/es:

CROLL, SUSAN, D.;
MACDONALD, LYNN y
MURPHY, ANDREW, J.

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 700 160 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 humanos contra GFR 3 y métodos de uso de los mismos

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a anticuerpos humanos y a fragmentos de unión al antígeno de anticuerpos humanos que se unen específicamente al receptor alfa 3 de la familia del factor neurotrófico humano derivado de la estirpe de células gliales (GDNF) (GFR α 3), y a los usos terapéuticos de esos anticuerpos.

10 **Exposición de la técnica relacionada**

La familia relacionada con el factor neurotrófico derivado de la estirpe de células gliales se compone del factor neurotrófico derivado de la estirpe de células gliales (GDNF), la neurturina (NRTN), la artemina (ARTN) y la persefina (PSPN). Cada miembro de la familia del GDNF se une a un receptor anclado a glicosilfosfatidilinositol (GPI) asociado con la membrana plasmática. Esta familia de receptores se conoce como los receptores alfa de la familia del GDNF (GFR α). Esta familia de receptores se compone de cuatro receptores GFR α diferentes, GFR α 1-4. El GDNF se une preferentemente a GFR α 1, la NRTN se une preferentemente a GFR α 2, la ARTN se une preferentemente a GFR α 3, y la PSPN se une preferentemente a GFR α 4. Cada ligando de la familia de GDNF señala a través del receptor tirosina quinasa RET ("reorganizado durante la transfección"), que se descubrió por primera vez como un protooncogén. El RET es activado por los miembros de la familia de GDNF solo si el ligando se une primero a su receptor GFR α (Airaksinen, M. S., *et al. Nature Reviews Neuroscience* (2002), 3:383-394).

Tanto la ARTN como el GFR α 3 se expresan a un nivel alto durante el desarrollo y participan en el desarrollo del sistema nervioso simpático. En los adultos, la expresión de GFR α 3 se limita en gran medida a las neuronas sensoriales de los ganglios de la raíz dorsal (DRG) (Orozco, O. E., *et al., European J. Neuroscience*, (2001), 13:2177-2182). En el ratón adulto, la artemina se expresa en los testículos, el útero, la tiroides, la próstata y el epidídimo, así como en los bulbos olfatorios y en las arteriolas del intestino y el mesenterio (Airaksinen, M. S., *et al. Nature Reviews Neuroscience* (2002), 3:383-394; Airaksinen, M. S. *et al., "Brain, Behavior and Evolution"*, (2006), 68:181-190).

En varios estudios, se ha demostrado un posible papel del GFR α 3 y de la artemina en la hiperalgesia. Por ejemplo, se ha demostrado que una inyección de la proteína artemina en la pata trasera de un roedor causó hiperalgesia térmica, y que esta nocicepción se mejoró al inyectarse artemina junto con NGF (Malin, S. A., *et al., J. Neuroscience*, (2006), 26(33): 8588-8599). Otros estudios mostraron que la expresión del ARNm de la artemina estaba regulada positivamente en un modelo inflamatorio murino (Elitt, C. M., *et al., J. Neuroscience*, (2006), 26(33): 8578-8587). Además, otros estudios mostraron que los ratones transgénicos para la artemina tienen una expresión elevada de TRPV1 y TRPA1, y tienen una mayor sensibilidad conductual hacia el calor y el frío (Elitt, C. M., *et al., J. Neuroscience*, (2006), 26(33): 8578-8587). Además, se ha demostrado un posible papel de GFR α 3 en la hipersensibilidad visceral mediante los estudios de ratones con desactivación de GFR α 3, mediante el que estos ratones mostraron atenuación de la hipersensibilidad visceral tras el tratamiento intracolónico con TNBS (ácido 2,4,6-trinitrobenceno-sulfónico) en comparación con ratones C57BL/6 de tipo silvestre (Tanaka, T., *et al., Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* (2011), 300:G418-G424). También se ha demostrado un posible papel de la artemina y de su receptor GFR α 3 en el dolor asociado con la pancreatitis mediante un estudio realizado en pacientes sometidos a resección de la cabeza pancreática (Ceyhan, G. O., *et al., Gut*, (2007), 56:534-544). Basándose en lo anterior, se requieren estudios adicionales para determinar si los pacientes que padecen dolor/hiperalgesia e/o hipersensibilidad podrían beneficiarse del tratamiento con un inhibidor de la actividad de GFR α 3.

Los anticuerpos que se unen a GFR α 3 se describen en el documento US 6.861.509. Además, el documento US 6.677.135 desvela una secuencia de GFR α 3 de longitud completa, mientras que, en los documentos US 7.026.138; US2007/0232535 y US2006/0216289, se describen variantes de corte y empalme de la molécula de GFR α 3. El documento US 7.138.251 desvela secuencias que tienen una identidad del 99 % con GFR α 3 de longitud completa, y, en dicha patente, se describe la preparación de anticuerpos monoclonales humanizados contra esta molécula. El documento WO2006/138721 se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une selectivamente a GFR α 3 e inhibe la formación de un complejo ternario de neublastina-GFR α 3-RET.

55 **Breve resumen de la invención**

En el presente documento, se describen anticuerpos monoclonales (mAb) completamente humanos y sus fragmentos de unión al antígeno, que se unen a GFR α 3 humano e inhiben o bloquean su actividad, por ejemplo, bloquean la unión de GFR α 3 al factor neurotrófico derivado de la estirpe de células gliales, a la artemina, y bloqueando posiblemente la activación subsiguiente del receptor tirosina quinasa RET y/o bloqueando la señalización a través de RET y/o bloqueando la señalización a través de un mediador distinto de RET. Los anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos pueden ser útiles para tratar la hiperalgesia, la alodinia y/o la hipersensibilidad hacia cualquier estímulo sensorial, incluyendo, pero sin limitación, la presión, el calor y/o el frío. Los anticuerpos también pueden usarse para tratar el dolor/la hipersensibilidad asociados con una amplia selección de afecciones y trastornos en los que se desee bloquear la interacción de GFR α 3 con la artemina. Los anticuerpos también pueden usarse para inhibir

el crecimiento, la proliferación y/o la metástasis de las células tumorales.

En un primer aspecto, la invención proporciona un anticuerpo aislado o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente al GFR α 3 humano, en el que el anticuerpo comprende las tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y las tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314, 322/330, 338/346, 354/362, 381/389 y 397/405.

En una realización, el anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314, 322/330, 338/346, 354/362, 381/389 y 397/405.

En una realización, el anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 50/58, 146/154, 210/218 y 290/298.

En una realización, el anticuerpo monoclonal aislado o un fragmento de unión al antígeno que se une específicamente al GFR α 3 humano tiene una o más de las siguientes características:

- (i) presenta una K_D que varía de aproximadamente 10^{-8} M a aproximadamente 10^{-13} M medida mediante resonancia de plasmón superficial;
- (ii) demuestra la capacidad de bloquear aproximadamente el 50-100 % de la unión de GFR α 3 a su ligando, la artemina, con un valor de CI_{50} que varía de aproximadamente 40 pM a aproximadamente 15 nM;
- (iii) demuestra la capacidad de bloquear entre el 20 % y el 100 % de la unión de GFR α 3 a un soporte sólido recubierto con una mezcla de artemina y RET;
- (iv) bloquea o inhibe la activación de RET dependiente de la artemina con una CI_{50} que varía de aproximadamente 200 pM a aproximadamente 50 nM;
- (v) inhibe o reduce una o más respuestas nociceptivas en un modelo *in vivo* de dolor por cáncer de huesos;
- (vi) inhibe o reduce la hiperalgesia térmica sensibilizada con artemina *in vivo*; o
- (vii) inhibe o reduce la alodinia en un modelo *in vivo* de artrosis; no reacciona de forma cruzada con otros receptores conjuntos GFR para RET (viii).

En una realización, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal aislado o fragmento de unión al antígeno de la invención, en la que:

- (a) el anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado y un anticuerpo humano; y/o
- (b) el anticuerpo no reacciona de forma cruzada con GFR α 1 humano o GFR α 2 humano; y/o
- (c) el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal humano que comprende (a) una región variable de cadena pesada (HCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338, 354, 381 y 397; y (b) una región variable de cadena ligera (LCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346, 362, 389 y 405.

En una realización, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal aislado o fragmento de unión al antígeno de la invención, en la que:

- (a) el anticuerpo demuestra la capacidad de bloquear aproximadamente el 50-95 % de la unión de GFR α 3 humano a su ligando, la artemina, con un valor de CI_{50} que varía de aproximadamente 40 pM a aproximadamente 750 pM;
- (b) el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo bloquea aproximadamente el 75-100 % de la unión de GFR α 3 humano a su ligando, la artemina, con un valor de CI_{50} que varía de aproximadamente 400 pM a aproximadamente 15 nM;
- (c) el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo bloquea o inhibe la activación dependiente de la artemina de RET humano con una CI_{50} que varía de aproximadamente 300 pM a aproximadamente 5 nM; o
- (d) el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo bloquea o inhibe la activación dependiente de la artemina de RET de macaco cangrejero con una CI_{50} que varía de aproximadamente 0,7 nM a aproximadamente 2,5 nM.

En otro aspecto, la invención proporciona una molécula de ácido nucleico aislada que codifica el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención.

En otro aspecto, la invención proporciona un vector de expresión que comprende la molécula de ácido nucleico de la invención.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para producir un anticuerpo anti-GFR α 3 o un fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende las etapas de introducir el vector de expresión de la invención en una célula hospedadora aislada, cultivar la célula en condiciones que permitan la producción del anticuerpo o fragmento del mismo, y recoger el anticuerpo así producido.

5 En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de la invención y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

10 En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención y un segundo agente terapéutico seleccionado del grupo que consiste en un opioide, un inhibidor de COX2, un anestésico local, un modulador de NMDA, un agonista del receptor cannabinoide, un modulador de la familia de P2X, un antagonista de VR1, un antagonista de la sustancia P, un antagonista del segundo GFR α 3, un antagonista de citocinas o de receptor de citocinas, un inhibidor del factor de crecimiento nervioso (NGF) (un inhibidor de bajo peso molecular o un anticuerpo anti-NGF), un inhibidor de BDNF, TrkA, TrkB o p75, aspirina, un AINE, un esteroide, morfina, un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina (ISRS), un inhibidor de la recaptación de serotonina y norepinefrina (SNRI), un tricíclico, un inhibidor de un canal de sodio controlado por tensión (Na_v), un inhibidor de los canales de calcio, un inhibidor de los canales de potasio, un factor de necrosis tumoral (TNF) o inhibidor del receptor de TNF, un inhibidor de TWEAK (inductor de apoptosis WEAK relacionado con TNF), un inhibidor de RET, un inhibidor de un ligando de la familia de GDNF, un inhibidor de GFR α 1, GFR α 2 o GFR α 4, un inhibidor de un canal iónico de detección de ácido (ASIC1 o ASIC3), un anticonvulsivo (gabapentina o pregabalina), un inhibidor de un receptor de prequinetina (PROK1 y PROK2), un inhibidor de caspasa, un inhibidor de p38, un inhibidor de IKK1/2, CTLA-4lg y un corticosteroide; y un vehículo o vehículo farmacéuticamente aceptable; opcionalmente, en el que el segundo antagonista de GFR α 3 es una pequeña molécula orgánica, un antagonista de polipéptido, un segundo anticuerpo específico de GFR α 3, un ARNip o una molécula antisentido específica de GFR α 3; 25 o en el que el antagonista de citocinas o del receptor de citocinas es un antagonista de interleucina-1 (IL-1), un antagonista de IL-6 y un antagonista de IL-18.

En otro aspecto, la invención proporciona el anticuerpo aislado o su fragmento de unión al antígeno de la invención, o la composición farmacéutica de la invención, para su uso en el tratamiento de una afección o enfermedad relacionada con GFR α 3, o el dolor asociado con la afección o enfermedad relacionada con GFR α 3, en el que la afección o enfermedad relacionada con GFR α 3 se previene, se mejora o se reduce su gravedad o frecuencia de aparición, o el dolor asociado con la afección o enfermedad se previene, se mejora o se reduce su gravedad o frecuencia de aparición; 30 en el que la afección o enfermedad relacionada con GFR α 3 se selecciona del grupo que consiste en dolor agudo, dolor crónico, dolor neuropático, dolor inflamatorio, un síndrome de dolor funcional, artritis, pancreatitis, artrosis, dolor articular, cefaleas en racimo, neuralgia del trigémino, neuralgia herpética, neuralgias generales, trastornos neurodegenerativos, trastornos del movimiento, trastornos neuroendocrinos, ataxia, dolor visceral, gota, neuralgia posherpética, neuropatía diabética, ciática, dolor de espalda, dolor de cabeza o cuello, dolor intenso o intratable, dolor irruptivo, dolor postoperatorio, eritromelalgia hereditaria, dolor dental, rinitis, dolor oncológico, síndrome de dolor regional complejo (CRPS), enfermedad inflamatoria del intestino (por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa) y trastornos de la vejiga. 35

En una realización, el síndrome de dolor funcional se selecciona del grupo que consiste en dolor lumbar crónico, síndrome del intestino irritable (SII), fibromialgia (FM), síndrome de fatiga crónica, dolor abdominal, trastorno de la articulación temporomandibular (TMJD), síndrome de vejiga dolorosa (cistitis intersticial), trastornos/síndromes gastrointestinales funcionales, síndrome de dolor torácico funcional, migrañas y cefaleas de tipo tensional, síndrome de dolor pélvico crónico, síndrome de próstata dolorosa (prostatitis crónica), síndrome de sensibilidad química múltiple y síndrome de la Guerra del Golfo; o el dolor oncológico se asocia con un cáncer seleccionado del grupo que consiste en cáncer de endometrio, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de cuello uterino, cáncer de hígado, cáncer pancreático, cáncer de colon, cáncer de estómago, cáncer de útero, cáncer de ovarios, cáncer de riñón, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de cerebro, una leucemia, un linfoma, cáncer de huesos y dolor asociado con la metástasis de un cáncer. 45 50

En una realización, el anticuerpo, el fragmento de unión al antígeno o la composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de una afección o enfermedad relacionada con GFR α 3, o el dolor asociado con la afección o enfermedad relacionada con GFR α 3, es para la administración a un paciente en combinación con un segundo agente terapéutico; en el que dicho segundo agente terapéutico se selecciona opcionalmente del grupo que consiste en un opioide, un inhibidor de COX-2, un anestésico local, un modulador de NMDA, un agonista del receptor cannabinoide, un modulador de la familia de P2X, un antagonista de VR1, un antagonista de la sustancia P, un antagonista del segundo GFR α 3, un antagonista de citocinas o de receptor de citocinas, un inhibidor del factor de crecimiento nervioso (NGF) (un inhibidor de bajo peso molecular o un anticuerpo anti-NGF), un inhibidor de BDNF, TrkA, TrkB o p75, aspirina, un AINE, un esteroide, morfina, un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina (ISRS), un inhibidor de la recaptación de serotonina y norepinefrina (SNRI), un tricíclico, un inhibidor de un canal de sodio controlado por tensión (Na_v), un inhibidor de los canales de calcio, un inhibidor de los canales de potasio, un factor de necrosis tumoral (TNF) o inhibidor del receptor de TNF, un inhibidor de TWEAK (inductor de apoptosis WEAK relacionado con TNF), un inhibidor de RET, un inhibidor de un ligando de la familia de GDNF, un inhibidor de GFR α 1, GFR α 2 o GFR α 4, un 60 65

inhibidor de un canal iónico de detección de ácido (ASIC1 o ASIC3), un anticonvulsivo (gabapentina o pregabalina), un inhibidor de un receptor de prequinetina (PROK1 y PROK2), un inhibidor de caspasa, un inhibidor de p38, un inhibidor de IKK1/2, CTLA-4lg y un corticosteroide; y un vehículo o vehículo farmacéuticamente aceptable;

opcionalmente, en el que el segundo antagonista de GFR α 3 es una pequeña molécula orgánica, un antagonista de polipéptido, un segundo anticuerpo específico de GFR α 3, un ARNip o una molécula antisentido específica de GFR α 3; o en el que el antagonista de citocinas o del receptor de citocinas es un antagonista de interleucina-1 (IL-1), un antagonista de IL-6 y un antagonista de IL-18.

En una realización, el anticuerpo monoclonal aislado o un fragmento de unión al antígeno del mismo se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo murino, quimérico, humanizado y humano.

En una realización, el anticuerpo monoclonal aislado o un fragmento de unión al antígeno del mismo no reacciona de forma cruzada con GFR α 1 humano ni con GFR α 2 humano.

Un anticuerpo monoclonal aislado o un fragmento de unión al antígeno del mismo descrito en el presente documento puede comprender (a) una región variable de cadena pesada (HCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338, 354, 381 y 397; (b) una región variable de cadena ligera (LCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346, 362, 389 y 405.

En una realización, el anticuerpo monoclonal aislado o un fragmento de unión al antígeno del mismo demuestra la capacidad de bloquear aproximadamente el 50-95 % de la unión de GFR α 3 humano a su ligando, la artemina, con un valor de CI_{50} que varía de aproximadamente 40 pM a aproximadamente 750 pM.

En una realización, el anticuerpo monoclonal aislado o un fragmento de unión al antígeno del mismo bloquea aproximadamente el 75-100 % de la unión de GFR α 3 humano a su ligando, la artemina, con un valor de CI_{50} que varía de aproximadamente 400 pM a aproximadamente 15 nM.

En una realización, el anticuerpo monoclonal aislado o un fragmento de unión al antígeno del mismo bloquea o inhibe la activación dependiente de la artemina de RET humano con una CI_{50} que varía de aproximadamente 300 pM a aproximadamente 5 nM.

En una realización, el anticuerpo monoclonal aislado o un fragmento de unión al antígeno del mismo bloquea o inhibe la activación dependiente de la artemina de RET de macaco cangrejero con una CI_{50} que varía de aproximadamente 0,7 nM a aproximadamente 2,5 nM.

Un anticuerpo monoclonal aislado o un fragmento de unión al antígeno del mismo descrito en el presente documento puede comprender las tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una secuencia de aminoácidos de HCVR del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338, 354, 381 y 397; y las tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas dentro de una secuencia de aminoácidos de LCVR seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346, 362, 389 y 405.

Un anticuerpo monoclonal aislado o un fragmento de unión al antígeno del mismo descrito en el presente documento puede comprender una región variable de cadena pesada (HCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338, 354, 381 y 397.

Un anticuerpo monoclonal aislado o un fragmento de unión al antígeno del mismo descrito en el presente documento puede comprender una región variable de cadena ligera (LCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346, 362, 389 y 405.

En una realización, el anticuerpo monoclonal aislado o un fragmento de unión al antígeno del mismo comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314, 322/330, 338/346, 354/362, 381/389 y 397/405.

En una realización, el anticuerpo monoclonal aislado o un fragmento de unión al antígeno del mismo comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 50/58, 146/154, 210/218 y 290/298.

Un anticuerpo monoclonal aislado o un fragmento de unión al antígeno del mismo descrito en el presente documento puede comprender:

- (a) un dominio de HCDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 276, 292, 308, 324, 340, 356, 383 y 399;
- 5 (b) un dominio de HCDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 294, 310, 326, 342, 358, 385 y 401;
- (c) un dominio de HCDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248, 264, 280, 296, 312, 328, 344, 360, 387 y 403;
- 10 (d) un dominio de LCDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 300, 316, 332, 348, 364, 391 y 407;
- (e) un dominio de LCDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 302, 318, 334, 350, 366, 393 y 409; y
- 15 (f) un dominio de LCDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256, 272, 288, 304, 320, 336, 352, 368, 395 y 411.
- 20 En una realización, el anticuerpo monoclonal aislado o un fragmento de unión al antígeno del mismo compite por la unión específica a GFR α 3 humano con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende pares de secuencias de las cadenas pesada y ligera seleccionados del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314, 322/330, 338/346 y 354/362, 381/389 y 397/405.
- 25 En una realización, el anticuerpo monoclonal aislado o un fragmento de unión al antígeno del mismo se une al mismo epítipo en el GFR α 3 humano que es reconocido por un anticuerpo que comprende pares de secuencias de cadena pesada y ligera seleccionados del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314, 322/330, 338/346 y 354/362, 381/389 y 397/405.
- 30 Los anticuerpos de la invención pueden ser de longitud completa (por ejemplo, un anticuerpo IgG1 o IgG4) o pueden comprender únicamente una parte de unión a antígeno (por ejemplo, un fragmento Fab, F(ab')₂ o scFv) y pueden modificarse para afectar a la funcionalidad, por ejemplo, para eliminar las funciones efectoras residuales (Reddy et al., 2000, *J. Immunol.* 164:1925-1933).
- 35 Un anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente al GFR α 3 humano descrito en el presente documento puede comprender una HCVR que comprende las tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de las secuencias de aminoácidos de HCVR seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338, 354, 381 y 397; y/o una LCVR que comprende las tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas dentro de las secuencias de aminoácidos de LCVR seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346, 362, 389 y 405. Los métodos y técnicas para identificar las CDR dentro de las secuencias de aminoácidos de HCVR y LCVR son bien conocidas en la técnica y pueden usarse para identificar las CDR dentro de las secuencias de aminoácidos de HCVR y/o LCVR específicas divulgadas en el presente documento. Las convenciones ilustrativas que pueden usarse para identificar los límites de las CDR incluyen, por ejemplo, la definición de Kabat, la definición de Chothia y la definición de AbM. En términos generales, la definición de Kabat se basa en la variabilidad de secuencia, la definición de Chothia se basa en la ubicación de las regiones de bucles estructurales y la definición de AbM es un compendio entre las estrategias de Kabat y Chothia. Véase, por ejemplo, Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest", National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani et al., *J. Mol. Biol.* 273:927-948 (1997); y Martin et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 86:9268-9272 (1989). También están disponibles bases de datos públicas para identificar las secuencias de CDR dentro de un anticuerpo.
- 40
- 45
- 50
- 55 Un anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno que se une específicamente a GFR α 3 humano descrito en el presente documento puede comprender:
- (a) un dominio de HCDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248, 264, 280, 296, 312, 328, 344, 360, 387 y 403; y
- 60 (b) un dominio de LCDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256, 272, 288, 304, 320, 336, 352, 368, 395 y 411.
- 65 Un anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno que se une específicamente a GFR α 3 humano, como se describe en (a) y (b) anterior, puede comprender además:

(c) un dominio de HCDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 276, 292, 308, 324, 340, 356, 383 y 399;

(d) un dominio de HCDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 294, 310, 326, 342, 358, 385 y 401;

(e) un dominio de LCDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 300, 316, 332, 348, 364, 391 y 407; y

(f) un dominio LCDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 302, 318, 334, 350, 366, 393 y 409.

Se describe además en el presente documento un anticuerpo monoclonal completamente humano o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente al GFR α 3 humano, anticuerpo o fragmento del mismo que presenta una o más de las siguientes características: (i) comprende una HCVR que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338, 354, 381 y 397; (ii) comprende una LCVR que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346, 362, 389 y 405; (iii) comprende un dominio de HCDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248, 264, 280, 296, 312, 328, 344, 360, 387 y 403, o una secuencia esencialmente similar a las mismas que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; y un dominio de LCDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256, 272, 288, 304, 320, 336, 352, 368, 395 y 411, o una secuencia esencialmente similar a las mismas que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; (iv) comprende un dominio de HCDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 276, 292, 308, 324, 340, 356, 383 y 399, o una secuencia esencialmente similar a las mismas que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; un dominio de HCDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 294, 310, 326, 342, 358, 385 y 401, o una secuencia esencialmente similar a las mismas que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; un dominio LCDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 300, 316, 332, 348, 364, 391 y 407, o una secuencia esencialmente similar a las mismas que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; y un dominio de LCDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 302, 318, 334, 350, 366, 393 y 409, o una secuencia esencialmente similar a las mismas que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; (v) presenta una K_D que varía de aproximadamente 10^{-8} M a aproximadamente 10^{-13} M medida mediante resonancia de plasmón superficial; (vi) demuestra la capacidad de bloquear aproximadamente el 50-100 % de la unión de GFR α 3 a su ligando, la artemina, con un valor de CI_{50} que varía de aproximadamente 40 pM a aproximadamente 15 nM; (vii) demuestra la capacidad de bloquear entre el 20 % y el 100 % de la unión de GFR α 3 a un soporte sólido recubierto con una mezcla de artemina y RET; (viii) bloquea o inhibe la activación de RET dependiente de la artemina con una CI_{50} que varía de aproximadamente 200 pM a aproximadamente 50 nM; (ix) inhibe o reduce una o más respuestas nociceptivas en un modelo *in vivo* de dolor por cáncer de huesos; (x) inhibe o reduce la hiperalgesia térmica sensibilizada con artemina *in vivo*; (xi) inhibe o reduce la alodinia en un modelo *in vivo* de artrosis; (xii) no reacciona de forma cruzada con otros receptores conjuntos GFR para RET.

En el presente documento, se describe un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo que comprende un dominio de HCDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las mostradas en la Tabla 1, o una secuencia esencialmente similar a las mismas que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; y un dominio de LCDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las mostradas en la Tabla 1, o una secuencia esencialmente similar a las mismas que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia.

En el presente documento se describe un anticuerpo o fragmento del mismo que comprende además un dominio de HCDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos de cualquiera de las mostradas en la Tabla 1, o una secuencia esencialmente similar a las mismas que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; un dominio de HCDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos de cualquiera de las mostradas en la Tabla 1, o una secuencia esencialmente similar a las mismas que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; un dominio de LCDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos de cualquiera de las mostradas en la Tabla 1, o una secuencia esencialmente similar a las

mismas que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; y un dominio de LCDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos de cualquiera de las mostradas en la Tabla 1, o una secuencia esencialmente similar a las mismas que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia.

5 En determinadas realizaciones, el anticuerpo o la parte de unión al antígeno de un anticuerpo que se une específicamente a GFR α 3 humano comprende un par de secuencias de aminoácidos HCDR3/LCDR3 seleccionado de cualquiera de las secuencias de aminoácidos de HCDR3/LCDR3 mostradas en la Tabla 1. De acuerdo con determinadas realizaciones, el anticuerpo o la parte de unión al antígeno de un anticuerpo comprende un par de
10 secuencias de aminoácidos de HCDR3/LCDR3 seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 8/16, 24/32, 40/48, 56/64, 72/80, 88/96, 104/112, 120/128, 136/144, 152/160, 168/176, 184/192, 200/208, 216/224, 232/240, 248/256, 264/272, 280/288, 296/304, 312/320, 328/336, 344/352, 360/368, 387/395 y 403/411.

15 En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 4, 6 y 8, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 12, 14 y 16, respectivamente.

20 En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 20, 22 y 24, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 28, 30 y 32, respectivamente.

25 En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 36, 38 y 40, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 44, 46 y 48, respectivamente.

En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 52, 54 y 56, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de
SEQ ID NO: 60, 62 y 64, respectivamente.

30 En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 68, 70 y 72, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 76, 78 y 80, respectivamente.

35 En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 84, 86 y 88, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 92, 94 y 96, respectivamente.

40 En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 100, 102 y 104, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 108, 110 y 112, respectivamente.

45 En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 116, 118 y 120, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 124, 126 y 128, respectivamente.

En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 132, 134 y 136, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de
SEQ ID NO: 140, 142 y 144, respectivamente.

50 En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 148, 150 y 152, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 156, 158 y 160, respectivamente.

55 En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 164, 166 y 168, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 172, 174 y 176, respectivamente.

60 En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 180, 182 y 184, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 188, 190 y 192, respectivamente.

En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 196, 198 y 200, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de
SEQ ID NO: 204, 206 y 208, respectivamente.

65

En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 212, 214 y 216, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 220, 222 y 224, respectivamente.

- 5 En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 228, 230 y 232, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 236, 238 y 240, respectivamente.

- 10 En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 244, 246 y 248, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 252, 254 y 256, respectivamente.

- 15 En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 260, 262 y 264, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 268, 270 y 272, respectivamente.

- 20 En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 276, 278 y 280, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 284, 286 y 288, respectivamente.

En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 292, 294 y 296, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 300, 302 y 304, respectivamente.

- 25 En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 308, 310 y 312, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 316, 318 y 320, respectivamente.

- 30 En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 324, 326 y 328, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 332, 334 y 336, respectivamente.

- 35 En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 340, 342 y 344, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 348, 350 y 352, respectivamente.

- 40 En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 356, 358 y 360, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 364, 366 y 368, respectivamente.

En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 383, 385 y 387, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 391, 393 y 395, respectivamente.

- 45 En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las secuencias de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de SEQ ID NO: 399, 401 y 403, respectivamente, y las secuencias de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de SEQ ID NO: 407, 409 y 411, respectivamente.

- 50 Determinados anticuerpos ilustrativos no limitantes y fragmentos de unión al antígeno descritos en el presente documento comprenden los dominios HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3, respectivamente, seleccionados de cualquiera de las secuencias de aminoácidos que se muestran en la Tabla 1.

- 55 En otro aspecto, la invención proporciona moléculas de ácido nucleico que codifican anticuerpos anti-GFR α 3 o fragmentos de los mismos de la invención. Los vectores de expresión recombinante que portan los ácidos nucleicos de la invención, y células hospedadoras en que se han introducido dichos vectores, también están abarcados por la invención, así como métodos de producción de los anticuerpos por cultivo de las células hospedadoras en condiciones que permiten la producción de los anticuerpos y recuperar los anticuerpos producidos.

- 60 En una realización, la invención proporciona un anticuerpo o fragmento del mismo que comprende una HCVR codificada por una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1, 17, 33, 49, 65, 81, 97, 113, 129, 145, 161, 177, 193, 209, 225, 241, 257, 273, 289, 305, 321, 337, 353, 380 y 396, o una secuencia esencialmente idéntica que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 %, o al menos el 99 % de homología con las mismas. En una realización, la HCVR está codificada por una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 49, 145, 209 y 289.

65

En una realización, el anticuerpo o fragmento del mismo comprende además una LCVR codificada por una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 9, 25, 41, 57, 73, 89, 105, 121, 137, 153, 169, 185, 201, 217, 233, 249, 265, 281, 297, 313, 329, 345, 361, 388 y 404, o una secuencia esencialmente idéntica que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 %, o al menos el 99 % de homología con las mismas. En una realización, la LCVR está codificada por una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 57, 153, 217 y 297.

También se describe en el presente documento un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo que comprende un dominio de HCDR3 codificado por una secuencia de nucleótidos ubicada dentro de las regiones variables de cualquiera de los anticuerpos mostrados en la Tabla 1, o una secuencia esencialmente similar a las mismas que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; y un dominio de LCDR3 codificado por una secuencia de nucleótidos seleccionada de cualquiera de las mostradas en la Tabla 1, o una secuencia esencialmente similar a las mismas que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia.

En el presente documento, también se describe un anticuerpo o fragmento del mismo que comprende además un dominio de HCDR1 codificado por una secuencia de nucleótidos de cualquiera de las mostradas en la Tabla 1, o una secuencia esencialmente similar a las mismas que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; un dominio de HCDR2 codificado por una secuencia de nucleótidos de cualquiera de las mostradas en la Tabla 1, o una secuencia esencialmente similar a las mismas que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; un dominio de LCDR1 codificado por una secuencia de nucleótidos de cualquiera de las mostradas en la Tabla 1, o una secuencia esencialmente similar a las mismas que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; y un dominio de LCDR2 codificado por una secuencia de nucleótidos mostrada en la Tabla 1, o una secuencia esencialmente similar a las mismas que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia.

Se describe además en el presente documento un anticuerpo anti-hGFR α 3 humano o un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo que comprende una HCVR codificada por segmentos de secuencia de nucleótidos derivados de secuencias de estirpe germinal de V_H, D_H y J_H, y una LCVR codificada por segmentos de secuencia de nucleótidos derivados de secuencias de estirpe germinal de V_K y J_K, con combinaciones como las mostradas en la Tabla 2.

La invención engloba anticuerpos anti-hGFR α 3 que tienen un patrón de glicosilación modificado. En algunas aplicaciones, puede ser útil la modificación para eliminar sitios de glicosilación no deseados o, por ejemplo, la eliminación de un resto de fucosa para aumentar la función de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) (véase, Shield *et al.*, (2002) JBC 277:26733). En otras aplicaciones, puede hacerse modificación de la galactosilación para modificar la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC).

En otro aspecto, la invención presenta una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo humano recombinante o fragmento del mismo de la invención, que se une específicamente a hGFR α 3 y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización, la invención presenta una composición, que es una combinación de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo de la invención, y un segundo agente terapéutico. El segundo agente terapéutico puede ser cualquier agente que se combine ventajosamente con el anticuerpo o fragmento del mismo de la invención, por ejemplo, un agente capaz de reducir el dolor, tales como, pero sin limitación, opioides, morfina, un inhibidor de COX-2, aspirina u otros agentes antiinflamatorios no esteroideos, acetaminofeno, duloxetina, anestésicos locales, moduladores de NMDA, agonistas del receptor cannabinoide, moduladores de la familia de P2X, antagonistas de VR1 y antagonistas de la sustancia P. El segundo agente terapéutico puede ser un inhibidor de la interleucina 1 (IL-1), por ejemplo, una proteína de fusión (documento US 6.927.044); o un fármaco antiepiléptico/anticonvulsivo, tal como gabapentina, pregabalina, topiramato; o un antidepresivo tricíclico, tal como la amitriptilina; un inhibidor o antagonista de citocinas, tal como un antagonista de IL-6, IL-6R, IL-18 o IL-18R, o un inhibidor de un canal de sodio controlado por tensión, tal como un inhibidor de Na_v1.7, o un inhibidor de Na_v1.8, o un inhibidor Na_v1.9; un inhibidor de un canal de potasio o un canal de calcio; o un inhibidor de NGF (un inhibidor de molécula pequeña o un anticuerpo anti-NGF), o un segundo inhibidor o antagonista de GFR α 3, un factor de necrosis tumoral (TNF) o inhibidor del receptor de TNF, un inhibidor de TWEAK (inductor de apoptosis WEAK relacionado con TNF), un inhibidor de RET, un inhibidor de un ligando de la familia de GDNF, un inhibidor de GFR α 1, GFR α 2 o GFR α 4, un inhibidor de un canal iónico de detección de ácido (por ejemplo, ASIC1 o ASIC3), o un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina (ISRS), o un inhibidor de la recaptación de serotonina y norepinefrina (SNRI), o un inhibidor de un receptor de prequinetina (por ejemplo, PROK1 y PROK2), o un inhibidor de caspasa, un inhibidor de p38, un inhibidor de IKK1/2, CTLA-4lg o un corticosteroide. El segundo agente terapéutico puede ser un fármaco de molécula pequeña o un inhibidor de proteínas/polipéptidos. El segundo agente terapéutico puede ser sintético o derivado de manera natural. El segundo agente terapéutico puede ser un segundo anticuerpo específico de GFR α 3, un antagonista de polipéptido, un ARNip o una molécula antisentido específica de GFR α 3. También se apreciará que los anticuerpos y las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden emplearse en tratamientos combinados, es decir, los anticuerpos y las composiciones farmacéuticamente aceptables se pueden administrar simultáneamente con, antes de, o posteriormente a, uno o más de los diferentes procedimientos terapéuticos o

médicos deseados. La combinación concreta de tratamientos (o procedimientos terapéuticos) emplean un régimen combinado tendrá en cuenta la compatibilidad de los tratamientos y/o procedimientos terapéuticos y el efecto terapéutico deseado que se va a conseguir. También se apreciará que los tratamientos empleados pueden conseguir un efecto deseado para el mismo trastorno (por ejemplo, se puede administrar un anticuerpo de forma simultánea con otro agente usado en el tratamiento del mismo trastorno), o se pueden conseguir diferentes ejemplos (por ejemplo, el control de cualquier efecto adverso). Como se usa en el presente documento, los agentes terapéuticos adicionales que se administran normalmente para tratar o evitar una enfermedad, o dolencia concreta, son apropiados para la enfermedad o afección que se está tratando.

En el presente documento se describen además métodos para inhibir la actividad hGFR α 3 usando un anticuerpo anti-hGFR α 3 o parte de unión al antígeno de un anticuerpo de la invención, métodos que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más anticuerpos de la invención, o fragmentos de unión al antígeno de los mismos, o una composición farmacéutica que comprende uno o más anticuerpos de la invención o fragmentos de unión al antígeno de los mismos.

También se describe en el presente documento un método para tratar una afección o enfermedad relacionada con GFR α 3, o el dolor asociado con una afección o enfermedad relacionada con GFR α 3, método que comprende administrar un anticuerpo anti-GFR α 3 o parte de unión al antígeno de un anticuerpo de la invención, o una composición que comprende un anticuerpo anti-GFR α 3 o un fragmento del mismo, a un paciente que lo necesita, en el que la afección o enfermedad relacionada con GFR α 3 se previene, se mejora o se reduce su gravedad o frecuencia de aparición, o el dolor asociado con la afección o enfermedad se previene, se mejora o se reduce su gravedad o frecuencia de aparición.

En una realización, la invención proporciona el anticuerpo aislado de la invención o fragmento de unión al antígeno del mismo, o una composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de la invención para su uso en el tratamiento de una afección o enfermedad relacionada con GFR α 3, o el dolor asociado con la afección o enfermedad relacionada con GFR α 3, en el que la afección o enfermedad relacionada con GFR α 3 se previene, se mejora o se reduce su gravedad o frecuencia de aparición, o el dolor asociado con la afección o enfermedad se previene, se mejora o se reduce su gravedad o frecuencia de aparición.

En el presente documento, se describe el uso de un anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno del mismo de la invención, o una composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo de la invención en la fabricación de un medicamento para tratar una afección o enfermedad relacionada con GFR α 3, o el dolor asociado con la afección o enfermedad relacionada con GFR α 3, en el que la afección o enfermedad relacionada con GFR α 3 se previene, se mejora o se reduce su gravedad o frecuencia de aparición, o el dolor asociado con la afección o enfermedad se previene, se mejora o se reduce su gravedad o frecuencia de aparición.

En una realización, la afección o enfermedad relacionada con GFR α 3 se selecciona del grupo que consiste en dolor agudo, dolor crónico, dolor neuropático, dolor inflamatorio, un síndrome de dolor funcional, artritis, pancreatitis, artrosis, cefaleas en racimo, neuralgia del trigémino, neuralgia herpética, neuralgias generales, trastornos neurodegenerativos, trastornos del movimiento, trastornos neuroendocrinos, ataxia, dolor visceral, gota aguda, neuralgia posherpética, neuropatía diabética, ciática, dolor de espalda, dolor de cabeza o cuello, dolor intenso o intratable, dolor irruptivo, dolor postoperatorio, eritromelalgia hereditaria, dolor dental, rinitis, dolor oncológico, síndrome de dolor regional complejo (CRPS), enfermedad inflamatoria del intestino (por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa) y trastornos de la vejiga.

En una realización, el síndrome de dolor funcional se selecciona del grupo que consiste en dolor lumbar crónico, síndrome del intestino irritable (SII), fibromialgia (FM), síndrome de fatiga crónica, dolor abdominal, trastorno de la articulación temporomandibular (TMJD), síndrome de vejiga dolorosa (cistitis intersticial), trastornos/síndromes gastrointestinales funcionales, síndrome de dolor torácico funcional, migrañas y cefaleas de tipo tensional, síndrome de dolor pélvico crónico, síndrome de próstata dolorosa (prostatitis crónica), síndrome de sensibilidad química múltiple y síndrome de la Guerra del Golfo.

En una realización, el dolor oncológico se asocia con un cáncer seleccionado del grupo que consiste en cáncer de endometrio, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de cuello uterino, cáncer de hígado, cáncer pancreático, cáncer de colon, cáncer de estómago, cáncer de útero, cáncer de ovarios, cáncer de riñón, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de cerebro, una leucemia, un linfoma, cáncer de huesos y dolor asociado con la metástasis de un cáncer.

En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra al paciente en combinación con un segundo agente terapéutico.

En una realización, el segundo agente terapéutico se selecciona del grupo que consiste en un opioide, un inhibidor de COX-2, un anestésico local, un modulador de NMDA, un agonista del receptor cannabinoide, un modulador de la familia de P2X, un antagonista de VR1, un antagonista de la sustancia P, un antagonista del segundo GFR α 3, un antagonista de citocinas o de receptor de citocinas, un inhibidor del factor de crecimiento nervioso (NGF) (un inhibidor

de bajo peso molecular o un anticuerpo anti-NGF), aspirina, un AINE, un esteroide, morfina, un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina (ISRS), un inhibidor de la recaptación de serotonina y norepinefrina (SNRI), un tricíclico, un inhibidor de un canal de sodio controlado por tensión (Nav), un inhibidor de los canales de calcio, un inhibidor de los canales de potasio, un factor de necrosis tumoral (TNF) o inhibidor del receptor de TNF, un inhibidor de TWEAK (inductor de apoptosis WEAK relacionado con TNF), un inhibidor de RET, un inhibidor de un ligando de la familia de GDNF, un inhibidor de un canal iónico de detección de ácido (ASIC1 o ASIC3), un anticonvulsivo (gabapentina o pregabalina), un inhibidor de un receptor de prequinetina (PROK1 y PROK2), un inhibidor de caspasa, un inhibidor de p38, un inhibidor de IKK1/2, CTLA-4lg y un corticosteroide.

En una realización, el segundo antagonista de GFR α 3 es una pequeña molécula orgánica, un segundo anticuerpo específico de GFR α 3, un antagonista de polipéptido, un ARNip o una molécula antisentido específica de GFR α 3.

En una realización, el antagonista de citocinas o del receptor de citocinas es un antagonista de interleucina-1 (IL-1), un antagonista de IL-6 y un antagonista de IL-18.

El trastorno tratado es cualquier enfermedad o afección, que se mejora, se mitiga, se inhibe o se previene mediante la eliminación, inhibición o reducción de la actividad hGFR α 3. Las poblaciones específicas que se pueden tratar mediante los métodos terapéuticos descritos en el presente documento incluyen una enfermedad, un trastorno o una afección seleccionado entre dolor agudo, crónico, isquémico, neuropático o inflamatorio, hipersensibilidad, tal como hipersensibilidad visceral, térmica o mecánica, pancreatitis crónica, artritis, migraña, cefaleas en racimo, neuralgia del trigémino, neuralgia herpética, neuralgias generales, epilepsia o afecciones epilépticas, miotonía, arritmias, trastornos del movimiento, trastornos neuroendocrinos, ataxia, enfermedad inflamatoria del intestino, inflamación del bazo, dolor de estómago, trigonitis, fibroides, peritonitis, urgencia fecal, incontinencia, hipersensibilidad rectal, dolor visceral, dolor por artrosis, neuralgia posherpética, neuropatía diabética, dolor radicular, ciática, dolor de espalda, dolor de cabeza o cuello, dolor irruptivo, dolor postoperatorio, dolor oncológico o dolor inducido por la quimioterapia. Otras afecciones que se pueden tratar mediante los métodos terapéuticos descritos en el presente documento incluyen la enfermedad de Hirschsprung, eritromelalgia hereditaria, trastornos de la vejiga, rinitis, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de cuello uterino, cáncer de hígado, cáncer pancreático, cáncer de colon, cáncer de estómago, cáncer de útero, cáncer de ovarios, cáncer de riñón, cáncer hematológico (transmitido por la sangre), tales como una leucemia o un linfoma, cáncer de huesos o dolor asociado con la metástasis de un cáncer, por ejemplo, dolor asociado con la metástasis de un cáncer en el hueso. Los anticuerpos de la invención o fragmentos de unión al antígeno de los mismos también pueden usarse para tratar las siguientes afecciones: dolor óseo agudo, crónico o de fractura no maligno; artritis reumatoide, estenosis espinal; dolor lumbar neuropático; síndrome de dolor miofascial; pancreático; cefalea crónica; cefalea tensional; neuropatía diabética; neuropatía asociada al VIH; neuropatía de Charcot-Marie Tooth; neuropatías sensoriales hereditarias; lesión del nervio periférico; neuromas dolorosos; descargas ectópicas proximales y distales; radiculopatía; dolor neuropático inducido por quimioterapia; dolor neuropático inducido por radioterapia; dolor tras mastectomía; dolor central; dolor por lesión de la médula espinal; dolor tras apoplejía; dolor talámico; síndrome de dolor regional complejo (CRPS, también conocido como distrofia simpática refleja); dolor fantasma; dolor intratable; dolor musculoesquelético agudo; dolor articular; dolor agudo de gota; dolor lumbar mecánico; dolor de cuello; tendinitis; dolor por lesión/ejercicio; dolor abdominal; pielonefritis; apendicitis; colecistitis; obstrucción intestinal; hernias; etc.; dolor pectoral, incluyendo, dolor cardíaco; dolor pélvico, dolor cólico renal, dolor obstétrico agudo, incluyendo, dolor de parto; dolor de cesárea; dolor por quemadura y traumatismo; endometriosis; dolor de herpes zóster; anemia falciforme; pancreatitis aguda; dolor irruptivo; dolor orofacial incluyendo dolor de sinusitis, dolor dental; dolor de esclerosis múltiple; dolor de lepra; dolor de la enfermedad de Behcet; adiposis dolorosa; dolor flebítico; dolor de Guillain-Barre; dolor de piernas y de dedos en movimiento; síndrome de Haglund; dolor de la enfermedad de Fabry; enfermedad vesical y urogenital; e hiperactividad vesical. En una realización, los anticuerpos de la invención se pueden usar para tratar un síndrome de dolor funcional, en el que el síndrome de dolor funcional se selecciona del grupo que consiste en dolor lumbar crónico, síndrome del intestino irritable (SII), fibromialgia (FM), síndrome de fatiga crónica, dolor abdominal, trastorno de la articulación temporomandibular (TMJD), síndrome de vejiga dolorosa (cistitis intersticial), trastornos/síndromes gastrointestinales funcionales, síndrome de dolor torácico funcional, migrañas y cefaleas de tipo tensional, síndrome de dolor pélvico crónico, síndrome de próstata dolorosa (prostatitis crónica), síndrome de sensibilidad química múltiple y síndrome de la Guerra del Golfo.

Los anticuerpos de la invención o fragmentos de unión al antígeno de los mismos también se pueden usar para inhibir el crecimiento/la proliferación de células tumorales, o metástasis de células tumorales. En determinadas realizaciones, los anticuerpos de la invención o fragmentos de unión al antígeno de los mismos, se pueden usar para tratar un cáncer, o el "dolor asociado con un cáncer" o "dolor asociado con el cáncer", incluyendo, por ejemplo, pero sin limitación, cáncer de endometrio, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de cuello uterino, cáncer de hígado, cáncer pancreático, cáncer de colon, cáncer de estómago, cáncer de útero, cáncer de ovarios, cáncer de riñón, cáncer pulmonar microcítico, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de cerebro, cáncer hematológico (transmitido por la sangre), tales como una leucemia o un linfoma, cáncer de huesos o dolor asociado con la metástasis de un cáncer, por ejemplo, dolor asociado con la metástasis de un cáncer en el hueso. El "dolor asociado con el cáncer" también incluye el dolor asociado más generalmente con afecciones cancerosas tales como, por ejemplo, carcinoma de células renales, carcinoma pancreático, cáncer de cabeza y cuello, gliomas malignos, osteosarcoma, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, mesotelioma maligno, mieloma múltiple, sarcoma sinovial, cáncer de tiroides o melanoma. Los anticuerpos de la presente invención también son útiles para tratar o prevenir el dolor causado por o asociado con la

terapia del cáncer o tratamientos médicos contra el cáncer, por ejemplo, dolor neuropático inducido por quimioterapia, tal como el dolor causado por o asociado con el tratamiento con paclitaxel (Taxol™), docetaxel (Taxotere®); nitrosourea, ciclofosfamida, doxorubicina, epirubicina, 5-fluorouracilo, topotecán, irinotecán, carmustina, estramustina y compuestos quimioterapéuticos a base de platino, tales como cisplatino, carboplatino e iproplatino.

5

Otras realizaciones llegarán a ser evidentes a partir de la revisión de la consiguiente descripción detallada.

Breve descripción de las figuras

Figura 1. Inhibición de la hiperalgesia térmica de la capsaicina sensibilizada con la artemina en animales inyectados con anticuerpos GFR α 3 de ratón (bloqueador indirecto M1 M6977N o bloqueador directo M1 M6986N, n = 8 cada uno) o anticuerpo de control de isotipo (negativo) (M2M180N, n = 8) a 30 mg/kg sc 2 días antes de recibir capsaicina (1 día antes de recibir 0,5 μ g de artemina).

Figura 2A y 2B. Alodinia táctil medida por von Frey Hairs en animales de dos experimentos (A y B) inyectados con fibrosarcoma y tratados con anticuerpo de control de isotipo (negativo) (M2M180N) o anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón M1M6977N o M1M6986N (n = 8-11 por grupo). * p < 0,05, ** p < 0,01 o *** p < 0,001 en comparación con el control de isotipo en el mismo momento.

Figura 3A y 3B. Porcentaje de peso ipsilateral portado en animales de dos experimentos (A y B) inyectados con fibrosarcoma y tratados con anticuerpo de control de isotipo (negativo) (M2M180N) o anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón M1 M6977N o M1 M6986N (n = 8-11 por grupo).

Figura 4A y 4B. Puntuaciones de vigilancia en animales de dos experimentos (A y B) inyectados con células de fibrosarcoma y tratados con anticuerpo de control de isotipo (negativo) (M2M180N) o anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón M1 M6977N o M1 M6986N (n = 8-11 por grupo). ** p < 0,01 en comparación con el control de isotipo en el mismo momento.

Figura 5. Alodinia táctil medida por von Frey Hairs en animales inyectados con carcinoma y tratados con anticuerpo de control de isotipo (negativo) (M2M180N) o anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón M1 M6977N o M1 M6986N (n = 9-10 por grupo). * p < 0,05, ** p < 0,01 o *** p < 0,001 en comparación con el control de isotipo (negativo) en el mismo momento.

Figura 6A y 6B. Porcentaje de peso ipsilateral portado en animales en dos puntos de tiempo (A = 11 días y B = 18 días) inyectados con carcinoma y tratados con anticuerpo de control de isotipo (negativo) (M2M180N) o anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón M1 M6977N o M1 M6986N (n = 9-10 por grupo). * p < 0,05 en comparación con el anticuerpo de control de isotipo según el análisis post hoc de Dunnett.

Figura 7. Puntuaciones de vigilancia en animales inyectados con carcinoma y tratados con anticuerpo de control de isotipo (negativo) (M2M180N) o anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón M1M6977N o M1M6986N (n = 9-10 por grupo). * p < 0,05, *** p < 0,01 en comparación con el control de isotipo en el mismo momento.

Figura 8. Alodinia táctil medida por von Frey Hairs en animales con DMM tratados con anticuerpo de control de isotipo (negativo) (M2M180N) o anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón M1M6977N o M1M6986N (n = 10 por grupo). ** p < 0,01 o *** p < 0,001 en comparación con el control de isotipo en el mismo momento.

Figura 9. Análisis de competencia cruzada de anticuerpos anti- GFR α 3 para la unión a Biotina-hGFR α 3-mmH.

40

Descripción detallada

Antes de describir los presentes métodos, se ha de entender que la presente invención no se limita a los métodos ni a las condiciones experimentales descritos en particular, ya que dichos métodos y condiciones pueden variar. También debe entenderse que la terminología usada en el presente documento es con el fin de describir realizaciones particulares únicamente, y no pretende ser limitante, ya que el alcance de la presente invención se limitará únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

45

Salvo que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que el que entiende comúnmente un experto habitual en la materia a la que pertenece la presente invención. Aunque puede usarse cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en el presente documento en la práctica o ensayo de la presente invención, ahora se describen los métodos y materiales preferidos.

50

Definiciones

55

"GFR α 3", o "hGFR α 3", como se usa en el presente documento, se refiere al receptor de proteína anclada a glicosilfosfatidilinositol (GPI) para la artemina, que pertenece a la familia de factores neurotróficos derivados de la estirpe de células gliales (GDNF). Es una de las proteínas alfa receptoras de la familia de GDNF que, una vez unida a su ligando, la artemina, media la activación del receptor tirosina quinasa RET ("reorganizado durante la transfección"). Hasta la fecha, se han reconocido cuatro miembros de la familia de GFR α , GFR α -1-4 (Lindsay RM *et al.*, *Neuron*, (1996), 17:571-574; Airaksinen, M. S., *et al.*, *Mol. Cell Neurosci.*, (1999), 13:313-325). GFR α 3 también se conoce en la técnica como receptor alfa 3 de la familia de GDNF, receptor unido a GPI o receptor alfa-3 del factor neurotrófico derivado de la estirpe de células gliales. El término "GFR α 3" o "hGFR α 3", o fragmentos de la misma, como se usa en el presente documento, se refiere a la proteína GFR α 3 humana o fragmento de la misma, a menos que se especifique que sea de una especie no humana, por ejemplo, "GFR α 3 de ratón", "GFR α 3 de rata" o "GFR α 3 de mono". Por otra parte, "GFR α 3", o "hGFR α 3", como se usa en el presente documento, se refiere a GFR α 3 humano

60

65

codificado por la secuencia de ácido nucleico que se muestra en SEQ ID NO: 374 (número de acceso del Genbank NM_001496) y tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 375 (número de acceso del Genbank NP_001487.2) o un fragmento biológicamente activo de la misma. La secuencia señal abarca los restos de aminoácido 1-31 de SEQ ID NO: 375, la proteína madura engloba los restos de aminoácidos 32-382 de SEQ ID NO: 375, mientras que la región Pro C-terminal engloba los restos de aminoácidos 383-400 de SEQ ID NO: 375. El sitio de escisión de GPI se encuentra en el resto de aminoácido 374 de SEQ ID NO: 375 (asparagina). La secuencia de aminoácidos de la artemina humana se encuentra en el Genbank como número de acceso Q5T4W7 y la secuencia de aminoácidos de la artemina humana (de los aminoácidos A108-G220 del número de acceso Q5T4W7) con un marcador myc-myc-hexahistidina se muestra como SEQ ID NO: 369 (siendo los restos de aminoácidos 114-141 de SEQ ID NO: 369 el marcador myc-myc-hexahistidina).

Aunque GFR α 3 es estructural y funcionalmente similar a los otros miembros de la familia de GFR α , GFR α 3 es el que se relaciona más distantemente de los cuatro miembros de la familia. GFR α 1 y GFR α 2 comparten aproximadamente el 50 % de identidad (Sanicola, M. *et al.*, *PNAS*, EE.UU., (1997), 94:6238-43; Klein, R. D., *et al.*, (1997), *Nature*, 387:717-21; Buj-Bello, A. *et al.*, *Nature* (1997), 387:721-4; Baloh, R. H., *et al.*, *Neuron*, (1997), 18:793-802), mientras que GFR α 3 solo tiene el 32 y el 37 % de identidad, respectivamente, con estas proteínas (Masure, S. *et al.*, *Eur. J. Biochem.*, (1998), 251:622-30; Nomoto, S. *et al.*, *BBRC*, (1998), 244:849-53). La secuencia de aminoácidos de GFR α 3 de ratón tiene el siguiente número de acceso del Genbank: NP_034410.3. La secuencia de aminoácidos de GFR α 1 humano tiene el siguiente Número de Acceso del Genbank: NP_005255.1, y también se encuentra como SEQ ID NO: 376. La secuencia de aminoácidos de GFR α 3 de mono cangrejero se muestra en SEQ ID NO: 377, y la secuencia de aminoácidos de RET de mono cangrejero se muestra en SEQ ID NO: 378.

El término "anticuerpo", como se usa en el presente documento, pretende hacer referencia a moléculas de inmunoglobulina compuestas de cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro (es decir, "moléculas de anticuerpo completo"), así como multímeros de las mismas (por ejemplo, IgM) o sus fragmentos de unión al antígeno. Cada cadena pesada se compone de una región variable de cadena pesada ("HCVR" o "V_H") y una región constante de cadena pesada (que se compone de los dominios C_H1, C_H2 y C_H3). Cada cadena ligera se compone de una región variable de cadena ligera ("LCVR" o "V_L") y una región constante de cadena ligera (C_L). Las regiones V_H y V_L pueden subdividirse además en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, llamadas regiones flanqueantes (FR). Cada V_H y V_L está compuesta por tres CDR y cuatro FR, dispuestas del extremo amino al extremo carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. En determinadas realizaciones de la invención, las FR del anticuerpo antiGFR α 3 (o fragmento de unión al antígeno del mismo) pueden ser idénticas a las secuencias de la línea germinal humana, o pueden estar modificarse de forma natural o artificial. Una secuencia consenso de aminoácidos se puede definir basándose en un análisis paralelo de dos o más CDR.

También es posible la sustitución de uno o más restos de CDR o la omisión de una o más CDR. En la bibliografía científica, se han descrito anticuerpos en los que se puede prescindir de una o dos CDR para la unión. Padlan *et al.* (1995 *FASEB J.* 9:133-139) analizaron las regiones de contacto entre los anticuerpos y sus antígenos, basándose en estructuras cristalinas publicadas, y concluyeron que solo de aproximadamente un quinto a un tercio de los restos de CDR realmente entran en contacto con el antígeno. Padlan también encontró muchos anticuerpos en los que una o dos CDR no tenían aminoácidos en contacto con un antígeno (véase también, Vajdos *et al.* 2002 *J Mol Biol* 320:415-428).

Los restos de CDR que no entran en contacto con el antígeno se pueden identificar basándose en estudios previos (por ejemplo, los restos H60-H65 de CDRH2 no suelen ser necesarios), de regiones de CDR de Kabat que se encuentran fuera de las CDR de Chothia, mediante modelización molecular y/o empíricamente. Si se omite una CDR, o uno o más restos de la misma, normalmente se sustituye con un aminoácido que ocupa la posición correspondiente en otra secuencia de anticuerpo humano o un consenso de dichas secuencias. Las posiciones para la sustitución dentro de las CDR y los aminoácidos para sustituir también pueden seleccionarse empíricamente. Las sustituciones empíricas pueden ser sustituciones conservativas o no conservativas.

Los anticuerpos anti-hGFR α 3 completamente humanos desvelados en el presente documento pueden comprender una o más sustituciones, inserciones y/o eliminaciones de aminoácidos en la región marco conservada y/o las regiones CDR de los dominios variables de cadena pesada y ligera en comparación con secuencias germinales correspondientes. Dichas mutaciones pueden averiguarse fácilmente comparando las secuencias de aminoácidos divulgadas en el presente documento con secuencias de la línea germinal disponibles en, por ejemplo, bases de datos de secuencias de anticuerpos públicas. La presente invención incluye anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos, que se obtienen de cualquiera de las secuencias de aminoácidos desveladas en el presente documento, en los que uno o más aminoácidos dentro de una o más regiones marco y/o CDR están retromutados al/a los restos de la estirpe germinal correspondiente o a una sustitución de aminoácido conservativa (natural o no natural) del/de los resto/s de la estirpe germinal correspondiente (siendo dichos cambios de secuencia denominados en el presente documento "retromutaciones a la estirpe germinal"). Un experto en la materia, partiendo con las secuencias de la región variable de cadena pesada y ligera divulgadas en el presente documento, puede producir fácilmente numerosos anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno que comprenden una o más retromutaciones de la estirpe

germinal individuales o combinaciones de las mismas. En determinadas realizaciones, todos los restos de la región marco y/o CDR de los dominios V_H y/o V_L son retromutados a la secuencia de la estirpe germinal. En otras realizaciones, solo se pueden retromutar determinados restos a la secuencia de la estirpe germinal, por ejemplo, solo los restos mutados encontrados dentro de los primeros 8 aminoácidos de FR1 o dentro de los últimos 8 aminoácidos de FR4, o únicamente los restos mutados encontrados dentro de FR1, FR2, FR3, FR4, o solo los restos mutados encontrados dentro de CDR1, CDR2 o CDR3. Además, los anticuerpos de la presente invención pueden contener cualquier combinación de dos o más retromutaciones de la estirpe germinal dentro de las regiones marco conservadas y/o CDR, es decir, en las que ciertos restos individuales se vuelven a mutar a la secuencia de la estirpe germinal, mientras que otros restos que difieren de la secuencia de la estirpe germinal se mantienen. Una vez obtenidos, los anticuerpo y fragmentos de unión a antígeno que contienen una o más retromutaciones de la estirpe germinal pueden ensayarse fácilmente para una o más propiedades deseadas tales como, especificidad de unión mejorada, afinidad de unión aumentada, propiedades biológicas antagonista o agonistas mejoradas o potenciadas (según pueda ser el caso), inmunogenicidad reducida, etc. Los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno obtenidos de esta manera general están incluidos dentro de la presente invención.

La expresión "anticuerpo humano", como se usa en el presente documento, pretende incluir anticuerpos que tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. Los anticuerpos monoclonales humanos de la invención pueden incluir restos de aminoácidos no codificados por las secuencias de inmunoglobulinas de la línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria y de sitio *in vitro* o mediante mutación somática *in vivo*), por ejemplo, en las CDR y, en particular, en CDR3. Sin embargo, la expresión "anticuerpo humano", como se usa en el presente documento, no pretende incluir anticuerpos monoclonales en que las secuencias CDR derivadas de la estirpe germinal de otra especie de mamífero (por ejemplo, ratón), se han injertado en secuencias FR humanas. Los anticuerpos anti-GFR α 3 humanos de la invención pueden denominarse "anti-hGFR α 3" o "anti-GFR α 3".

La expresión "se une específicamente", o similares, significa que un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo forma un complejo con un antígeno que es relativamente estable en condiciones fisiológicas. La unión específica se puede caracterizar por una constante de disociación de equilibrio de al menos aproximadamente 1×10^{-6} M o inferior (por ejemplo, una K_D menor denota una unión más fuerte). Los métodos para determinar si dos moléculas se unen específicamente son bien conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, diálisis en equilibrio, resonancia de plasmones superficiales y similares. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a hGFR α 3 puede, sin embargo, presentar reactividad cruzada con otros antígenos, tales como las moléculas de GFR α 3 de otras especies. Por otra parte, los anticuerpos multiespecíficos que se unen a hGFR α 3 y uno o más antígenos adicionales o un biespecífico que se une a dos regiones diferentes de hGFR α 3 se consideran anticuerpos que "se unen específicamente" a hGFR α 3, como se usa en el presente documento.

Como se usa en el presente documento, la expresión "no se une" a una molécula diana específica (por ejemplo, un péptido GFR α 3 particular) significa que el anticuerpo, cuando se ensaya para determinar la unión a la molécula diana a 25 °C en un ensayo de resonancia de plasmón, muestra una K_D superior a 500 nM, o si se ensaya para determinar la unión a la molécula diana a 25 °C en un ensayo de inmunoabsorción ligado a una enzima (ELISA) presenta una CE₅₀ superior a 50 nM, o no presenta ninguna unión en ninguno de los dos tipos de ensayo o equivalente del mismo.

La expresión anticuerpo de "alta afinidad" se refiere a aquellos anticuerpos monoclonales que tienen una afinidad de unión a hGFR α 3 de al menos 10^{-9} M; preferentemente 10^{-10} M; más preferentemente 10^{-11} M, incluso más preferentemente 10^{-12} M, medida en un ensayo de resonancia de plasmón superficial, por ejemplo, BIACORE™ o ELISA de afinidad en solución.

La expresión "velocidad de disociación lenta", "K_{off}" o "k_d" pretenden significar un anticuerpo que se disocia de hGFR α 3 con una constante de velocidad de 1×10^{-3} s⁻¹ o inferior, preferentemente 1×10^{-4} s⁻¹ o inferior, determinada en un ensayo de resonancia de plasmón superficial, por ejemplo, BIACORE™.

Las expresiones "parte de unión al antígeno" de un anticuerpo, "fragmento de unión al antígeno" de un anticuerpo y similares, como se usa en el presente documento, incluyen cualquier polipéptido o glucoproteína de origen natural, obtenible enzimáticamente, sintético o modificado por ingeniería genética que se une específicamente a un antígeno para formar un complejo. Las expresiones "parte de unión al antígeno" de un anticuerpo o "fragmento de anticuerpo", como se usa en el presente documento, se refieren a uno o más fragmentos de un anticuerpo que conservan la capacidad de unirse específicamente a hGFR α 3.

En realizaciones específicas, el anticuerpo o los fragmentos de anticuerpos de la invención se pueden conjugar con un resto terapéutico ("inmunoconjugado"), tal como un opioide, un inhibidor de COX-2, un anestésico local, un antagonista de citocinas, tal como inhibidor de IL-1 o IL-6, un segundo inhibidor de GFR α 3, un modulador de NMDA, un agonista del receptor cannabinoide, un modulador de la familia de P2X, un antagonista de VR1, un antagonista de la sustancia P, un agente quimioterapéutico o un radioisótopo.

Un "anticuerpo aislado", como se usa en el presente documento, pretende hacer referencia a un anticuerpo que está esencialmente libre de otros anticuerpos que tienen diferentes especificidades antigénicas (por ejemplo, un anticuerpo

aislado que se une específicamente a hGFR α 3 o un fragmento del mismo, está esencialmente libre de anticuerpos que se unen específicamente a antígenos diferentes de hGFR α 3).

5 Un "anticuerpo neutralizante", como se usa en el presente documento (o un "anticuerpo que neutraliza la actividad GFR α 3"), se refiere a un anticuerpo cuya unión a hGFR α 3 produce la inhibición de al menos una actividad biológica de GFR α 3. Esta inhibición de la actividad biológica de GFR α 3 se puede evaluar midiendo uno o más indicadores de actividad biológica de GFR α 3 mediante uno o más de varios ensayos convencionales *in vitro* o *in vivo* conocidos en la técnica (véanse los ejemplos a continuación).

10 La expresión "resonancia de plasmón superficial", como se usa en el presente documento, se refiere a un fenómeno óptico que permite el análisis de interacciones biomoleculares en tiempo real mediante la detección de las alteraciones a concentraciones de proteína dentro de una matriz biodetectora, por ejemplo, usando el sistema BIACORE[™] (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden y Piscataway, N.J.).

15 El término "K_D", como se usa en el presente documento, pretende hacer referencia a la constante de disociación en equilibrio de una interacción particular de anticuerpo-antígeno.

20 El término "epítipo" se refiere a un determinante antigénico que interactúa con un sitio de unión a antígeno específico en la región variable de una molécula de anticuerpo conocida como parátipo. Un único antígeno puede tener más de un epítipo. Por tanto, diferentes anticuerpos pueden unirse a diferentes áreas en un antígeno o puede tener diferentes efectos biológicos. El término "epítipo" también se refiere a un sitio en un antígeno al que responden los linfocitos B y/o T. También se refiere a una región de un antígeno que está unida por un anticuerpo. Los epítipos pueden definirse como estructurales o funcionales. En general, los epítipos funcionales son un subconjunto de los epítipos estructurales y tienen aquellos restos que contribuyen directamente a la afinidad de la interacción. Los epítipos también pueden ser conformacionales, es decir, compuestos de aminoácidos no lineales. En determinadas realizaciones, los epítipos pueden incluir determinantes que son grupos de moléculas químicamente activas en la superficie tales como aminoácidos, cadenas laterales de azúcar, grupos fosforilo o grupos sulfonilo, y en determinadas realizaciones, pueden tener características estructurales tridimensionales específicas y/o características de carga específicas.

30 La expresión "identidad sustancial" o "esencialmente idéntico", cuando hace referencia a un ácido nucleico o fragmento del mismo, indica que, cuando se alinean de forma óptima con inserciones o eliminaciones de nucleótidos apropiadas con otro ácido nucleico (o su hebra complementaria), existe identidad de secuencia de nucleótidos en al menos aproximadamente el 90 %, y más preferentemente al menos aproximadamente el 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de las bases nucleotídicas, medida por cualquier algoritmo bien conocido de identidad de secuencia, tal como FASTA, BLAST o GAP, como se analiza a continuación. Una molécula de ácido nucleico que tiene una identidad sustancial con una molécula de ácido nucleico de referencia puede, en determinados casos, codificar un polipéptido que tenga la misma secuencia de aminoácidos o una secuencia de aminoácidos esencialmente similar al polipéptido codificado por la molécula de ácido nucleico de referencia.

40 Aplicada a los polipéptidos, la expresión "similitud sustancial" o "esencialmente similar" significa que dos secuencias peptídicas, cuando se alinean de forma óptima, tal como mediante los programas GAP o BESTFIT usando ponderaciones de hueco por defecto, comparten al menos el 90 % de identidad de secuencia, incluso más preferentemente al menos el 95 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia. Preferentemente, las posiciones de los restos, que no son idénticas, difieren en sustituciones conservativas de aminoácidos. Una "sustitución de aminoácido conservativa" es una en que un resto de aminoácido está sustituido por otro resto de aminoácido que tiene una cadena lateral (grupo R) con propiedades químicas similares (por ejemplo, carga o hidrofobicidad). En general, una sustitución de aminoácido conservativa no cambiará sustancialmente las propiedades funcionales de una proteína. En casos donde dos o más secuencias de aminoácidos difieren entre sí por sustituciones conservativas, el porcentaje o grado de similitud puede ajustarse al alza para corregir la naturaleza conservativa de la sustitución. Los medios para realizar este ajuste son bien conocidos para los expertos en la materia (véase, por ejemplo, Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331). Los ejemplos de grupos de aminoácidos que tienen cadenas laterales con propiedades químicas similares incluyen 1) cadenas laterales alifáticas: glicina, alanina, valina, leucina e isoleucina; 2) cadenas secundarias de hidroxilo alifáticas: serina y treonina; 3) cadenas secundarias que contienen amida: asparagina y glutamina; 4) cadenas laterales aromáticas: fenilalanina, tirosina y triptófano; 5) cadenas laterales básicas: lisina, arginina e histidina; 6) cadenas laterales ácidas: aspartato y glutamato; y 7) cadenas laterales que contienen azufre: cisteína y metionina. Los grupos de sustitución de aminoácidos conservativa preferidos son: valina-leucina-isoleucina, fenilalanina-tirosina, lisina-arginina, alanina-valina, glutamato-aspartato y asparagina-glutamina. Como alternativa, un reemplazo conservativo es cualquier cambio que tenga un valor positivo en la matriz de probabilidad logarítmica PAM250 descrita en Gonnet *et al.* (Véase Gonnet *et al.*, *Science*, (1992), 256:1443 45). Un reemplazo "moderadamente conservativo" es cualquiera cambio que tenga un valor no negativo en la matriz de probabilidad logarítmica PAM250.

65 La similitud de secuencia para los polipéptidos se mide normalmente usando un software de análisis de secuencia. El programa informático de análisis de proteínas acopla secuencias similares usando medidas de similitud asignadas a diversas sustituciones, eliminaciones y otras modificaciones, incluyendo sustituciones de aminoácidos conservativas. Por ejemplo, el programa informático GCG contiene programas tales como GAP y BESTFIT que pueden usarse con

parámetros por defecto para determinar la homología de secuencia o la identidad de secuencia entre polipéptidos muy relacionados, tales como polipéptidos homólogos de diferentes especies de organismos o entre una proteína de tipo silvestre y una muteína de la misma. Véase, por ejemplo, GCG Versión 6.1. Las secuencias polipeptídicas también pueden compararse usando FASTA con parámetros por defecto o recomendados; un programa en GCG Versión 6.1. FASTA (por ejemplo, FASTA2 y FASTA3) proporciona alineaciones y porcentajes de identidad de secuencia de las regiones del mejor solapamiento entre las secuencias de consulta y de búsqueda (Pearson (2000) *supra*). Otro algoritmo preferido cuando se compara una secuencia de la invención con una base de datos que contiene una gran cantidad de secuencias de diferentes organismos es el programa informático BLAST, especialmente BLASTP o TBLASTN, usando parámetros por defecto. (Véase, por ejemplo, Altschul *et al.* (1990) *J. Mol. Biol.* 215: 403 410 y (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389 402).

En realizaciones específicas, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo para su uso en el presente documento puede ser monoespecífico, biespecífico o multiespecífico. Los anticuerpos multiespecíficos pueden ser específicos para diferentes epítomos de un polipéptido diana o pueden contener dominios de unión al antígeno específicos de epítomos de más de un polipéptido diana. Un formato de anticuerpo biespecífico ilustrativo que puede usarse en el contexto de la presente invención implica el uso de un primer dominio C_{H3} de inmunoglobulina (Ig) y un segundo dominio C_{H3} de Ig, en el que el primer y el segundo dominio C_{H3} de Ig difieren entre sí en al menos un aminoácido, y en el que al menos una diferencia de aminoácido reduce la unión del anticuerpo biespecífico a proteína A en comparación con un anticuerpo biespecífico que carece de la diferencia de aminoácido. En una realización, el primer dominio C_{H3} de Ig se une a proteína A y el segundo dominio C_{H3} de Ig contiene una mutación que reduce o anula la unión a proteína A tal como una modificación H95R (por numeración de exones IMGT; H435R por numeración EU). El segundo C_{H3} puede comprender además una modificación Y96F (por IMGT; Y436F por EU). Modificaciones adicionales que pueden encontrarse dentro del segundo C_{H3} incluyen: D16E, L18M, N44S, K52N, V57M y V82I (por IMGT; D356E, L358M, N384S, K392N, V397M y V422I por EU) en el caso de anticuerpos monoclonales IgG1; N44S, K52N y V82I (IMGT; N384S, K392N y V422I por EU) en el caso de anticuerpos monoclonales IgG2; y Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q y V82I (por IMGT; Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q y V422I por EU) en el caso de anticuerpos monoclonales IgG4. Las variaciones en el formato de anticuerpo biespecífico descrito anteriormente se contemplan dentro del alcance de la presente invención.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" pretende significar una cantidad que produce el efecto deseado a quien se administra. La cantidad exacta dependerá del objetivo del tratamiento, y serán discernibles por un experto en la materia usando las técnicas conocidas (véanse, por ejemplo, Lloyd (1999) "The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding").

La expresión "síndrome/s de dolor funcional" se refiere a los síndromes basados en síntomas crónicos que afectan hasta al 15 % de la población mundial. Se caracterizan por el dolor crónico y las molestias a las que se hace referencia en diferentes partes del cuerpo. No se han identificado anomalías estructurales, inflamatorias o bioquímicas acordadas en general que puedan explicar completamente los síntomas. Los pacientes muestran una calidad de vida muy reducida, pero las opciones de tratamiento son limitadas, y el desarrollo de los nuevos enfoques terapéuticos ha sido decepcionante. Algunos de los trastornos comunes que se incluyen en esta categoría incluyen el dolor crónico y agudo, síndrome del intestino irritable (SII), fibromialgia (FM), síndrome de fatiga crónica, síndrome de dolor abdominal funcional, trastorno de la articulación temporomandibular (TMJD), síndrome de vejiga dolorosa (cistitis intersticial), trastornos/síndromes gastrointestinales funcionales, síndrome de dolor rectal funcional, síndrome de dolor torácico funcional, migrañas y cefaleas de tipo tensional, síndrome de dolor pélvico crónico, síndrome de próstata dolorosa (prostatitis crónica), síndrome de sensibilidad química múltiple y síndrome de la Guerra del Golfo.

Descripción general

La familia relacionada con el factor neurotrófico derivado de la estirpe de células gliales incluye el factor neurotrófico derivado de la estirpe de células gliales (GDNF), la neurturina (NRTN), la persefina (PSPN) y la artemina (ARTN). Las proteínas de la familia de GDNF participan diferencialmente en el desarrollo y mantenimiento de las neuronas sensoriales, entéricas, simpáticas y parasimpáticas, y en una variedad de tejidos no neurales (Henderson, C. E., *et al.*, (1994), *Science* 266:1062-1064; Kotzbauer, P. T. *et al.*, (1996), *Nature* 384:467-470; Springer, J. E., *et al.* (1994), *Exp. Neurol.* 127:167-170; Schaar, D. G., *et al.*, (1993), *Exp. Neurol.* 124:368-371). El GDNF es un factor de supervivencia especialmente potente para las neuronas motoras dopaminérgicas, noradrenérgicas y espinales (Yan, Q. *et al.* (1995), *Nature*, 373:341-344; Henderson, C. E., *et al.*, (1994), *Science*, 266:1062-1064; Buj-Bello, A. *et al.*, (1995), *Neuron*, 15:821-828). Otros miembros del crecimiento de la familia de GDNF tienen funciones fuera del sistema nervioso (Trupp, M. *et al.*, (1995), *J. Cell Biol.* 130:137-148; Kotzbauer, P. T. *et al.*, (1996), *Nature* 384:467-470; Springer, J. E., *et al.* (1994), *Exp. Neurol.* 127:167-170; Schaar, D. G., *et al.*, (1993), *Exp. Neurol.* 124:368-371). Por ejemplo, NRTN, ARTN y PSPN también se expresan en el riñón en desarrollo. GDNF también tiene papeles fundamentales fuera del sistema nervioso en la regulación de la morfogénesis renal y la espermatogénesis (Airaksinen, M. S. *et al.*, (2002), *Nature Reviews* 3:383-392).

Cada miembro de la familia de GDNF se une preferentemente a (es decir, es un ligando para) un receptor de proteína anclada a glicosilfosfatidilinositol (GPI) asociado dinámicamente con la membrana plasmática. La familia del receptor alfa de la familia de GDNF se compone de cuatro receptores diferentes: GFR α 1 (GFR α 1, GDNFR-alfa); GFR α 2

(GFR α 2/TrnR2/GDNFR-beta/NTNR-alfa/RETL2); GFR α 3 (GFR α 3); y GFR α 4 (GFR α 4). El GDNF se une preferentemente a GFR α 1, la NRTN se une preferentemente a GFR α 2, la ARTN se une preferentemente a GFR α 3 y la PSPN se une preferentemente a GFR α 4 (Airaksinen, M. S., *et al. Nature Reviews Neuroscience* (2002), 3:383-394).

- 5 GFR α 2 se expresa a un alto nivel en la corteza, cerebro anterior basal y capas específicas del bulbo olfativo, y se expresa a un bajo nivel en la sustancia negra, el cerebelo y los núcleos motores. GFR α 3 se expresa en los nervios del ratón fetal y adulto, ganglios simpáticos y sensoriales, intestino, corazón, cerebro, pulmón y riñón. GFR α 4 se expresa a niveles bajos en diferentes áreas del cerebro adulto, así como en algunos tejidos periféricos, incluyendo los testículos y el corazón. Aunque las preferencias de unión de los miembros de la familia de GDNF se muestran anteriormente
- 10 como GDNF por GFR α 1; neurturina por GFR α 2; artemina por GFR α 3; y persefina por GFR α 4, el emparejamiento de receptores con ligandos no es riguroso (Airaksinen, M. S., *et al. Nature Reviews Neuroscience* (2002), 3:383-394). Por ejemplo, GDNF se une a GFR α 2 y a GFR α 3 con menores eficacias que a GFR α 1.

- 15 Los ligandos de la familia de GDNF, normalmente, pero no exclusivamente, transmiten sus señales a través de complejos de múltiples componentes compuestos de un ligando, su receptor GFR alfa y el receptor tirosina quinasa, c-Ret. Ret es un elemento común de estos complejos de señalización de ligandos. Ret es un protooncogén que activa fuertemente las señales antiapoptóticas a través de la activación de las fosfoinositol-3 quinazas (PI3-K)/PDK/AKT (PKB) y las vías Ras/Raf/MEK/ERK. Ret también puede activar la fosfolipasa C gamma (PLCgamma) que eleva el calcio intracelular y facilita la activación de los miembros de la familia de la proteína quinasa C convencional y
- 20 novedosa (PKC). Los complejos de receptores de ligandos de la familia de GDNF no se limitan a la señalización a través de Ret. GDNF:GFR α 1 puede unirse a NCAM en células que carecen de RET, y activar Fyn y FAK. En determinadas condiciones, los complejos de GDNF:GFR α activan directamente la quinasa src.

- 25 En determinadas realizaciones de la presente invención, se pueden usar uno cualquiera o más de los tres dominios globulares ricos en cisteína (1, 2 o 3) de GFR α 3, o un fragmento de la misma, para preparar anticuerpos que se unen a GFR α 3 e inhibir su función, o inhibir su capacidad para unirse a su ligando, tal como, la artemina. En determinadas realizaciones, un anticuerpo de la invención específico de GFR α 3 puede unirse a un dominio de unión al ligando en GFR α 3, y como tal, puede bloquear la unión del complejo de ligando (artemina)-GFR α 3 a RET. La secuencia de aminoácidos de longitud completa del GFR α 3 humano se muestra como SEQ ID NO: 375. El ácido nucleico que
- 30 codifica el GFR α 3 humano se muestra en SEQ ID NO: 374. El dominio 1 engloba los restos 44-124 de SEQ ID NO: 375; el dominio 2 engloba los restos 162-239 de SEQ ID NO: 375; el dominio 3 engloba los restos 248-340 de SEQ ID NO: 375. (Véase la SEQ ID NO: 375 o el Genbank NP_001487.2).

- Cualquiera de estos dominios, 1, 2 o 3, o fragmentos derivados de los mismos, se pueden usar para preparar anticuerpos que se unen específicamente a GFR α 3 e inhiban su actividad, o al menos una función asociada con GFR α 3. En determinadas realizaciones, los anticuerpos de la invención se unen específicamente a GFR α 3 y pueden
- 35 prevenir la señalización mediada por GFR α 3. En determinadas realizaciones, los anticuerpos que se unen específicamente a GFR α 3 pueden prevenir la unión de GFR α 3 a su ligando, tal como la artemina (Wang, X. *et al. Structure*, (2006), 14:1083-1092). En determinadas realizaciones, los anticuerpos que se unen específicamente a GFR α 3 pueden prevenir la activación del receptor tirosina quinasa RET. En determinadas realizaciones, los anticuerpos de la invención pueden unirse específicamente a GFR α 3 sin prevenir la activación del receptor tirosina quinasa RET. En determinadas realizaciones, los anticuerpos de la invención pueden unirse específicamente a GFR α 3 y evitar la señalización a través de RET, o a través de un mediador distinto de RET. En determinadas realizaciones,
- 40 los anticuerpos de la invención pueden usarse para inhibir el crecimiento/la proliferación de células tumorales y, como tales, pueden ser útiles para tratar ciertos cánceres/tumores malignos, o el dolor asociado con dichos cánceres/tumores malignos, o el dolor asociado con la metástasis de dichos cánceres/tumores malignos (véase Tang, J-Z, *et al. Mol Cancer Ther* (2010), 9(6): 1697-1708; Kang, J. *et al. Oncogene*, (2009), 28:2034-2045; Ceyhan, G.O. *et al. Annals of Surgery*, (2006), 244(2):274-281; Banerjee, A., *et al. Breast Cancer Res* (2011), 13:R112; Pandey, V. *et al., Endocrinology*, (2010), 151(3):909-920; Kang, J. *et al., Oncogene*, (2010), 29:3228-3240; Li, S. *et al. J Biomed Sci* (2011), 18:24). En determinadas realizaciones, los anticuerpos que se unen específicamente a GFR α 3 pueden prepararse usando fragmentos de las regiones indicadas anteriormente, o péptidos que se extienden más allá de las regiones designadas en de aproximadamente 10 a aproximadamente 50 restos de aminoácidos de cualquiera o
- 50 ambos, los extremos terminales N o C de las regiones descritas en el presente documento. En determinadas realizaciones, cualquier combinación de las regiones anteriormente indicadas o fragmentos de las mismas puede usarse en la preparación de anticuerpos específicos para GFR α 3. Como se ha señalado anteriormente, la longitud o el número de restos de aminoácidos que engloban los tres dominios de hGFR α 3 pueden variar entre aproximadamente diez y cincuenta restos de aminoácidos que se extienden desde cualquiera o ambos extremos, al extremo N terminal o al extremo C terminal del dominio de longitud completa, o un fragmento del mismo, para la preparación de anticuerpos específicos anti-hGFR α 3.

60 Fragmentos de anticuerpos de unión al antígeno

- Salvo que se indique específicamente de otro modo, el término "anticuerpo", como se usa en el presente documento, se entenderá que engloba moléculas de anticuerpo que comprenden dos cadenas pesadas de inmunoglobulina y dos
- 65 cadenas ligeras de inmunoglobulina (es decir, "moléculas de anticuerpo completas"), así como sus fragmentos de unión al antígeno. Las expresiones "parte de unión al antígeno" de un anticuerpo, "fragmento de unión al antígeno" de

un anticuerpo y similares, como se usan en el presente documento, incluyen cualquier polipéptido o glicoproteína de origen natural, obtenible enzimáticamente, sintético o modificado por ingeniería genética que se une específicamente a un antígeno para formar un complejo. Las expresiones "parte de unión al antígeno" de un anticuerpo o "fragmento de anticuerpo", como se usan en el presente documento, se refieren a uno o más fragmentos de un anticuerpo que conservan la capacidad de unirse específicamente a hGFR α 3. Un fragmento de anticuerpo puede incluir un fragmento Fab, un fragmento F(ab')₂, un fragmento Fv, un fragmento dAb, un fragmento que contiene una CDR, o una CDR aislada. Los fragmentos de unión al antígeno de un anticuerpo pueden obtenerse, por ejemplo, de moléculas de anticuerpo completas usando cualquier técnica convencional adecuada tal como digestión proteolítica o técnicas de ingeniería genética recombinantes que implica la manipulación y expresión de ADN que codifica dominios variables de anticuerpo y (opcionalmente) constantes. Dicho ADN se conoce y/o se puede obtener fácilmente de, por ejemplo, fuentes comerciales, genotecas de ADN (incluyendo, por ejemplo, fagotecas de anticuerpos), o pueden sintetizarse. El ADN puede secuenciarse y manipularse químicamente o usando técnicas de biología molecular, por ejemplo, para disponer uno o más dominios variables y/o constantes en una configuración adecuada, o para introducir codones, crear restos de cisteína, modificar, añadir o eliminar aminoácidos, etc.

Los ejemplos no limitantes de fragmentos de unión al antígeno incluyen: (i) fragmentos Fab; (ii) fragmentos F(ab')₂; (iii) fragmentos Fd; (iv) fragmentos Fv; (v) moléculas Fv de cadena sencilla (scFv); (vi) fragmentos dAb; y (vii) unidades de reconocimiento mínimas que consisten en los restos de aminoácidos que imitan la región hipervariable de un anticuerpo (por ejemplo, una región determinante de la complementariedad (CDR) aislada). Otras moléculas modificadas por ingeniería genética, como diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos y minicuerpos, también se incluyen dentro de la expresión "fragmento de unión al antígeno", como se usa en el presente documento.

Un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo normalmente comprenderá al menos un dominio variable. El dominio variable puede ser de cualquier tamaño o composición de aminoácidos y, en general, comprenderá al menos una CDR que es adyacente o está en fase con una o más secuencias marco. En fragmentos de unión al antígeno que tienen un dominio V_H asociado con un dominio V_L, los dominios V_H y V_L pueden situarse entre sí en cualquier disposición adecuada. Por ejemplo, la región variable puede ser dimerica y contener los dímeros V_H-V_H, V_H-V_L o V_L-V_L. Como alternativa, el fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo puede contener un dominio V_H o V_L monomérico.

En determinadas realizaciones, un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo puede contener al menos un dominio variable unido covalentemente a al menos un dominio constante. Los ejemplos, no limitantes, de configuraciones de dominios variables y constantes que se pueden encontrar dentro de un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo de la presente invención incluyen: (i) V_H-C_H1; (ii) V_H-C_H2; (iii) V_H C_H3; (iv) V_H-C_H1-C_H2; (v) V_H-C_H1-C_H2-C_H3; (vi) V_H-C_H2-C_H3; (vii) V_H-C_L; (viii) V_L C_H1; (ix) V_L-C_H2; (x) V_L-C_H3; (xi) V_L-C_H1-C_H2; (xii) V_L-C_H1-C_H2-C_H3; (xiii) V_L-C_H2-C_H3; y (xiv) V_L-C_L. En cualquier configuración de dominios variables y constantes, incluyendo cualquiera de las configuraciones ilustrativas enumeradas anteriormente, los dominios variables y constantes pueden estar unidos directamente entre sí o pueden estar unidos mediante una bisagra o región conectora total o parcial. Una región de bisagra puede consistir en al menos 2 (por ejemplo, 5, 10, 15, 20, 40, 60 o más) aminoácidos, que producen una unión flexible o semiflexible entre dominios variables y/o constantes adyacentes en una sola molécula polipeptídica. Por otra parte, un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo de la presente invención puede comprender un homodímero o heterodímero (u otro multímero) de cualquiera de las configuraciones de dominio variable y constante enumeradas anteriormente en asociación no covalente entre sí y/o con uno o más dominios V_H o V_L monoméricos (por ejemplo, mediante uno o más enlaces disulfuro).

Como con las moléculas de anticuerpo completas, los fragmentos de unión al antígeno pueden ser mono-específicos o multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos). Un fragmento de unión al antígeno multiespecífico de un anticuerpo normalmente comprenderá al menos dos dominios variables diferentes, en los que cada dominio variable puede unirse específicamente a un antígeno diferente o a un epítipo diferente en el mismo antígeno. Cualquier formato de anticuerpo multiespecífico, incluyendo los formatos de anticuerpo biespecíficos ilustrativos desvelados en el presente documento, puede adaptarse para su uso en el contexto de un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo de la presente invención usando técnicas rutinarias disponibles en la técnica.

Preparación de anticuerpos humanos

Los métodos para generar anticuerpos humanos en ratones transgénicos son conocidos en la técnica. Cualquiera de dichos métodos conocidos puede usarse en el contexto de la presente invención para preparar anticuerpos humanos que se unan específicamente a GFR α 3 humano.

Usando la tecnología VELOCIMMUNE™ o cualquier otro método conocido para generar anticuerpos monoclonales, inicialmente se aíslan anticuerpos quiméricos de alta afinidad contra GFR α 3 que tienen una región variable humana y una región constante de ratón. Como en la siguiente sección experimental, los anticuerpos se caracterizan y seleccionan para las características deseables, incluyendo la afinidad, selectividad, epítipo, etc. Las regiones constantes de ratón se reemplazan por una región constante humana deseada para generar el anticuerpo completamente humano de la invención, por ejemplo, IgG1 o IgG4 de tipo silvestre o modificada. Aunque la región constante seleccionada puede variar de acuerdo con el uso específico, las características de unión al antígeno de alta

afinidad y especificidad de diana residen en la región variable.

En general, los anticuerpos de la presente invención poseen afinidades muy altas, que normalmente poseen K_D de aproximadamente 10^{-13} a aproximadamente 10^{-8} M, o de aproximadamente 10^{-12} a aproximadamente 10^{-9} M cuando se miden mediante unión al antígeno inmovilizado en fase sólida o en fase de solución. Las regiones constantes de

10 Bioequivalentes

Los anticuerpos anti-GFR α 3 y fragmentos de anticuerpos descritos en el presente documento abarcan proteínas que tienen secuencias de aminoácidos que varían de las de los anticuerpos descritos, pero que conservan la capacidad de unirse a GFR α 3. Dichos anticuerpos variantes y fragmentos de anticuerpo comprenden una o más adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos cuando se comparan con la secuencia precursora, pero muestran actividad biológica que es esencialmente equivalente a la de los anticuerpos descritos. Asimismo, las secuencias de ADN que codifican el anticuerpo anti-GFR α 3 de la presente invención engloban secuencias que comprenden una o más adiciones, eliminaciones o sustituciones de nucleótidos en comparación con la secuencia divulgada, pero que codifican un anticuerpo anti-GFR α 3 o fragmento de anticuerpo que es esencialmente bioequivalente a un anticuerpo anti-GFR α 3 o fragmento de anticuerpo de la invención.

Dos proteínas de unión al antígeno o anticuerpos, se consideran bioequivalentes si, por ejemplo, son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas cuya tasa y grado de absorción no muestran una diferencia significativa cuando se administran a la misma dosis molar en condiciones experimentales similares, bien en una sola dosis o en múltiples dosis. Algunos anticuerpos se considerarán equivalentes o alternativas farmacéuticas si son equivalentes en el grado de su absorción, pero no en su tasa de absorción y aún pueden considerarse bioequivalentes porque dichas diferencias en la tasa de absorción son intencionadas y se reflejan en el marcaje, no son esenciales para obtener las concentraciones eficaces del fármaco en el organismo en, por ejemplo, uso crónico, y se consideran médicamente insignificantes para el producto farmacológico particular estudiado.

En una realización, dos proteínas de unión al antígeno son bioequivalentes si no hay diferencias clínicamente importantes en su seguridad, pureza y potencia.

En una realización, dos proteínas de unión al antígeno son bioequivalentes si un paciente puede cambiarse una o más veces entre el producto de referencia y el producto biológico sin un aumento esperado en el riesgo de efectos adversos, incluyendo un cambio clínicamente significativo en la inmunogenicidad, o eficacia disminuida, en comparación con tratamiento continuado sin dicho cambio.

En una realización, dos proteínas de unión al antígeno son bioequivalentes si ambas actúan por un mecanismo o mecanismos comunes de acción para la afección o afecciones de uso, en la medida en que dichos mecanismos sean conocidos.

La bioequivalencia puede demostrarse mediante métodos *in vivo* y/o *in vitro*. Las medidas de bioequivalencia incluyen, por ejemplo, (a) un ensayo *in vivo* en seres humanos u otros mamíferos, en el que se mide la concentración del anticuerpo o sus metabolitos en sangre, plasma, suero u otro líquido biológico en función del tiempo; (b) un ensayo *in vitro* que se ha correlacionado con y es razonablemente predictivo de datos de biodisponibilidad *in vivo* en seres humanos; (c) un ensayo *in vivo* en seres humanos u otros mamíferos en el que se mide el efecto farmacológico agudo apropiado del anticuerpo (o su diana) en función del tiempo; y (d) en un ensayo clínico bien controlado que establece la seguridad, eficacia o biodisponibilidad o bioequivalencia de un anticuerpo.

Las variantes bioequivalentes de anticuerpos anti-GFR α 3 de la invención pueden construirse, por ejemplo, generando diversas sustituciones de restos o secuencias o eliminando restos terminales o internos o secuencias no necesarias para la actividad biológica. Por ejemplo, los restos de cisteína no esenciales para la actividad biológica pueden eliminarse o remplazarse con otros aminoácidos para evitar la formación de puentes disulfuro intramoleculares innecesarios o incorrectos tras la renaturalización. En otros contextos, los anticuerpos bioequivalentes pueden incluir variantes de anticuerpos anti-GFR α 3 que comprenden cambios de aminoácidos, que modifican las características de glicosilación de los anticuerpos, por ejemplo, mutaciones que eliminan o retiran la glucosilación.

Anticuerpos anti-GFR α 3 que comprenden variantes de Fc

De acuerdo con determinadas realizaciones de la presente invención, se proporcionan anticuerpos anti-GFR α 3 que comprenden un dominio Fc que comprende una o más mutaciones, que potencian o disminuyen la unión del anticuerpo al receptor FcRn, por ejemplo, a pH ácido en comparación con el pH neutro. Por ejemplo, la presente invención incluye anticuerpos anti-GFR α 3 que comprenden una mutación en la región CH₂ o CH₃ del dominio Fc, en la que la/s mutación/es aumenta/n la afinidad del dominio Fc hacia FcRn en un ambiente ácido (por ejemplo, en un endosoma en el que el pH varía de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 6,0). Dichas mutaciones pueden dar lugar a un

aumento de la semivida en suero del anticuerpo cuando se administra a un animal. Los ejemplos no limitantes de dichas modificaciones de Fc incluyen, por ejemplo, una modificación en la posición 250 (por ejemplo, E o Q); 250 y 428 (por ejemplo, L o F); 252 (por ejemplo, L/Y/F/W o T), 254 (por ejemplo, S o T), y 256 (por ejemplo, S/R/Q/E/D o T); o una modificación en la posición 428 y/o 433 (por ejemplo, H/I/R/S/P/Q o K) y/o 434 (por ejemplo, H/F o Y); o una modificación en la posición 250 y/o 428; o una modificación en la posición 307 o 308 (por ejemplo, 308F, V308F) y 434. En una realización, la modificación comprende una modificación de 428L (por ejemplo, M428L) y 434S (por ejemplo, N434S); una modificación 428L, 2591 (por ejemplo, V2591) y 308F (por ejemplo, V308F); una modificación 433K (por ejemplo, H433K) y una modificación 434 (por ejemplo, 434Y); una modificación 252, 254 y 256 (por ejemplo, 252Y, 254T y 256E); una modificación 250Q y 428L (por ejemplo, T250Q y M428L); y una modificación 307 y/o 308 (por ejemplo, 308F o 308P).

Por ejemplo, la presente invención incluye anticuerpos anti-GFR α 3 que comprenden un dominio Fc que comprende uno o más pares o grupos de mutaciones seleccionadas del grupo que consiste en: 250Q y 248L (por ejemplo, T250Q y M248L); 252Y, 254T y 256E (por ejemplo, M252Y, S254T y T256E); 428L y 434S (por ejemplo, M428L y N434S); y 433K y 434F (por ejemplo, H433K y N434F). Todas las combinaciones posibles de las anteriores mutaciones del dominio Fc, y otras mutaciones dentro de los dominios variables de anticuerpos desvelados en el presente documento, se contemplan dentro del alcance de la presente invención.

Características biológicas de los anticuerpos

En general, los anticuerpos de la presente invención pueden funcionar uniéndose a uno o más de los tres dominios globulares ricos en cisteína (1, 2 o 3) de hGFR α 3. En determinadas realizaciones, los anticuerpos de la presente invención pueden unirse a un epítipo ubicado en al menos uno de los dominios ricos en cisteína de hGFR α 3. En determinadas realizaciones, un anticuerpo de la invención puede unirse a los restos de aminoácidos del dominio 1 de GFR α 3, que varían de aproximadamente el resto 44 a aproximadamente el resto 124 de SEQ ID NO: 375. En determinadas realizaciones, un anticuerpo de la invención puede unirse a los restos de aminoácidos del dominio 2 de GFR α 3, que varían de aproximadamente el resto 162 a aproximadamente el resto 239 de SEQ ID NO: 375. En determinadas realizaciones, un anticuerpo de la invención puede unirse a los restos de aminoácidos del dominio 3 de GFR α 3, que varían de aproximadamente el resto 248 a aproximadamente el resto 340 de SEQ ID NO: 375. En determinadas realizaciones, los anticuerpos de la presente invención pueden funcionar bloqueando o inhibiendo la actividad de GFR α 3 mediante la unión a una región en una cualquiera de los dominios que actúa como el dominio de unión al ligando, evitando así la unión del ligando, tal como, la artemina, a ese sitio. En determinadas realizaciones, un anticuerpo de la invención puede unirse al sitio de unión al ligando en uno de los dominios de GFR α 3 y prevenir la posterior unión del complejo de artemina-GFR α 3 a RET. En una realización, un anticuerpo de la invención puede unirse a uno cualquiera o más de los epítopos en el complejo de artemina-GFR α 3 que puede determinar o desempeñar un papel en la especificidad entre el ligando y GFR α 3, tal como en la región que varía de los restos 167-184 de la SEQ ID NO: 375. En determinadas realizaciones, un anticuerpo de la invención puede unirse a uno o más de los restos del dominio 2 que son responsables de la especificidad entre la artemina y GFR α 3, por ejemplo, los restos de aminoácidos de las posiciones 167 (met), 176 (asp) y/o la posición 184 (glu), de SEQ ID NO: 375 y, por lo tanto, la unión puede evitar la unión del ligando a su receptor y, posteriormente, puede evitar la señalización a través del receptor tirosina quinasa RET, o a través de un mediador o modulador de la señalización distinto de RET. En determinadas realizaciones, los anticuerpos de la invención pueden unirse a la forma unida a la membrana de GFR α 3 o a la forma soluble de GFR α 3. En determinadas realizaciones, los anticuerpos de la invención pueden unirse a GFR α 3, pero no reaccionar de forma cruzada con GFR α 1, GFR α 2 o GFR α 4. En determinadas realizaciones, los anticuerpos de la presente invención pueden ser anticuerpos biespecíficos. Los anticuerpos biespecíficos de la invención pueden unirse a un epítipo en una región rica en cisteína de un dominio y también pueden unirse a una región rica en cisteína en un segundo dominio de hGFR α 3. En determinadas realizaciones, los anticuerpos biespecíficos de la invención pueden unirse a dos regiones diferentes dentro del mismo dominio. En determinadas realizaciones, un brazo de un anticuerpo biespecífico de la invención puede unirse a una región rica en cisteína de un dominio de hGFR α 3 y el otro brazo puede unirse a RET, o a un modulador distinto de RET. En determinadas realizaciones, los anticuerpos biespecíficos pueden unirse a un dominio en GFR α 3 y un dominio en GFR α 1 o GFR α 2.

Más específicamente, los anticuerpos anti-GFR α 3 de la invención pueden presentar una o más de las siguientes características:

- (i) presenta una K_D que varía de aproximadamente 10^{-8} M a aproximadamente 10^{-13} M medida mediante resonancia de plasmón superficial;
- (ii) demuestra la capacidad de bloquear aproximadamente el 50-100 % de la unión de GFR α 3 a su ligando, la artemina, con un valor de CI_{50} que varía de aproximadamente 40 pM a aproximadamente 15 nM;
- (iii) demuestra la capacidad de bloquear entre el 20 % y el 100 % de la unión de GFR α 3 a un soporte sólido recubierto con una mezcla de artemina y RET;
- (iv) bloquea o inhibe la activación de RET dependiente de la artemina con una CI_{50} que varía de aproximadamente 200 pM a aproximadamente 50 nM;
- (v) inhibe o reduce una o más respuestas nociceptivas en un modelo *in vivo* de dolor por cáncer de huesos;
- (vi) inhibe o reduce la hiperalgesia térmica sensibilizada a la artemina *in vivo*;
- (vii) inhibe o reduce la alodinia en un modelo *in vivo* de artrosis; o

(viii) no reacciona de forma cruzada con otros receptores conjuntos GFR para RET.

Ciertos anticuerpos anti-GFR α 3 de la presente invención son capaces de inhibir o atenuar la actividad de GFR α 3 en un ensayo *in vitro*. La capacidad de los anticuerpos de la invención para unirse e inhibir la unión de GFR α 3 a su ligando artemina solo o en presencia de RET se puede medir usando cualquier método convencional conocido por los expertos en la materia, incluyendo los ensayos de unión o ensayos para determinar si los anticuerpos bloquean la activación de RET mediante la inhibición de la unión de GFR α 3 a su receptor artemina, tal como los descritos en el presente documento. Más adelante, en los ensayos Ejemplos 4 y 5, se ilustran ensayos *in vitro* ilustrativos, no limitantes, para medir la actividad GFR α 3.

La presente invención incluye anticuerpos anti-GFR α 3 y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que se unen a uno o más de los dominios globulares ricos en cisteína de GFR α 3, como se muestra en SEQ ID NO: 375, o un fragmento de la misma. Los anticuerpos específicos de GFR α 3 pueden no contener marcadores o restos adicionales, o pueden contener un marcador o resto N-terminal o C-terminal. En una realización, el marcador o resto es biotina. En un ensayo de unión, la ubicación de un marcador (si existe) puede determinar la orientación del péptido con respecto a la superficie sobre la que se une el péptido. Por ejemplo, si una superficie está recubierta con avidina, un péptido que contenga una biotina N-terminal se orientará de manera que la parte C-terminal del péptido sea distal a la superficie.

En el presente documento, se describe un anticuerpo monoclonal completamente humano o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a hGFR α 3 y neutraliza la actividad hGFR α 3, anticuerpo o fragmento del mismo que presenta una o más de las siguientes características: (i) comprende una HCVR que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338, 354, 381 y 397; (ii) comprende una LCVR que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346, 362, 389 y 405; (iii) comprende una cualquiera o más de las secuencias de cadena pesada o ligera de CDR1, CDR2 y CDR3 representadas en la Tabla 1 y sus combinaciones; (iv) es específico de la unión a y/o el bloqueo de la actividad GFR α 3 sin unirse a ni/o bloquear otros receptores de GFR alfa, incluyendo GFR α 1, GFR α 2 y GFR α 4; (v) demuestra la especificidad de unión hacia uno o más de los dominios globulares ricos en cisteína de GFR α 3; (vi) bloquea la activación de y señalización a través del receptor tirosina quinasa RET; (vii) inhibe o reduce la hiperalgesia térmica sensibilizada con artemina *in vivo*; (viii) inhibe o reduce la alodinia en un modelo *in vivo* de artrosis; o inhibe o reduce una o más respuestas nociceptivas en un modelo *in vivo* de dolor por cáncer de huesos.

Cartografía de epítomos y tecnologías relacionadas

Diversas técnicas conocidas para los expertos en la materia pueden usarse para determinar si un anticuerpo "interactúa con uno o más aminoácidos" dentro de un polipéptido o de una proteína. Las técnicas ilustrativas incluyen, por ejemplo, se puede realizar un ensayo de bloqueo cruzado rutinario tal como el descrito en "Antibodies", Harlow y Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY). Otros métodos incluyen el análisis mutacional de rastreo de alanina, análisis de transferencia de péptidos (Reineke (2004) *Methods Mol Biol* 248: 443-63), estudios cristalográficos de análisis de escisión de péptidos y análisis de RMN. Además, pueden emplearse métodos tales como escisión de epítomos, extracción de epítomos y modificación química de antígenos (Tomer (2000) *Protein Science* 9: 487-496). Otro método que puede usarse para identificar los aminoácidos dentro de un polipéptido con que interactúa un anticuerpo es el intercambio de hidrógeno/deuterio detectado por espectrometría de masas. En términos generales, el método de intercambio de hidrógeno/deuterio implica marcar con deuterio la proteína de interés, seguido de la unión del anticuerpo a la proteína marcada con deuterio. A continuación, el complejo de proteína/anticuerpo se transfiere a agua y los protones intercambiables dentro de los aminoácidos que están protegidos por el complejo de anticuerpo experimentan un intercambio de deuterio a hidrógeno a una velocidad más lenta que los protones intercambiables dentro de los aminoácidos que no forman parte de la superficie de contacto. Como resultado, los aminoácidos que forman parte de la superficie de contacto de proteína/anticuerpo pueden retener el deuterio y, por lo tanto, presentan una masa relativamente superior en comparación con los aminoácidos no incluidos en la superficie de contacto. Tras la disociación del anticuerpo, la proteína diana se somete a escisión de proteasas y análisis de espectrometría de masas, revelando así los restos marcados con deuterio que corresponden a los aminoácidos específicos con los que interactúa el anticuerpo. Véase, por ejemplo, Ehring (1999) *Analytical Biochemistry* 267(2):252-259; Engen y Smith (2001) *Anal. Chem.* 73:256A-265A.

El término "epítopo" se refiere a un sitio en un antígeno al que responden los linfocitos B y/o T. Los epítomos de linfocitos B pueden formarse tanto a partir de aminoácidos contiguos como a partir de aminoácidos no contiguos yuxtapuestos mediante el plegamiento terciario de una proteína. Los epítomos formados a partir de aminoácidos contiguos normalmente se mantienen al tratarlos con disolventes desnaturizantes, mientras que los epítomos formados mediante plegamiento terciario normalmente se pierden en el tratamiento con disolventes desnaturizantes. Un epítopo normalmente incluye al menos 3, y más generalmente, al menos 5 u 8-10 aminoácidos en una configuración espacial única.

La caracterización asistida por modificaciones (MAP), también conocida como caracterización de anticuerpos basada en la estructura del antígeno (ASAP) es un método que categoriza grandes números de anticuerpos monoclonales (mAb) dirigidos contra el mismo antígeno de acuerdo con las similitudes del perfil de unión de cada anticuerpo a superficies de antígenos modificados química o enzimáticamente (véase, por ejemplo, el documento US 2004/0101920). Cada categoría puede reflejar un solo epítipo bien diferente de o parcialmente superpuesto con el epítipo representado por otra categoría. Esta tecnología permite el filtrado rápido de anticuerpos genéticamente idénticos, de modo que la caracterización puede centrarse en anticuerpos genéticamente distintos. Cuando se aplica a la selección de hibridomas, la MAP puede facilitar la identificación de clones de hibridomas raros que producen anticuerpos monoclonales que tienen las características deseadas. La MAP se puede usar para clasificar los anticuerpos de la invención en grupos de anticuerpos que se unen a diferentes epítopos.

En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-GFR α 3 o fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo se une a un epítipo dentro de al menos uno de los dominios ricos en cisteína 1, 2 o 3 de GFR α 3, o un fragmento del mismo, en el que el dominio 1 varía de aproximadamente el número de resto 44 a aproximadamente el número de resto 124 de SEQ ID NO: 375; el dominio 2 varía de aproximadamente el resto 162 a aproximadamente el resto 239 de SEQ ID NO: 375; el dominio 3 varía de aproximadamente el resto 248 a aproximadamente el resto 340 de SEQ ID NO: 375.

En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-GFR α 3 o fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo se une a un epítipo dentro del dominio 1 o un fragmento del mismo, de GFR α 3 humano.

En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-GFR α 3 o fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo se une a un epítipo dentro del dominio 2 o un fragmento del mismo, de GFR α 3 humano.

En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-GFR α 3 o fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo se une a un epítipo dentro del dominio 3 o un fragmento del mismo, de GFR α 3 humano.

En determinadas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo se une a un epítipo, que incluye más de uno de los epítopos enumerados de GFR α 3 dentro del dominio 1, 2 o 3, y/o dentro de dos dominios diferentes (por ejemplo, epítopos dentro de los dominios 1 y 2, o dentro de los dominios 2 y 3, o dentro de los dominios 1 y 3).

En determinadas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico que se une a un epítipo dentro de un dominio de GFR α 3 y otro epítipo dentro de un dominio diferente de GFR α 3. En una realización, el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico que se une a un epítipo en el dominio 1 de GFR α 3 y otro epítipo en el dominio 2 de GFR α 3. En una realización, el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico que se une a un epítipo en el dominio 1 de GFR α 3 y a otro epítipo en el dominio 3 de GFR α 3. En una realización, el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico que se une a un epítipo en el dominio 2 de GFR α 3 y a otro epítipo en el dominio 3 de GFR α 3.

La presente invención incluye anticuerpos anti-GFR α 3 que se unen al mismo epítipo que cualquiera de los anticuerpos ilustrativos específicos descritos en el presente documento (por ejemplo, H4H2207N, H4H2212N, H4H2236N3, H4H2243N2, H4H2210N, H4H2234N, H4H2291S, H4H2292S, H4H2293P, H4H2294S, H4H2295S, H4H2296S, H4H2341S, H4H2342P, H4H2344S, H4H2345S, H4H2346S, H4H2350P, H4H2352S, H4H2354S, H4H2355S, H4H2357S, H4H2364S, H1M2243N y H1M2236N). Asimismo, la presente invención también incluye anticuerpos anti-GFR α 3 que compiten por la unión a GFR α 3 o un fragmento de GFR α 3 con cualquiera de los anticuerpos ilustrativos específicos descritos en el presente documento.

Se puede determinar fácilmente si un anticuerpo se une al mismo epítipo que, o compite por la unión con, un anticuerpo anti-GFR α 3 de referencia usando métodos rutinarios conocidos en la técnica. Por ejemplo, para determinar si un anticuerpo de ensayo se une al mismo epítipo que un anticuerpo anti-GFR α 3 de referencia de la invención, se permite que el anticuerpo de referencia se una a una proteína o péptido GFR α 3 en condiciones de saturación. A continuación, se evalúa la capacidad de un anticuerpo de ensayo de unirse a la molécula GFR α 3. Si el anticuerpo de ensayo puede unirse a GFR α 3 después de unión por saturación con el anticuerpo anti-GFR α 3 de referencia, puede concluirse que el anticuerpo de ensayo se une a un epítipo diferente del anticuerpo anti-GFR α 3 de referencia. Por otro lado, si el anticuerpo de ensayo no puede unirse a la molécula GFR α 3 después de la unión por saturación con el anticuerpo anti-GFR α 3 de referencia, entonces el anticuerpo de ensayo puede unirse al mismo epítipo que el epítipo al que se une el anticuerpo anti-GFR α 3 de referencia de la invención.

Para determinar si un anticuerpo compite por la unión con un anticuerpo anti-GFR α 3 de referencia, se realiza la metodología de unión descrita anteriormente en dos orientaciones: En una primera orientación, se permite que el anticuerpo de referencia se una a una molécula GFR α 3 en condiciones de saturación seguido de la evaluación de la unión del anticuerpo de ensayo a la molécula GFR α 3. En una segunda orientación, se permite que el anticuerpo de ensayo se una a una molécula GFR α 3 en condiciones de saturación seguido de la evaluación del anticuerpo de referencia a la molécula GFR α 3. Si, en ambas orientaciones, únicamente el primer anticuerpo (de saturación) puede unirse a la molécula GFR α 3, entonces se concluye que el anticuerpo de ensayo y el anticuerpo de referencia compiten por la unión a GFR α 3. Como apreciará un experto en la materia, un anticuerpo que compite por la unión con un anticuerpo de referencia puede que no se una necesariamente al epítipo idéntico al anticuerpo de referencia, sino que puede bloquear estéricamente la unión del anticuerpo de referencia mediante la unión a un epítipo solapante o

adyacente.

Dos anticuerpos se unen al mismo epítipo o al epítipo solapante si cada uno inhibe competitivamente (bloquea) la unión del otro al antígeno. Es decir, un exceso de 1, 5, 10, 20 o 100 veces de un anticuerpo inhibe la unión del otro en al menos un 50 %, pero preferentemente en un 75 %, 90 % o incluso 99 % medida en un ensayo de unión competitiva (véase, por ejemplo, Junghans *et al.*, *Cancer Res.* 1990 50:1495-1502). Como alternativa, dos anticuerpos tienen el mismo epítipo si esencialmente todas las mutaciones de aminoácido en el antígeno que reducen o eliminan la unión de un anticuerpo reducen o eliminan la unión del otro. Dos anticuerpos tienen epítopos solapantes si algunas de las mutaciones de aminoácido que reducen o eliminan la unión de un anticuerpo reducen o eliminan la unión del otro.

Entonces, puede realizarse experimentación rutinaria adicional (por ejemplo, mutación de péptidos y análisis de unión) para confirmar si la ausencia observada de unión del anticuerpo de ensayo se debe, de hecho, a la unión al mismo epítipo que el anticuerpo de referencia o si el bloqueo estérico (u otro fenómeno) es responsable de la ausencia de la unión observada. Los experimentos de este tipo pueden realizarse usando ELISA, RIA, resonancia de plasmón superficial, citometría de flujo o cualquier otro ensayo cuantitativo o cualitativo de unión de anticuerpos disponible en la técnica.

Selectividad de especie y reactividad cruzada de especie

De acuerdo con determinadas realizaciones de la invención, los anticuerpos anti-GFR α 3 se unen a GFR α 3 humano, pero no a GFR α 3 de otras especies. Como alternativa, los anticuerpos anti-GFR α 3 de la invención, en determinadas realizaciones, se unen a GFR α 3 humano y a GFR α 3 de una o más especies no humanas. Por ejemplo, los anticuerpos anti-GFR α 3 de la invención pueden unirse a GFR α 3 humano y pueden unirse o no unirse, según sea el caso, a uno o más de GFR α 3 de ratón, rata, cobaya, hámster, jerbo, cerdo, gato, perro, conejo, cabra, ovejas, vaca, caballo, camello, mono cangrejero, tití, macaco de la India o chimpancé.

Inmunconjugados

En el presente documento, se describe un anticuerpo monoclonal anti-GFR α 3 conjugado a un resto terapéutico ("inmunconjugado"), tal como un agente que puede reducir el dolor y/o la inflamación, un fármaco quimioterapéutico o un radioisótopo. El tipo de resto terapéutico que puede conjugarse con el anticuerpo anti-GFR α 3 tendrá en cuenta la afección que se vaya a tratar y el efecto terapéutico deseado que se logrará. Por ejemplo, para tratar el dolor agudo o crónico, un agente tal como un AINE, un opioide o un inhibidor de Cox-2, un agente anestésico local o un segundo inhibidor de GFR α 3 puede conjugarse con el anticuerpo GFR α 3. Como alternativa, si el efecto terapéutico deseado es tratar la inflamación asociada con una afección dolorosa, puede ser ventajoso conjugar un agente antiinflamatorio con el anticuerpo anti-GFR α 3, tal como, pero sin limitación, celecoxib, o un antagonista de citocinas, tal como un inhibidor de IL-1 o IL-6. Si la afección que se va a tratar es una afección cancerosa, puede ser beneficioso conjugar un fármaco quimioterapéutico o un radioisótopo al anticuerpo GFR α 3. Los ejemplos de agentes adecuados para formar inmunconjugados son conocidos en la técnica, véase por ejemplo, documento WO 05/103081.

Anticuerpos multiespecíficos

Los anticuerpos de la presente invención pueden ser monoespecíficos, biespecíficos o multiespecíficos. Los anticuerpos multiespecíficos pueden ser específicos de diferentes epítopos de un polipéptido diana o pueden contener dominios de unión al antígeno específicos de más de un polipéptido diana. Véase, por ejemplo, Tutt *et al.*, 1991, *J. Immunol.* 147:60-69; Kufer *et al.*, 2004, *Trends Biotechnol.* 22:238-244. Los anticuerpos anti-GFR α 3 de la presente invención pueden unirse a o expresarse junto con otra molécula funcional, por ejemplo, otro péptido u otra proteína. Por ejemplo, un anticuerpo o fragmento del mismo puede unirse de forma funcional (por ejemplo, por acoplamiento químico, fusión genética, asociación no covalente u otra manera) a una o más entidades moleculares diferentes, tales como otro anticuerpo o fragmento de anticuerpo para producir un anticuerpo biespecífico o multiespecífico con una segunda especificidad de unión. Por ejemplo, la presente invención incluye anticuerpos biespecíficos en los que un brazo de una inmunoglobulina es específico del GFR α 3 humano o un fragmento del mismo, y el otro brazo de la inmunoglobulina es específico de una segunda diana terapéutica o está conjugado con un resto terapéutico. En determinadas realizaciones de la invención, un brazo de una inmunoglobulina es específico de un epítipo en un dominio de hGFR α 3 o un fragmento del mismo, y el otro brazo de la inmunoglobulina es específico de un epítipo en un segundo dominio de hGFR α 3. En ciertas realizaciones, un brazo de una inmunoglobulina es específico de un epítipo en un dominio de hGFR α 3 y el otro brazo es específico de un segundo epítipo en el mismo dominio de hGFR α 3.

Un formato de anticuerpo biespecífico ilustrativo que puede usarse en el contexto de la presente invención implica el uso de un primer dominio C_H3 de inmunoglobulina (Ig) y un segundo dominio C_H3 de Ig, en el que el primer y el segundo dominio C_H3 de Ig difieren entre sí en al menos un aminoácido, y en el que al menos una diferencia de aminoácido reduce la unión del anticuerpo biespecífico a proteína A en comparación con un anticuerpo biespecífico que carece de la diferencia de aminoácido. En una realización, el primer dominio C_H3 de Ig se une a proteína A y el segundo dominio C_H3 de Ig contiene una mutación que reduce o anula la unión a proteína A tal como una modificación H95R (por numeración de exones IMGT; H435R por numeración EU). El segundo C_H3 puede comprender además

una modificación Y96F (por IMGT; Y436F por EU). Modificaciones adicionales que pueden encontrarse dentro del segundo C_H3 incluyen: D16E, L18M, N44S, K52N, V57M y V82I (por IMGT; D356E, L358M, N384S, K392N, V397M y V422I por EU) en el caso de anticuerpos IgG1; N44S, K52N y V82I (IMGT; N384S, K392N y V422I por EU) en el caso de anticuerpos IgG2; y Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q y V82I (por IMGT; Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q y V422I por EU) en el caso de anticuerpos IgG4. Las variaciones en el formato de anticuerpo biespecífico descrito anteriormente se contemplan dentro del alcance de la presente invención.

Administración terapéutica y formulaciones

La invención proporciona composiciones terapéuticas que comprenden los anticuerpos anti-GFR α 3 o fragmentos de unión al antígeno de los mismos de la presente invención. La administración de composiciones terapéuticas de acuerdo con la invención se realizará con vehículos, excipientes y otros agentes adecuados que se incorporen en formulaciones para proporcionar transferencia, suministro, tolerancia y similares mejoradas. Puede encontrarse una multitud de formulaciones apropiadas en el formulario conocido para todos los químicos farmacéuticos: "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Company, Easton, PA. Estas formulaciones incluyen, por ejemplo, polvos, pastas, pomadas, gelatinas, ceras, aceites, lípidos, lípidos (catiónicos o aniónicos) que contienen vesículas (tales como LIPOFECTIN™), conjugados de ADN, pastas de absorción anhidras, emulsiones de grasa en agua y agua en grasa, emulsiones de Carbowax (polietilenglicoles de diversas masas moleculares), geles semisólidos y mezclas semisólidas que contiene Carbowax. Véase también, Powell *et al.*, "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) *J Pharm Sci Technol* 52:238-311.

La dosis de anticuerpo puede variar dependiendo de la edad y de la talla del sujeto a quien se vaya a administrar, la enfermedad diana, las condiciones, la vía de administración y similares. Cuando el anticuerpo de la presente invención se usa para tratar el dolor asociado con la actividad GFR α 3 en diversas afecciones o enfermedades, produciendo la afección o enfermedad dolor agudo o crónico, dolor inflamatorio, dolor neuropático y similares, en un paciente adulto, es ventajoso administrar por vía intravenosa el anticuerpo de la presente invención normalmente en una sola dosis de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal, más preferentemente de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 7, de aproximadamente 0,03 a aproximadamente 5 o de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 3 mg/kg de peso corporal. Dependiendo de la gravedad de la afección, la frecuencia y la duración del tratamiento, pueden ajustarse.

Se conocen diversos sistemas de suministro y pueden usarse para administrar la composición farmacéutica de la invención, por ejemplo, encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, células recombinantes capaces de expresar los virus mutantes, endocitosis mediada por receptor (véase, por ejemplo, Wu *et al.* (1987) *J. Biol. Chem.* 262:4429-4432). Los métodos de introducción incluyen, aunque sin limitación, las vías intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural y oral. La composición puede administrarse por cualquier vía conveniente, por ejemplo, por infusión o inyección en bolo, por absorción a través del revestimiento epitelial o mucocutáneos (por ejemplo, mucosa oral, mucosa rectal e intestinal, etc.) y puede administrarse junto con otros agentes biológicamente activos. La administración puede ser sistémica o local.

La composición farmacéutica también puede administrarse en una vesícula, en particular, un liposoma (véase, por ejemplo, Langer (1990) *Science* 249:1527-1533).

En determinadas situaciones, la composición farmacéutica puede suministrarse en un sistema de liberación controlada. En una realización, se puede usar una bomba. En otra realización, pueden usarse materiales poliméricos. En otra realización más, un sistema de liberación controlada puede ubicarse en proximidad de la diana de la composición, requiriendo, por tanto, solo una fracción de la dosis sistémica.

Los preparados inyectables pueden incluir formas farmacéuticas para inyecciones intravenosas, subcutáneas, intracutáneas e intramusculares, infusiones por goteo, etc. Estos preparados inyectables pueden prepararse mediante métodos conocidos para el público. Por ejemplo, los preparados inyectables pueden prepararse, por ejemplo, disolviendo, suspendiendo o emulsionando el anticuerpo o su sal, descrita anteriormente, en un medio acuoso estéril o un medio oleoso convencionalmente usado para inyecciones. Como medio acuoso para inyecciones, existen, por ejemplo, solución salina fisiológica, una solución isotónica que contiene glucosa y otros agentes auxiliares, etc., que puede usarse en combinación con un agente solubilizante apropiado tal como un alcohol (por ejemplo, etanol), un polialcohol (por ejemplo, propilenglicol, polietilenglicol), un tensioactivo no iónico [por ejemplo, polisorbato 80, HCO-50 (aducto de polioxietileno (50 mol) de aceite de ricino hidrogenado)], etc. Como medio oleaginoso, se emplean, por ejemplo, aceite de sésamo, aceite de soja, etc., que pueden usarse en combinación con un agente solubilizante tal como benzoato de bencilo, alcohol bencilico, etc. La inyección así preparada se llena preferentemente en una ampolla apropiada.

Una composición farmacéutica de la presente invención puede suministrarse por vía subcutánea o intravenosa con una aguja y una jeringa convencionales. Además, con respecto al suministro subcutáneo, un dispositivo de suministro de pluma ya tiene aplicaciones en el suministro de una composición farmacéutica de la presente invención. Dicho dispositivo de suministro de pluma puede ser reutilizable o desechable. Un dispositivo de suministro de pluma reutilizable generalmente utiliza un cartucho reemplazable que contiene una composición farmacéutica. Una vez que

se ha administrado toda la composición farmacéutica dentro del cartucho y que el cartucho está vacío, el cartucho vacío puede desecharse fácilmente y remplazarse con un nuevo cartucho que contiene la composición farmacéutica. El dispositivo de suministro de pluma entonces puede reutilizarse. En un dispositivo de suministro de pluma desechable, no hay un cartucho reemplazable. En su lugar, el dispositivo de suministro de pluma desechable viene prellenado con la composición farmacéutica mantenida en un depósito dentro del dispositivo. Una vez que el depósito se vacía de la composición farmacéutica, el dispositivo completo se desecha.

Numerosos dispositivos de suministro de pluma y autoinyector reutilizables tienen aplicaciones en el suministro subcutáneo de una composición farmacéutica de la presente invención. Los ejemplos incluyen, aunque ciertamente sin limitación, AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), bolígrafo DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Burghdorf, Suiza), bolígrafo HUMALOG MIX 75/25™, bolígrafo HUMALOG™, bolígrafo HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly y Co., Indianápolis, IN), NOVOPEN™ I, II y III (Novo Nordisk, Copenhagen, Dinamarca), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Dinamarca), bolígrafo BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ y OPTICLIK™ (sanofi-aventis, Frankfurt, Alemania), por nombrar solo algunos. Los ejemplos de dispositivos de suministro de pluma desechables que tienen aplicaciones en suministro subcutáneo de una composición farmacéutica de la presente invención incluyen, aunque ciertamente sin limitación, la pluma SOLOSTAR™ (sanofi-aventis), el FLEXPEN™ (Novo Nordisk) y el KWIKPEN™ (Eli Lilly), el autoinyector SURECLICK™ (Amgen, Thousands Oaks, CA), el PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Alemania), el EPIPEN (Dey, L.P.) y el bolígrafo HUMIRA™ (Abbott Labs, Abbott Park, IL), por nombrar solo algunos.

Ventajosamente, las composiciones farmacéuticas para uso oral o parenteral descritas anteriormente se preparan en formas de dosificación en una dosis unitaria adecuada para ajustarse a una dosis de los ingredientes activos. Dichas formas de dosificación en una dosis unitaria incluyen, por ejemplo, comprimidos, píldoras, cápsulas, inyecciones (ampollas), supositorios, etc. La cantidad del anticuerpo mencionado anteriormente contenida generalmente es de aproximadamente 5 a aproximadamente 500 mg por forma de dosificación en una dosis unitaria; especialmente en forma de inyección, Se prefiere que el anticuerpo mencionado anteriormente esté contenido en aproximadamente 5 a aproximadamente 100 mg y en aproximadamente 10 a aproximadamente 250 mg para las otras formas de dosificación.

Usos terapéuticos de los anticuerpos

Los anticuerpos de la invención son útiles en el tratamiento, en la prevención o la mejoría de una enfermedad, trastorno o afección asociado con la actividad GFRα3, o para la mejoría de al menos un síntoma asociado con la enfermedad, el trastorno o la afección, o para aliviar el dolor asociado con dicha afección, trastorno o afección. Las afecciones, enfermedades y/o trastornos ilustrativos y/o el dolor asociado con dichas afecciones, enfermedades o trastornos, que pueden tratarse con los anticuerpos anti-GFRα3 de la presente invención incluyen dolor agudo, crónico, neuropático o inflamatorio, artritis, cistitis intersticial, pancreatitis, migraña, cefaleas en racimo, neuralgia del trigémino, neuralgia herpética, neuralgias generales, epilepsia o afecciones epilépticas, miotonía, arritmias, trastornos del movimiento, trastornos neuroendocrinos, ataxia, síndrome del intestino irritable, síndrome inflamatorio intestinal, urgencia fecal, incontinencia, hipersensibilidad rectal, dolor visceral, dolor por artrosis, gota, neuralgia posherpética, neuropatía diabética, dolor radicular, ciática, dolor de espalda, dolor de cabeza o cuello, dolor irruptivo, dolor postoperatorio, dolor oncológico, incluyendo el dolor asociado con el cáncer de huesos o el cáncer de páncreas.

Otras afecciones que se pueden tratar mediante los métodos terapéuticos descritos en el presente documento incluyen eritromelalgia hereditaria, rinitis, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de huesos, cáncer de cuello uterino o trastornos de la vejiga. Los anticuerpos de la invención o fragmentos de unión al antígeno de los mismos también pueden usarse para tratar las siguientes afecciones: dolor óseo agudo, crónico o de fractura no maligno; artritis reumatoide, estenosis espinal; dolor lumbar neuropático; síndrome de dolor miofascial; fibromialgia; dolor articular temporomandibular; dolor visceral, incluyendo, dolor abdominal; pancreático; cefalea crónica; cefalea tensional, incluyendo, cefaleas en racimo; neuropatía diabética; neuropatía asociada al VIH; neuropatía de Charcot-Marie Tooth; neuropatías sensoriales hereditarias; lesión del nervio periférico; neuromas dolorosos; descargas ectópicas proximales y distales; radiculopatía; dolor neuropático inducido por quimioterapia; dolor neuropático inducido por radioterapia; dolor tras una mastectomía; dolor central; dolor por lesión de la médula espinal; dolor tras apoplejía; dolor talámico; síndrome de dolor regional complejo (CRPS); dolor fantasma; dolor intratable; dolor musculoesquelético; dolor articular; dolor agudo de gota; dolor lumbar mecánico; dolor de cuello; tendinitis; dolor por lesión/ejercicio; dolor abdominal; pielonefritis; apendicitis; colecistitis; obstrucción intestinal; hernias; etc.; dolor pectoral, incluyendo, dolor cardíaco; dolor pélvico, dolor cólico renal, dolor obstétrico agudo, incluyendo, dolor de parto; dolor de cesárea; dolor por quemadura y traumatismo; endometriosis; dolor de herpes zóster; anemia falciforme; pancreatitis aguda; dolor irruptivo; dolor orofacial incluyendo dolor de sinusitis, dolor dental; dolor de esclerosis múltiple; dolor de lepra; dolor de la enfermedad de Behcet; adiposis dolorosa; dolor flebítico; dolor de Guillain-Barre; dolor de piernas y de dedos en movimiento; síndrome de Haglund; dolor de la enfermedad de Fabry; enfermedad vesical y urogenital; e hiperactividad vesical.

En una realización, los anticuerpos de la invención se pueden usar para tratar un síndrome de dolor funcional, en el que el síndrome de dolor funcional se selecciona del grupo que consiste en dolor lumbar crónico, síndrome del intestino irritable (SII), fibromialgia (FM), síndrome de fatiga crónica (SFC), dolor abdominal, trastorno de la articulación

temporomandibular (TMJD), síndrome de vejiga dolorosa (cistitis intersticial), trastornos/síndromes gastrointestinales funcionales, síndrome de dolor torácico funcional, migrañas y cefaleas de tipo tensional, síndrome de dolor pélvico crónico, síndrome de próstata dolorosa (prostatitis crónica), síndrome de sensibilidad química múltiple y síndrome de la Guerra del Golfo.

Los anticuerpos de la invención o fragmentos de unión al antígeno de los mismos también se pueden usar para inhibir el crecimiento/la proliferación de células tumorales o metástasis de células tumorales. Por consiguiente, en determinadas realizaciones, los anticuerpos de la invención o fragmentos de unión al antígeno de los mismos, pueden usarse para tratar un cáncer, incluyendo, pero sin limitación, cáncer de endometrio, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de cuello uterino, cáncer de hígado, cáncer pancreático, cáncer de colon, cáncer de estómago, cáncer de útero, cáncer de ovarios, cáncer de riñón, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de cerebro, una leucemia, un linfoma, cáncer de huesos o dolor asociado con la metástasis de un cáncer, por ejemplo, metástasis de un cáncer en el hueso. (Véase Tang, J-Z, *et al. Mol Cancer Ther* (2010), 9(6): 1697-1708; Kang, J. *et al. Oncogene*, (2009), 28:2034-2045; Ceyhan, G.O. *et al. Annals of Surgery*, (2006), 244(2):274-281; Banerjee, A., *et al. Breast Cancer Res* (2011), 13:R112; Pandey, V. *et al., Endocrinology*, (2010), 151(3):909-920; Kang, J. *et al., Oncogene*, (2010), 29:3228-3240; Li, S. *et al. J Biomed Sci* (2011), 18:24).

Los anticuerpos de la presente invención también son útiles para tratar o prevenir el dolor asociado con el cáncer. El "dolor asociado con el cáncer" incluye, por ejemplo, dolor oncológico óseo, incluyendo el dolor por un cáncer que ha formado metástasis en el hueso (por ejemplo, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, sarcoma, cáncer de riñón, mieloma múltiple, etc.). El "dolor asociado con el cáncer" también incluye el dolor asociado más generalmente con afecciones cancerosas tales como, por ejemplo, carcinoma de células renales, carcinoma pancreático, cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de próstata, gliomas malignos, osteosarcoma, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, mesotelioma maligno, mieloma múltiple, cáncer de ovarios, cáncer pulmonar microcítico, cáncer de pulmón no microcítico, sarcoma sinovial, cáncer de tiroides o melanoma. Los anticuerpos de la presente invención también son útiles para tratar o prevenir el dolor causado por o asociado con la terapia del cáncer o tratamientos médicos contra el cáncer, por ejemplo, dolor neuropático inducido por quimioterapia, tal como el dolor causado por o asociado con el tratamiento con paclitaxel (Taxol™), docetaxel (Taxotere®); nitrosourea, ciclofosfamida, doxorubicina, epirubicina, 5-fluorouracilo, topotecán, irinotecán, carmustina, estramustina y compuestos quimioterapéuticos a base de platino, tales como cisplatino, carboplatino e iproplatino.

Tratamientos de combinación

Los tratamientos de combinación pueden incluir un anticuerpo anti-hGFR α 3 de la invención y, por ejemplo, otro antagonista de GFR α 3 (por ejemplo, anticuerpo anti-GFR α 3 o inhibidor de molécula pequeña de GFR α 3); un inhibidor de COX-2; un anestésico local; un modulador de NMDA; un agonista del receptor cannabinoide; un modulador de la familia de P2X; un antagonista de VR1; un antagonista de la sustancia P; un inhibidor de un canal de sodio activado por la tensión (Na_v), por ejemplo, un antagonista de Na_v1.7, o un antagonista de Na_v1.8 (por ejemplo, anticuerpo anti-Na_v1.7 o anti-Na_v1.8 o inhibidor de molécula pequeña), un antagonista de Na_v1.9 (por ejemplo, un anticuerpo anti-Na_v1.9 o un inhibidor de molécula pequeña de Na_v1.9); un inhibidor de los canales de calcio; un inhibidor de los canales de potasio; un inhibidor de citocinas o un antagonista del receptor de citocinas (por ejemplo, un inhibidor de interleucina-1 (IL-1) (tal como rilonacept ("trampa de IL-1"; Regeneron) o anakinra (KINERET®, Amgen), un antagonista de IL-1 de molécula pequeña o un anticuerpo anti-IL-1); un inhibidor de IL-18 (tal como un antagonista de IL-18 de molécula pequeña o un anticuerpo anti-IL-18); un inhibidor de IL-6 o de IL-6R (tal como un antagonista de IL-6 de molécula pequeña, un anticuerpo anti-IL-6 o un anticuerpo anti-receptor de IL-6); un fármaco antiepiléptico/anticonvulsivo (por ejemplo, gabapentina, pregabalina); un inhibidor del factor de crecimiento nervioso (NGF) (por ejemplo, un antagonista de NGF de molécula pequeña o un anticuerpo anti-NGF), un inhibidor de BDNF, TrkA, TrkB o p75; un opioide; morfina; cohichina a dosis baja; aspirina u otro AINE; esteroides (por ejemplo, prednisona, metotrexato, etc.); ciclosporina A a dosis baja; un inhibidor selectivo de la recaptación de la serotonina (SSRI); un inhibidor de la recaptación de la serotonina y la norepinefrina (SNRI); un tricíclico; un factor de necrosis tumoral (TNF) o inhibidor del receptor de TNF (por ejemplo, un antagonista de TNF o de TNFR de molécula pequeña, o un anticuerpo anti-TNF o TNFR); un inhibidor de TWEAK (inductor de la apoptosis WEAK relacionado con TNF); un inhibidor de RET; un inhibidor de un ligando de la familia de GDNF; un inhibidor de GFR α 1, GFR α 2 o GFR α 4; un inhibidor de un canal iónico de detección de ácido (por ejemplo, ASIC1 o ASIC3; inhibidores de la síntesis de ácido úrico (por ejemplo, alopurinol); promotores de la excreción de ácido úrico (por ejemplo, probenecid, sulfinpirazona, benzbromarona, etc.); un inhibidor de un receptor de prequinetina (PROK1 y PROK2); otros inhibidores inflamatorios (por ejemplo, inhibidores de caspasa-1, p38, IKK1/2, CTLA-4lg, etc.) y/o corticosteroides.

Regímenes de administración

Se pueden administrar múltiples dosis de un anticuerpo anti-GFR α 3 a un sujeto durante un curso de tiempo definido. Los métodos descritos en el presente documento comprenden administrar secuencialmente a un sujeto múltiples dosis de un anticuerpo anti-GFR α 3. Como se usa en el presente documento, "administrar secuencialmente" significa que cada dosis de anticuerpo anti-GFR α 3 se administra al sujeto en un diferente punto en el tiempo, por ejemplo, en diferentes días separados durante un intervalo predeterminado (por ejemplo, horas, días, semanas o meses). La presente invención incluye métodos que comprenden administrar secuencialmente al paciente una sola dosis inicial

de un anticuerpo anti-GFR α 3, seguida por una o más dosis secundarias del anticuerpo anti-GFR α 3, y opcionalmente seguidas por una o más dosis terciarias del anticuerpo anti-GFR α 3.

Las expresiones "dosis inicial", "dosis secundarias", y "dosis terciarias", se refieren a la secuencia temporal de administración del anticuerpo anti-GFR α 3. Por tanto, la "dosis inicial" es la dosis que se administra al inicio del régimen de tratamiento (también mencionada como la "dosis basal"); las "dosis secundarias" son las dosis que se administran después de la dosis inicial; y las "dosis terciarias" son las dosis que se administran después de las dosis secundarias. Las dosis iniciales, secundarias y terciarias pueden contener todas la misma cantidad de anticuerpo anti-GFR α 3, pero generalmente pueden diferir entre sí en términos de frecuencia de administración. En determinadas realizaciones, sin embargo, la cantidad de anticuerpo anti-GFR α 3 contenida en la dosis inicial, secundaria y/o terciaria varía entre sí (por ejemplo, se ajusta hacia arriba o hacia abajo según corresponda) durante el tratamiento. En determinadas realizaciones, se administran dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4 o 5) dosis al inicio del régimen de tratamiento como "dosis de carga" seguidas por dosis posteriores que se administran con menor frecuencia (por ejemplo, "dosis de mantenimiento").

Por ejemplo, cada dosis secundaria y/o terciaria se administra de 1 a 26 (por ejemplo, 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, 15, 15½, 16, 16½, 17, 17½, 18, 18½, 19, 19½, 20, 20½, 21, 21½, 22, 22½, 23, 23½, 24, 24½, 25, 25½, 26, 26½ o más) semanas después de la dosis inmediatamente anterior. La expresión "la dosis inmediatamente anterior", como se usa en el presente documento, significa, en una secuencia de administraciones múltiples, la dosis de anticuerpo anti-GFR α 3, que se administra a un paciente antes de la administración de la siguiente dosis en la secuencia sin dosis intermedias.

Los métodos descritos en el presente documento pueden comprender administrar a un paciente cualquier cantidad de dosis secundarias y/o terciarias de un anticuerpo anti-GFR α 3. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, se administra únicamente una sola dosis secundaria al paciente. En otras realizaciones, dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) dosis secundarias se administran al paciente. Asimismo, en determinadas realizaciones, se administra únicamente una sola dosis terciaria al paciente. En otras realizaciones, dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) dosis terciarias se administran al paciente.

En realizaciones que implican múltiples dosis secundarias, cada dosis secundaria puede administrarse a la misma frecuencia que las otras dosis secundarias. Por ejemplo, cada dosis secundaria puede administrarse al paciente de 1 a 2 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. De manera similar, en realizaciones que implican múltiples dosis terciarias, cada dosis terciaria puede administrarse a la misma frecuencia que las otras dosis terciarias. Por ejemplo, cada dosis terciaria puede administrarse al paciente de 2 a 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. Como alternativa, la frecuencia a la que se administran las dosis secundarias y/o terciarias a un paciente puede variar sobre el curso del régimen de tratamiento. La frecuencia de administración también puede ajustarse durante el curso de tratamiento por un médico dependiendo de las necesidades del paciente individual.

Usos de diagnóstico de los anticuerpos

Los anticuerpos anti-GFR α 3 de la presente invención también pueden usarse para detectar y/o medir GFR α 3 en una muestra, por ejemplo, con fines de diagnóstico. Por ejemplo, un anticuerpo anti-GFR α 3, o fragmento del mismo, se puede usar para diagnosticar una afección o enfermedad caracterizada por la expresión anómala (por ejemplo, la sobreexpresión, infraexpresión, la ausencia de expresión, etc.) de la GFR α 3. Los ensayos de diagnóstico ilustrativos para GFR α 3 pueden comprender, por ejemplo, poner en contacto una muestra, obtenida de un paciente, con un anticuerpo anti-GFR α 3 de la invención, en los que el anticuerpo anti-GFR α 3 se marca con un marcador detectable o molécula indicadora. Como alternativa, puede usarse un anticuerpo anti-GFR α 3 no marcado en aplicaciones de diagnóstico en combinación con un anticuerpo secundario que está marcado de forma detectable por sí mismo. el marcado detectable o molécula indicadora puede ser un radioisótopo, tales como ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S o ^{125}I ; un resto fluorescente o quimioluminiscente tal como isotiocianato de fluoresceína o rodamina; o una enzima tal como una fosfatasa alcalina, β -galactosidasa, peroxidasa de rábano rusticano o luciferasa. Los ensayos ilustrativos específicos que pueden usarse para detectar o medir GFR α 3 en una muestra incluyen ensayo de inmunoadsorción enzimática (ELISA), radioinmunoensayo (RIA) y clasificación celular activada por fluorescencia (FACS).

Las muestras que pueden usarse en ensayos de diagnóstico de GFR α 3 de acuerdo con la presente invención incluyen cualquier muestra de tejido o fluido que se puede obtener de un paciente, que contiene cantidades detectables de proteína GFR α 3, o fragmentos de la misma, en condiciones normales o patológicas. En general, los niveles de GFR α 3 en una muestra en particular obtenida de un paciente sano (por ejemplo, un paciente que no padece una enfermedad o afección asociada con niveles o actividad anómalos de GFR α 3) se medirán para establecer inicialmente un nivel de referencia, o convencional, de GFR α 3. Este nivel de referencia de GFR α 3 puede compararse con los niveles de GFR α 3 medidos en muestras obtenidas de individuos sospechosos de tener una enfermedad o afección relacionada con GFR α 3, o dolor asociado con esta enfermedad o afección.

Ejemplos

Se han hecho esfuerzos por asegurar la precisión con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades,

temperatura, etc.) pero deben tenerse en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. Salvo que se indique de otro modo, las partes son partes en peso, la masa molecular es la masa molecular promedio, la temperatura es en grados Celsius y la presión es en o cerca de atmosférica.

5 Ejemplo 1. Generación de anticuerpos humanos contra GFR α 3 humano

Se puede utilizar un inmunógeno que comprende uno cualquiera de los péptidos GFR α 3 que tienen las secuencias de aminoácidos mostradas como SEQ ID NO: 370, 371, 372 y 373, o fragmentos de las mismas, para generar anticuerpos contra GFR α 3 humano. Estos péptidos se conjugan a un vehículo, por ejemplo, KLH, luego se administran con un adyuvante para estimular la respuesta inmunitaria, a un ratón VELOCIMUNE® que comprende ADN que codifica las regiones variables de cadena pesada y cadena ligera kappa de inmunoglobulina humana. La respuesta inmunitaria de anticuerpo se controla por un inmunoensayo específico de GFR α 3. Cuando se logra una respuesta inmune deseada, se recogen los esplenocitos y se fusionan con células de mieloma de ratón para conservar su viabilidad y formar estirpes celulares de hibridoma. Las estirpes celulares de hibridoma se examinan y se seleccionan para identificar las estirpes celulares que produzcan anticuerpos específicos para GFR α 3. Usando esta técnica, se obtuvieron varios anticuerpos quiméricos anti-GFR α 3 (es decir, anticuerpos que poseen dominios variables humanos y dominios constantes de ratón). Los anticuerpos anti-GFR α 3 generados usando este método se designaron como H1M2207N, H1M2212N, H1M2236N, H1M2236N3, H1M2243N, H1M2243N2, H1M2210N y H1M2234N.

Los anticuerpos anti-GFR α 3 también se aislaron directamente de linfocitos B positivos a antígenos sin fusión a células de mieloma, como se describe en el documento U.S. 2007/0280945A1. Usando este método, se obtuvieron varios anticuerpos anti-GFR α 3 completamente humanos (es decir, anticuerpos que poseen dominios variables humanos y dominios constantes humanos); los anticuerpos ilustrativos generados de esta manera se denominaron del siguiente modo: H4H2207N, H4H2212N, H4H2236N, H4H2243N, H4H2210N, H4H2234N, H4H2291S, H4H2292S, H4H2293P, H4H2294S, H4H2295S, H4H2296S, H4H2341S, H4H2342P, H4H2344S, H4H2345S, H4H2346S, H4H2350P, H4H2352S, H4H2354S, H4H2355S, H4H2357S y H4H2364S.

Las propiedades biológicas de los anticuerpos anti-GFR α 3 ilustrativos generados de acuerdo con los métodos del presente ejemplo se describen en detalle en los ejemplos expuestos a continuación.

Ejemplo 2. Secuencias de aminoácidos de la región variable de cadena pesada y ligera

La tabla 1 expone las parejas de secuencias de aminoácidos de la región variable de cadena pesada y ligera de anticuerpos anti-GFR α 3 seleccionados y sus identificadores de anticuerpo correspondientes. Los anticuerpos se mencionan normalmente en el presente documento de acuerdo con la siguiente nomenclatura: prefijo de Fc (por ejemplo, "H4H", "H1M", "H2M"), seguido por un identificador numérico (por ejemplo, "2207" como se muestra en la Tabla 1), seguido por un sufijo "P", "S" o "N". Por tanto, de acuerdo con esta nomenclatura, un anticuerpo puede mencionarse como, por ejemplo, "H4H2207N". Los prefijos H4H, H1M y H2M en las denominaciones de anticuerpo usadas en el presente documento indican la región Fc particular del anticuerpo. Por ejemplo, un anticuerpo "H2M" tiene una Fc de IgG2 de ratón, mientras que un anticuerpo "H4H" tiene una Fc de IgG4 humana. Como apreciará un experto en la materia, un anticuerpo H1M o H2M puede convertirse en un anticuerpo H4H, y viceversa, pero en cualquier caso, los dominios variables (incluyendo las CDR), que están indicados por los identificadores numéricos mostrados en la Tabla 1, seguirán siendo los mismos. Los anticuerpos que tienen la misma designación de anticuerpo numérica, pero que se diferencian en un sufijo de letra de N, B, S o P, se refieren a anticuerpos que tienen cadenas pesadas y ligeras con secuencias de CDR idénticas, pero con variaciones de secuencia en las regiones que están fuera de las secuencias de CDR (es decir, las regiones marco conservadas). Así pues, las variantes de N, B, S y P de un determinado anticuerpo tienen secuencias de CDR idénticas dentro de sus regiones variables de cadena pesada y ligera, pero difieren entre sí dentro de sus regiones marco conservadas.

Tabla 1

Denominación del anticuerpo	SEQ ID NO DE AMINOÁCIDOS:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H4H2207N	2	4	6	8	10	12	14	16
H4H2212N	18	20	22	24	26	28	30	32
H4H2236N3	34	36	38	40	42	44	46	48
H4H2243N2	50	52	54	56	58	60	62	64
H4H2210N	66	68	70	72	74	76	78	80
H4H2234N	82	84	86	88	90	92	94	96
H4H2291S	98	100	102	104	106	108	110	112
H4H2292S	114	116	118	120	122	124	126	128
H4H2293P	130	132	134	136	138	140	142	144

Denominación del anticuerpo	SEQ ID NO DE AMINOÁCIDOS:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H4H2294S	146	148	150	152	154	156	158	160
H4H2295S	162	164	166	168	170	172	174	176
H4H2296S	178	180	182	184	186	188	190	192
H4H2341S	194	196	198	200	202	204	206	208
H4H2342P	210	212	214	216	218	220	222	224
H4H2344S	226	228	230	232	234	236	238	240
H4H2345S	242	244	246	248	250	252	254	256
H4H2346S	258	260	262	264	266	268	270	272
H4H2350P	274	276	278	280	282	284	286	288
H4H2352S	290	292	294	296	298	300	302	304
H4H2354S	306	308	310	312	314	316	318	320
H4H2355S	322	324	326	328	330	332	334	336
H4H2357S	338	340	342	344	346	348	350	352
H4H2364S	354	356	358	360	362	364	366	368
H1M2243N	381	383	385	387	389	391	393	395
H1M2236N	397	399	401	403	405	407	409	411

Ejemplo 2. Análisis de utilización de genes variables

- 5 Para analizar la estructura de los anticuerpos producidos, se clonaron y secuenciaron los ácidos nucleicos que codifican las regiones variables de anticuerpos. A partir de la secuencia de ácido nucleico y la secuencia de aminoácidos predicha de los anticuerpos, se identificó el uso del gen para cada región variable de cadena pesada (HCVR) y región variable de cadena ligera (LCVR). La Tabla 2 expone el uso del gen para anticuerpos seleccionados de acuerdo con la invención.

10

Tabla 2

AbPID	HCVR			LCVR	
	V _H	D _H	J _H	V _K	J _K
H1M2207N	3-9	6-6	4	1-5	2
H1M2212N	3-23	1-26	4	4-1	1
H1M2236N	3-23	3-3	6	1-16	4
H4H2236N3	3-23	3-3	6	1-16	4
H1M2243N	1-18	6-6	6	1-16	3
H4H2243N2	1-18	6-6	6	1-16	3
H2M2210N	3-23	1-20	3	3-20	4
H2M2234N	3-23	5-18	4	4-1	1
H4H2291S	3-23	6-6	6	1D-12	4
H4H2292S	3-33	1-7	3	1-39	3
H4H2293P	3-33	2-15	3	1-39	2
H4H2294S	3-23	6-6	6	1D-12	3
H4H2295S	3-23	6-6	6	1D-12	3
H4H2296S	3-23	6-6	6	1D-12	3
H4H2341S	1-69	3-10	5	1-39	5
H4H2342P	3-23	1-26	4	1-27	3
H4H2344S	3-33	2-15	3	1-39	2
H4H2345S	3-9	1-26	4	1-27	4
H4H2346S	3-33	2-15	3	1-39	2
H4H2350P	4-59	2-21	4	1-9	1
H4H2352S	1-18	3-3	3	3-20	2
H4H2354S	3-33	2-15	3	1-39	2

AbPID	HCVR			LCVR	
	V _H	D _H	J _H	V _K	J _K
H4H2355S	3-23	6-6	4	1-5	4
H4H2357S	3-23	3-10	6	1-12	4
H4H2364S	3-23	6-6	6	1D-12	3

Ejemplo 3. Afinidades de unión de los anticuerpos GFRα3

Las constantes de velocidad asociativa y disociativa de unión (k_a y k_d , respectivamente), y las constantes de disociación de equilibrio y las semividas disociativas (K_D y $t_{1/2}$, respectivamente) calculadas para la unión del antígeno a los anticuerpos anti-GFRα3 se determinaron usando un ensayo de biosensor de resonancia de plasmón superficial en tiempo real (Biacore T200) a 25 °C y 37 °C. Los anticuerpos se ensayaron para determinar la unión al GFRα3 humano expresado con bien un marcador myc-myc-hexahistidina C-terminal (hGFRα3-mmh; SEQ ID: 370, un marcador hFc C-terminal (hGFRα3-hFc; SEQ ID:371), o un marcador mFc C-terminal (hGFRα3-mFc; SEQ ID:372), así como GFRα3 de mono expresado con un marcador myc-myc-hexahistidina C-terminal (MfGFRα3-mmh; SEQ ID:373). Los anticuerpos anti-GFRα3 se capturaron en una superficie de bien un anticuerpo policlonal de cabra anti-IgG de ratón (GE Healthcare, n.º BR-1008-38) o de un anticuerpo monoclonal de ratón anti-IgG humana (GE Healthcare, n.º BR-1008-39) creada mediante acoplamiento directo de amina a un chip sensor Biacore CM5. Los experimentos cinéticos se llevaron a cabo usando HBS-EP (HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, tensioactivo P20 al 0,05 %, a pH 7,4) o un tampón de PBS que contiene tensioactivo P20 al 0,05 % v/v como tampón de procesamiento y tampón de muestra. La unión a GFRα3-mmh humano o GFRα3-mmh de mono se evaluó mediante la inyección de varias concentraciones que variaban de 200 a 7,4 nM (diluciones con factor de dilución de 3) a través de la superficie del anticuerpo capturado. La unión a GFRα3-mFc humano o a GFRα3-hFc humano se evaluó mediante la inyección de varias concentraciones que variaban de 100 a 3,7 nM (diluciones de factor de dilución de 3) a través de la superficie del anticuerpo capturado. La asociación de anticuerpo-antígeno se controló durante hasta 4 minutos, mientras que la disociación en el tampón se controló durante hasta 20 minutos. Las constantes de velocidad de asociación (k_a) y disociación (k_d) cinéticas se determinaron procesando y ajustando los datos a un modelo de unión 1:1 usando el programa informático de ajuste de curvas Scrubber 2.0c. Las constantes en equilibrio de disociación de unión (K_D) y las semividas disociativas ($t_{1/2}$) se calcularon a partir de las constantes de velocidad cinéticas como: K_D (M) = k_d / k_a y $t_{1/2}$ (min) = $[\ln 2 / (60 \cdot k_d)]$.

Tal como se muestra en la Tabla 3, a 25 °C, todos los 25 anticuerpos anti-GFRα3 se unieron a hGFRα3-mmh con valores de K_D que varían de 82,0 pM a 29,7 nM. A 37 °C, todos los 25 anticuerpos anti-GFRα3 se unieron a hGFRα3-mmh con valores de K_D que varían de 118 pM a 47,3 nM. Tal como se muestra en la Tabla 4, a 25 °C, todos los 23 anticuerpos anti-GFRα3 se unieron a MfGFRα3-mmh con valores de K_D que varían de 2,90 pM a 97,2 nM. A 37 °C, todos los 23 anticuerpos anti-GFRα3 se unieron a MfGFRα3-mmh con valores de K_D que varían de 11,7 pM a 145 nM. Tal como se muestra en la Tabla 5, a 25 °C y 37 °C, 6 de los 23 anticuerpos anti-GFRα3 se ensayaron para determinar la unión a hGFRα3-hFc, mientras que otros 17 anticuerpos se ensayaron para determinar la unión a hGFRα3-mFc. A 25 °C, los 6 anticuerpos anti-GFRα3 ensayados para determinar la unión a hGFRα3-hFc se unieron con valores de K_D que variaban de 7,50 pM a 220 nM. A 37 °C, los 6 anticuerpos anti-GFRα3 ensayados para determinar la unión a hGFRα3-hFc se unieron con valores de K_D que variaban de 41,3 pM a 531 nM. A 25 °C, los 17 anticuerpos anti-GFRα3 ensayados para determinar la unión a hGFRα3-mFc se unieron con valores de K_D que variaban de 0,467 pM a 58,4 nM. A 37 °C, los 17 anticuerpos anti-GFRα3 ensayados para determinar la unión a hGFRα3-mFc se unieron con valores de K_D que variaban de 13,2 pM a 106 nM.

Tabla 3: Cinéticas de unión de hGFRα3-mmH a diferentes anticuerpos anti-GFRα3 a 25 °C y a 37 °C

AbPID	25 °C				37 °C			
	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	$t_{1/2}$ (min)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	$t_{1/2}$ (min)
H4H2291S	4,18 x 10 ⁵	1,64 x 10 ⁻⁴	3,93 x 10 ⁻¹⁰	70	5,58 x 10 ⁵	3,23 x 10 ⁻⁴	5,80 x 10 ⁻¹⁰	36
H4H2292S	1,08 x 10 ⁵	5,19 x 10 ⁻⁵	4,83 x 10 ⁻¹⁰	223	1,28 x 10 ⁵	2,49 x 10 ⁻⁴	1,94 x 10 ⁻⁹	46
H4H2293P	5,81 x 10 ⁵	1,27 x 10 ⁻⁴	2,19 x 10 ⁻¹⁰	91	7,81 x 10 ⁵	2,44 x 10 ⁻⁴	3,13 x 10 ⁻¹⁰	47
H4H2294S	5,63 x 10 ⁵	7,99 x 10 ⁻⁵	1,42 x 10 ⁻¹⁰	145	7,73 x 10 ⁵	2,61 x 10 ⁻⁴	3,38 x 10 ⁻¹⁰	44
H4H2295S	4,75 x 10 ⁵	2,56 x 10 ⁻⁴	5,40 x 10 ⁻¹⁰	45	6,69 x 10 ⁵	1,19 x 10 ⁻³	1,77 x 10 ⁻⁹	10
H4H2296S	5,63 x 10 ⁵	1,87 x 10 ⁻⁴	3,32 x 10 ⁻¹⁰	62	7,65 x 10 ⁵	6,14 x 10 ⁻⁴	8,02 x 10 ⁻¹⁰	19
H4H2341S	1,59 x 10 ⁵	2,67 x 10 ⁻⁴	1,68 x 10 ⁻⁹	43	2,48 x 10 ⁵	7,37 x 10 ⁻⁴	2,98 x 10 ⁻⁹	16

ES 2 700 160 T3

	25 °C				37 °C			
AbPID	k _a (1/Ms)	k _d (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (min)	k _a (1/Ms)	k _d (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (min)
H4H2342P	1,86 x 10 ⁵	2,04 x 10 ⁻⁴	1,10 x 10 ⁻⁹	57	3,30 x 10 ⁵	6,71 x 10 ⁻⁴	2,03 x 10 ⁻⁹	17
H4H2344S	1,83 x 10 ⁵	2,40 x 10 ⁻⁴	1,31 x 10 ⁻⁹	48	2,80 x 10 ⁵	7,24 x 10 ⁻⁴	2,58 x 10 ⁻⁹	16
H4H2345S	1,09 x 10 ⁵	3,23 x 10 ⁻³	2,97 x 10 ⁻⁸	4	1,84 x 10 ⁵	8,70 x 10 ⁻³	4,73 x 10 ⁻⁸	1
H4H2346S	1,86 x 10 ⁵	7,99 x 10 ⁻⁵	4,30 x 10 ⁻¹⁰	145	4,19 x 10 ⁵	5,89 x 10 ⁻⁴	1,41 x 10 ⁻⁹	20
H4H2350P	1,03 x 10 ⁵	2,07 x 10 ⁻⁴	2,01 x 10 ⁻⁹	56	1,34 x 10 ⁵	1,28 x 10 ⁻³	9,61 x 10 ⁻⁹	9
H4H2352S	7,09 x 10 ⁵	5,81 x 10 ⁻⁵	8,20 x 10 ⁻¹¹	199	1,18 x 10 ⁶	1,39 x 10 ⁻⁴	1,18 x 10 ⁻¹⁰	83
H4H2354S	2,00 x 10 ⁵	1,10 x 10 ⁻⁴	5,48 x 10 ⁻¹⁰	105	2,81 x 10 ⁵	6,49 x 10 ⁻⁴	2,31 x 10 ⁻⁹	18
H4H2355S	1,86 x 10 ⁵	1,52 x 10 ⁻⁴	8,21 x 10 ⁻¹⁰	76	2,81 x 10 ⁵	1,23 x 10 ⁻³	4,37 x 10 ⁻⁹	9
H4H2357S	2,30 x 10 ⁵	5,57 x 10 ⁻⁴	2,42 x 10 ⁻⁹	21	2,95 x 10 ⁵	2,10 x 10 ⁻³	7,12 x 10 ⁻⁹	6
H4H2364S	3,53 x 10 ⁵	3,67 x 10 ⁻⁵	1,04 x 10 ⁻¹⁰	315	3,38 x 10 ⁵	2,73 x 10 ⁻⁴	8,09 x 10 ⁻¹⁰	42
H1M2207N	5,61 x 10 ⁴	9,00 x 10 ⁻⁴	1,60 x 10 ⁻⁸	13	1,33 x 10 ⁵	1,44 x 10 ⁻³	1,08 x 10 ⁻⁸	8
H2aM2210N	6,73 x 10 ⁴	8,63 x 10 ⁻⁴	1,28 x 10 ⁻⁸	13	2,12 x 10 ⁵	3,35 x 10 ⁻³	1,58 x 10 ⁻⁸	3
H1M2212N	8,00 x 10 ⁵	1,58 x 10 ⁻⁴	1,97 x 10 ⁻¹⁰	73	1,02 x 10 ⁶	3,03 x 10 ⁻⁴	2,97 x 10 ⁻¹⁰	38
H2aM2234N	6,57 x 10 ⁵	7,11 x 10 ⁻⁴	1,08 x 10 ⁻⁹	16	7,93 x 10 ⁵	2,72 x 10 ⁻³	3,43 x 10 ⁻⁹	4
H1M2236N	7,60 x 10 ⁵	2,08 x 10 ⁻⁴	2,75 x 10 ⁻¹⁰	56	1,03 x 10 ⁶	5,50 x 10 ⁻⁴	5,32 x 10 ⁻¹⁰	21
H4H2236N3	9,22 x 10 ⁵	2,33 x 10 ⁻⁴	2,53 x 10 ⁻¹⁰	50	1,96 x 10 ⁶	7,48 x 10 ⁻⁴	3,82 x 10 ⁻¹⁰	15
H4H2243N2	2,67 x 10 ⁵	7,80 x 10 ⁻⁴	2,92 x 10 ⁻⁹	15	4,69 x 10 ⁵	2,44 x 10 ⁻³	5,20 x 10 ⁻⁹	5
H1M2243N	1,28 x 10 ⁵	2,61 x 10 ⁻⁴	2,04 x 10 ⁻⁹	44	1,37 x 10 ⁵	5,95 x 10 ⁻⁴	4,35 x 10 ⁻⁹	19

Tabla 4: Cinéticas de unión de MfGFRα3-mmH a diferentes anticuerpos anti-GFRα3 a 25 °C y a 37 °C

	25 °C				37 °C			
AbPID	k _a (1/Ms)	k _d (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (min)	k _a (1/Ms)	k _d (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (min)
H4H2291S	1,51 x 10 ⁵	2,79 x 10 ⁻⁴	1,85 x 10 ⁻⁹	41	3,57 x 10 ⁵	6,93 x 10 ⁻⁴	1,94 x 10 ⁻⁹	17
H4H2292S	7,76 x 10 ⁴	1,22 x 10 ⁻⁴	1,57 x 10 ⁻⁹	95	8,95 x 10 ⁴	1,95 x 10 ⁻⁴	2,18 x 10 ⁻⁹	59
H4H2293P	2,90 x 10 ⁵	4,17 x 10 ⁻⁵	1,44 x 10 ⁻¹⁰	277	4,41 x 10 ⁵	1,58 x 10 ⁻⁴	3,58 x 10 ⁻¹⁰	73
H4H2294S	3,25 x 10 ⁵	2,04 x 10 ⁻⁴	6,27 x 10 ⁻¹⁰	57	4,33 x 10 ⁵	9,74 x 10 ⁻⁴	2,25 x 10 ⁻⁹	12
H4H2295S	1,83 x 10 ⁵	9,73 x 10 ⁻⁴	5,32 x 10 ⁻⁹	12	2,76 x 10 ⁵	5,61 x 10 ⁻³	2,04 x 10 ⁻⁸	2
H4H2296S	1,93 x 10 ⁵	6,51 x 10 ⁻⁴	3,37 x 10 ⁻⁹	18	2,77 x 10 ⁵	2,85 x 10 ⁻³	1,03 x 10 ⁻⁸	4
H4H2341S	9,38 x 10 ⁴	1,30 x 10 ⁻⁴	1,39 x 10 ⁻⁹	89	1,44 x 10 ⁵	5,08 x 10 ⁻⁴	3,53 x 10 ⁻⁹	23
H4H2342P	9,37 x 10 ⁴	5,50 x 10 ⁻⁴	5,87 x 10 ⁻⁹	21	1,50 x 10 ⁵	1,66 x 10 ⁻³	1,11 x 10 ⁻⁸	7
H4H2344S	1,04 x 10 ⁵	1,15 x 10 ⁻⁴	1,10 x 10 ⁻⁹	101	1,61 x 10 ⁵	5,75 x 10 ⁻⁴	3,57 x 10 ⁻⁹	20
H4H2345S	9,75 x 10 ⁴	2,79 x 10 ⁻³	2,87 x 10 ⁻⁸	4	1,34 x 10 ⁵	3,53 x 10 ⁻³	2,63 x 10 ⁻⁸	3

ES 2 700 160 T3

	25 °C				37 °C			
AbPID	k _a (1/Ms)	k _d (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (min)	k _a (1/Ms)	k _d (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (min)
H4H2346S	1,08 x 10 ⁵	5,98 x 10 ⁻⁵	5,56 x 10 ⁻¹⁰	193	1,53 x 10 ⁵	5,11 x 10 ⁻⁴	3,34 x 10 ⁻⁹	23
H4H2350P	6,47 x 10 ⁴	1,11 x 10 ⁻⁴	1,71 x 10 ⁻⁹	104	7,48 x 10 ⁴	8,96 x 10 ⁻⁴	1,20 x 10 ⁻⁸	13
H4H2352S	3,45 x 10 ⁵	1,00 x 10 ⁻⁶	2,90 x 10 ⁻¹²	11.550	5,57 x 10 ⁵	6,53 x 10 ⁻⁵	1,17 x 10 ⁻¹⁰	177
H4H2354S	1,09 x 10 ⁵	6,23 x 10 ⁻⁵	5,74 x 10 ⁻¹⁰	185	1,57 x 10 ⁵	4,35 x 10 ⁻⁴	2,78 x 10 ⁻⁹	27
H4H2355S	1,05 x 10 ⁵	6,78 x 10 ⁻⁵	6,49 x 10 ⁻¹⁰	170	1,73 x 10 ⁵	9,13 x 10 ⁻⁴	5,29 x 10 ⁻⁹	13
H4H2357S	1,40 x 10 ⁵	3,15 x 10 ⁻⁴	2,26 x 10 ⁻⁹	37	1,72 x 10 ⁵	1,35 x 10 ⁻³	7,86 x 10 ⁻⁹	9
H4H2364S	1,22 x 10 ⁵	1,30 x 10 ⁻⁴	1,06 x 10 ⁻⁹	89	1,68 x 10 ⁵	8,61 x 10 ⁻⁴	5,14 x 10 ⁻⁹	13
H1M2207N	3,99 x 10 ⁴	3,88 x 10 ⁻³	9,72 x 10 ⁻⁸	3	4,58 x 10 ⁴	6,63 x 10 ⁻³	1,45 x 10 ⁻⁷	2
H2aM2210N	4,16 x 10 ⁴	1,20 x 10 ⁻³	2,89 x 10 ⁻⁸	10	8,09 x 10 ⁴	6,18 x 10 ⁻³	7,64 x 10 ⁻⁸	2
H1M2212N	3,84 x 10 ⁵	1,12 x 10 ⁻⁴	2,93 x 10 ⁻¹⁰	103	8,84 x 10 ⁵	2,60 x 10 ⁻⁴	2,94 x 10 ⁻¹⁰	44
H2aM2234N	4,27 x 10 ⁵	5,71 x 10 ⁻⁴	1,34 x 10 ⁻⁹	20	4,29 x 10 ⁵	2,11 x 10 ⁻³	4,91 x 10 ⁻⁹	5
H1M2236N	2,96 x 10 ⁵	2,86 x 10 ⁻⁴	9,70 x 10 ⁻¹⁰	40	4,34 x 10 ⁵	1,12 x 10 ⁻³	2,58 x 10 ⁻⁹	10
H1M2243N	6,46 x 10 ⁴	6,58 x 10 ⁻⁴	1,02 x 10 ⁻⁸	18	5,02 x 10 ⁴	2,75 x 10 ⁻³	5,47 x 10 ⁻⁸	4

Tabla 5: Cinéticas de unión de hGFRα3-hFc o hGFRα3-mFc a diferentes anticuerpos anti-GFRα3 a 25 °C y a 37 °C

	25 °C				37 °C			
AbPID	k _a (1/Ms)	k _d (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (min)	k _a (1/Ms)	k _d (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (min)
H4H2291S	1,03 x 10 ⁶	4,78 x 10 ⁻⁶	4,63 x 10 ⁻¹²	2.417	1,33 x 10 ⁶	3,84 x 10 ⁻⁵	2,89 x 10 ⁻¹¹	301
H4H2292S	5,34 x 10 ⁵	1,00 x 10 ⁻⁶	1,87 x 10 ⁻¹²	11.550	5,96 x 10 ⁵	2,57 x 10 ⁻⁵	4,32 x 10 ⁻¹¹	449
H4H2293P	1,22 x 10 ⁶	1,93 x 10 ⁻⁶	1,59 x 10 ⁻¹²	5.988	1,71 x 10 ⁶	5,13 x 10 ⁻⁵	2,99 x 10 ⁻¹¹	225
H4H2294S	1,22 x 10 ⁶	5,63 x 10 ⁻⁶	4,63 x 10 ⁻¹²	2.052	1,66 x 10 ⁶	3,46 x 10 ⁻⁵	2,09 x 10 ⁻¹¹	334
H4H2295S	1,08 x 10 ⁶	1,69 x 10 ⁻⁶	1,57 x 10 ⁻¹²	6.822	1,62 x 10 ⁶	4,88 x 10 ⁻⁵	3,01 x 10 ⁻¹¹	237
H4H2296S	1,24 x 10 ⁶	4,17 x 10 ⁻⁶	3,37 x 10 ⁻¹²	2.770	1,61 x 10 ⁶	4,74 x 10 ⁻⁵	2,94 x 10 ⁻¹¹	244
H4H2341S	5,96 x 10 ⁵	1,00 x 10 ⁻⁶	1,68 x 10 ⁻¹²	11.550	9,61 x 10 ⁵	7,58 x 10 ⁻⁵	7,89 x 10 ⁻¹¹	152
H4H2342P	6,61 x 10 ⁵	1,00 x 10 ⁻⁶	1,51 x 10 ⁻¹²	11.550	1,21 x 10 ⁶	4,28 x 10 ⁻⁵	3,54 x 10 ⁻¹¹	270
H4H2344S	5,79 x 10 ⁵	1,56 x 10 ⁻⁶	2,69 x 10 ⁻¹²	7.409	1,01 x 10 ⁶	8,96 x 10 ⁻⁵	8,91 x 10 ⁻¹¹	129
H4H2345S	5,16 x 10 ⁵	3,01 x 10 ⁻⁵	5,84 x 10 ⁻¹¹	384	7,00 x 10 ⁵	7,44 x 10 ⁻⁵	1,06 x 10 ⁻¹⁰	155
H4H2346S	6,47 x 10 ⁵	1,44 x 10 ⁻⁵	2,22 x 10 ⁻¹¹	803	1,75 x 10 ⁶	1,37 x 10 ⁻⁴	7,81 x 10 ⁻¹¹	84
H4H2350P	5,09 x 10 ⁵	2,12 x 10 ⁻⁵	4,16 x 10 ⁻¹¹	545	2,56 x 10 ⁶	1,26 x 10 ⁻⁴	4,92 x 10 ⁻¹¹	92
H4H2352S	2,14 x 10 ⁶	1,00 x 10 ⁻⁶	4,67 x 10 ⁻¹³	11.550	2,28 x 10 ⁶	3,00 x 10 ⁻⁵	1,32 x 10 ⁻¹¹	385
H4H2354S	5,80 x 10 ⁵	1,09 x 10 ⁻⁵	1,89 x 10 ⁻¹¹	1.056	1,02 x 10 ⁶	9,11 x 10 ⁻⁵	8,95 x 10 ⁻¹¹	127
H4H2355S	6,11 x 10 ⁵	1,00 x 10 ⁻⁶	1,64 x 10 ⁻¹²	11.550	1,10 x 10 ⁶	3,39 x 10 ⁻⁵	3,10 x 10 ⁻¹¹	341

AbPID	25 °C				37 °C			
	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	$t_{1/2}$ (min)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	$t_{1/2}$ (min)
H4H2357S	$7,79 \times 10^5$	$2,52 \times 10^{-5}$	$3,24 \times 10^{-11}$	458	$1,19 \times 10^6$	$9,40 \times 10^{-5}$	$7,93 \times 10^{-11}$	123
H4H2364S	$7,71 \times 10^5$	$1,00 \times 10^{-6}$	$1,30 \times 10^{-12}$	11.550	$1,26 \times 10^6$	$4,14 \times 10^{-5}$	$3,28 \times 10^{-11}$	279
H1M2207N*	$1,59 \times 10^5$	$2,60 \times 10^{-5}$	$1,63 \times 10^{-10}$	444	$2,03 \times 10^5$	$1,08 \times 10^{-4}$	$5,31 \times 10^{-10}$	107
H2aM2210N*	$1,68 \times 10^5$	$3,69 \times 10^{-5}$	$2,20 \times 10^{-10}$	313	$3,16 \times 10^5$	$7,66 \times 10^{-5}$	$2,42 \times 10^{-10}$	151
H1M2212N*	$1,12 \times 10^6$	$1,44 \times 10^{-5}$	$1,28 \times 10^{-11}$	800	$1,49 \times 10^6$	$6,17 \times 10^{-5}$	413×10^{-11}	187
H2aM2234N*	$9,50 \times 10^5$	$9,60 \times 10^{-5}$	$1,01 \times 10^{-10}$	120	$1,26 \times 10^6$	$1,46 \times 10^{-4}$	$1,16 \times 10^{-10}$	79
H1M2236N*	$1,28 \times 10^6$	$1,76 \times 10^{-5}$	$1,37 \times 10^{-11}$	658	$1,58 \times 10^6$	$9,65 \times 10^{-5}$	$6,10 \times 10^{-11}$	120
H1M2243N*	$1,34 \times 10^5$	$1,00 \times 10^{-6}$	$7,50 \times 10^{-12}$	11.550	$1,86 \times 10^5$	$2,18 \times 10^{-5}$	$1,17 \times 10^{-10}$	529
*Ensayado para determinar la unión a hGFR α 3-hFc, el resto de anticuerpos se ensayaron para determinar la unión a hGFR α 3-mFc								

Ejemplo 4. Bloqueo de la unión de GFR α 3 humano a ARTEMINA humana mediante anticuerpos anti-GFR α 3

La capacidad de los anticuerpos anti-GFR α 3 para bloquear la unión de GFR α 3 humano a la ARTEMINA humana en presencia o ausencia de correceptor RET humano se determinó usando dos formatos de ELISA de bloqueo diferentes.

En el primer formato, se recubrió la proteína ARTEMINA humana recombinante con un marcador myc-myc-hexahistidina C-terminal (hARTEMINA-mmH; SEQ ID: 369) a 2 ug/ml en placas de microtitulación de 96 pocillos en tampón PBS durante la noche a 4 °C y luego se bloqueó con una solución de BSA al 0,5 % (p/v). Se mezcló previamente una cantidad constante de GFR α 3 fusionada con un marcador de Fc humano C-terminal (hGFR α 3-hFc; SEQ ID: 371) a 120 pM con cantidades variables de anticuerpos, que variaban de 0 a ~10 nM en diluciones en serie, seguidas de una incubación de 1 hora a temperatura ambiente (TA) para permitir que la unión del anticuerpo-hGFR α 3-hFc alcanzara el equilibrio. Las soluciones de muestra equilibradas se transfirieron luego a la placa recubierta con hARTEMINA-mmH. Tras 1 hora de unión, la placa se lavó, luego se detectó el hGFR α 3-hFc unido usando anticuerpo específico de Fc anti-IgG humana conjugado con HRP (Jackson Immunochemical, n.º 109-035-098) y las señales colorimétricas se desarrollaron usando un sustrato TMB HRP (BD Biosciences, n.º 51-2606KC y n.º 51-2607KC). La absorbancia se registró a 450 nm en un lector de placas Victor X5 (Perkin Elmer) para determinar la cantidad de hGFR α 3-hFc de las soluciones de hGFR α 3-hFc-anticuerpo previamente equilibradas que era capaz de unirse a la placa recubierta con hARTEMINA-mmH. Los valores de Cl_{50} , definidos como la concentración de anticuerpo requerida para reducir la señal de una concentración constante de hGFR α 3-hFc en un 50 %, se calcularon a partir de los datos usando el software Prism de GraphPad. La absorbancia medida a la cantidad constante de 120 pM de hGFR α 3-hFc en ausencia de anticuerpo anti-GFR α 3 se define como un bloqueo del 0 % y la absorbancia sin hGFR α 3-hFc añadido se define como un bloqueo del 100 %. La absorbancia observada en los pocillos que contienen la mayor concentración de anticuerpos se usó para calcular el porcentaje de bloqueo máximo que se muestra en la tabla. Los resultados se resumen en la tabla 6.

En el segundo formato de ELISA, las placas, las muestras y los datos se procesaron de manera similar a los del primer formato, excepto que tanto hARTEMINA-mmH como RET humano con un marcador de histidina C-terminal 10 (hRET-10His; R&D Systems, n.º 1168-CR/CF) se recubrieron para el experimento de ELISA de bloqueo. Las placas de microtitulación de 96 pocillos se recubrieron con una mezcla de 1,2 ug/ml de hARTEMINA-mmH y 6,9 ug/ml de proteínas hRET-10His en PBS durante la noche a 4 °C y luego se bloquearon con una solución de BSA al 0,5 % (p/v). Se mezcló previamente una cantidad constante de GFR α 3 humano biotinilado con un marcador de myc-myc-hexahistidina C-terminal (biotina-hGFR α 3-mmH; SEQ ID: 370) a 1 nM con cantidades variadas de anticuerpos anti-GFR α 3, que variaban de 0 a ~100 nM en diluciones en serie, seguido de una incubación de 1 hora a TA para permitir que la unión de anticuerpo-biotina-hGFR α 3-mmH alcanzara el equilibrio. Las muestras equilibradas se transfirieron luego a la placa recubierta. Tras 1 hora de unión, la placa se lavó, luego se detectó la proteína de biotina-hGFR α 3-mmH unida usando estreptavidina conjugada con HRP (Pierce, n.º N200), y se desarrollaron señales colorimétricas usando sustratos de TMB HRP. Los valores de Cl_{50} y el bloqueo máximo por cada anticuerpo se muestran en la Tabla 6.

Como se muestra en la Tabla 6, 9 de los 23 anticuerpos anti-GFR α 3 bloquearon el 51-94 % de la unión de hGFR α 3-hFc a hARTEMINA-mmH recubierto con valores de Cl_{50} que variaban de 43,8 pM a 723 pM en el primer formato de ELISA. Ocho de los 23 anticuerpos anti-GFR α 3 hicieron que la señal de unión de hGFR α 3-hFc aumentara ("potenciador" en la Tabla 6) en muchas de las concentraciones de anticuerpos más ensayadas en el primer formato de ELISA. Seis de los 23 anticuerpos ensayados en el primer formato de ELISA no bloquearon ni aumentaron la señal

de unión de hGFR α 3-hFc a hARTEMINA-mmH recubierta. Tal como se muestra en la Tabla 6, para el segundo formato de ELISA, 17 de los 23 anticuerpos anti-GFR α 3 bloquearon el 75-100 % de la unión de biotina-hGFR α 3-mmH a hARTEMINA-mmH recubierto doblemente y hRET-10His con valores de Cl_{50} que variaban de 403 pM a 14,6 pM. También en el segundo formato de ELISA, cinco de los 23 anticuerpos anti-GFR α 3 hicieron que la señal de unión de biotina-hGFR α 3-mmH aumentara a menores concentraciones de anticuerpos, pero bloqueara el 28-95 % de la unión de biotina-hGFR α 3-mmH a hARTEMINA-mmH y hRET-10His A concentraciones de anticuerpo de 1 nM y superiores ("potenciador" en la Tabla 6). Un anticuerpo anti-GFR α 3 hizo que la señal de unión de biotina-hGFR α 3-mmH aumentara ("potenciador" en la Tabla 6) a concentraciones más altas de anticuerpo ensayadas, sin bloqueo a ninguna concentración, en el segundo formato de ELISA.

Tabla 6: Bloqueo de ELISA de GFR α 3 humano a ARTEMINA humana sola o ARTEMINA humana y RET humana

	Formato de ELISA 1: Ac que bloquea la unión de hGFRα3-hFc 120 pM a hARTEMINA-mmH recubierto		Formato de ELISA 2: Ac que bloquea la unión de biotina-hGFRα3-mmH 1 nM a hARTEMINA-mmH y hRET-10His recubiertos	
AbPID	Cl_{50} (M)	% de bloqueo máximo	Cl_{50} (M)	% de bloqueo máximo
H4H2207N	potenciador	NB	$7,30 \times 10^{-9}$	85
H4H2210N	potenciador	NB	potenciador	NB
H4H2212N	$4,38 \times 10^{-11}$	81	$4,03 \times 10^{-10}$	99
H4H2234N	$8,29 \times 10^{-11}$	70	$3,42 \times 10^{-9}$	97
H4H2236N3	potenciador	NB	potenciador	68
H4H2243N2	potenciador	NB	$1,12 \times 10^{-9}$	95
H4H2291S	NB	NB	potenciador	28
H4H2292S	$7,23 \times 10^{-10}$	89	$1,76 \times 10^{-9}$	100
H4H2293P	$2,60 \times 10^{-10}$	93	$7,38 \times 10^{-9}$	95
H4H2294S	NB	NB	$9,52 \times 10^{-10}$	95
H4H2295S	potenciador	NB	potenciador	44
H4H2296S	NB	NB	potenciador	91
H4H2341S	potenciador	NB	$1,62 \times 10^{-9}$	98
H4H2342P	potenciador	NB	$1,08 \times 10^{-9}$	97
H4H2344S	$1,33 \times 10^{-10}$	94	$4,59 \times 10^{-10}$	100
H4H2345S	potenciador	NB	$1,46 \times 10^{-8}$	75
H4H2346S	$9,78 \times 10^{-11}$	92	$7,97 \times 10^{-10}$	99
H4H2350P	$4,96 \times 10^{-10}$	93	$1,29 \times 10^{-9}$	91
H4H2352S	$6,58 \times 10^{-11}$	51	$7,61 \times 10^{-10}$	100
H4H2354S	$1,16 \times 10^{-10}$	92	$1,32 \times 10^{-9}$	97
H4H2355S	NB	NB	potenciador	95
H4H2357S	NB	NB	$3,28 \times 10^{-9}$	86
H4H2364S	NB	NB	$1,45 \times 10^{-9}$	100

NB = No Bloqueador

Ejemplo 5. Medición de la capacidad de los anticuerpos anti-GFR α 3 para bloquear la activación de GFR α 3 y RET por parte del ligando ARTEMINA *in vitro*

La capacidad de los anticuerpos anti-GFR α 3 para bloquear la activación de GFR α 3 y RET por su ligando ARTEMINA *in vitro* se determinó usando un ensayo basado en células. Se generaron células HEK293 modificadas para expresar de manera estable tanto el GFR α 3 humano (aminoácidos 1-400 del número de acceso NP_001487.2) como el RET humano (aminoácidos 1-1072 del número de acceso NP_065681) y luego se transdujeron con un indicador de luciferasa sensible a SRE. (SRE-luc; Sabiosciences, CCS-010L) (células HEK293/hGFR α 3/hRET).

Se sembraron veinte mil células HEK293/hGFR α 3/hRET/SRE-luc en placas de 96 pocillos recubiertos con Poly D-Lisina (Greiner, n.º 35-4620) en Optimem (GIBCO, n.º 31985) que contenía FBS al 0,5 % y luego se cultivaron durante la noche en CO₂ al 5 % a 37 °C. Las células se incubaron luego durante 1 hora a temperatura ambiente con diluciones en serie de anticuerpos anti-GFR α 3 que variaban de 5 pM a 300 nM. A continuación, se añadió una dosis constante (100 pM) de ARTEMINA humana expresada con un marcador de myc-myc-hexahistidina C-terminal (SEQ ID: 369) a las células y se incubaron durante 6 horas más. La actividad de la luciferasa se midió como unidades de luz relativas (ULR) en un luminómetro Víctor (Perkin Elmer) después de la adición del reactivo OneGlo (Promega, n.º E6051). Los valores de CE₅₀ y Cl₅₀ se calcularon a partir de una ecuación logística de cuatro parámetros sobre una curva de

respuesta de 12 puntos usando el software de análisis de datos GraphPad Prism.

Se analizaron veintitrés anticuerpos anti-GFR α 3 para determinar su capacidad para inhibir la activación dependiente de la ARTEMINA de las células HEK293/hGFR α 3/hRET/SRE-luc. Tal como se muestra en la Tabla 7, los 23 anticuerpos ensayados bloquearon la actividad de la luciferasa con valores de CI_{50} que variaban de 0,2 nM a 48,3 nM, y 19 de los 23 anticuerpos bloquearon hasta el valor de referencia a una concentración de 300 nM. Cuatro de los 23 anticuerpos (H4H2344S, H4H2345S, H4H2346S y H4H2354S-1) no bloquearon hasta el valor de referencia a ninguna de las concentraciones de anticuerpos ensayadas.

10 **Tabla 7:** Inhibición de la estimulación dependiente de la ARTEMINA de las células HEK293/hGFR α 3/hRET/SRE-luc por anticuerpos anti-GFR α 3

AbPID	CI_{50} (nM)
H4H2294S	0,27
H4H2342P	1,0
H4H2212N	0,80
H4H2292S	4,6
H4H2243N2	0,30
H4H2352S	0,92
H4H2207N	2,4
H4H2210N	2,9
H4H2234N	2,3
H4H2236N3	1,5
H4H2291S	1,3
H4H2293P	20
H4H2294S	1,7
H4H2295S	1,5
H4H2296S	1,4
H4H2341S	7,1
H4H2344S	48
H4H2345S	26
H4H2346S	26
H4H2354S	22
H4H2355S	2,3
H4H2357S	4,9
H4H2364S	2,3

Ejemplo 6. Inhibición de la hiperalgesia térmica de capsaicina sensibilizada con ARTEMINA

- 15 Para inducir la hiperalgesia térmica sensibilizada con artemina en ratones, se trató previamente cada ratón con una inyección intraplantar de 0,5 microgramos de ARTEMINA recombinante de ratón (R&D Systems, n.º 1085-AR) 24 horas antes de administrar una inyección intraplantar de 0,5 microgramos de capsaicina (una dosis subóptima) desde una solución 100 mM en DMSO (Sigma-Aldrich, n.º M-2028). La hiperalgesia térmica se evaluó mediante la prueba de Hargreaves, en la que se dirige un haz de luz hacia la pata inyectada hasta que el animal retira la pata. La latencia hasta la retirada se registra como una medida del comportamiento de la nocicepción. La hiperalgesia térmica se sensibiliza sistemáticamente a la ARTEMINA 3 días después de la administración de capsaicina basándose en una disminución significativa de las latencias de retirada de la pata. Para estos estudios, se midió un valor de referencia para la latencia hasta la retirada antes de la administración de la ARTEMINA o capsaicina, seguido de una segunda medición tres días después del tratamiento con capsaicina. El experimentador que realizó estos ensayos lo hizo con
- 20
- 25 ocultación del grupo de tratamiento de los animales.

- Para todos los experimentos que evaluaron la eficacia de los anticuerpos anti-GFR α 3 humanos en la hiperalgesia sensibilizada con ARTEMINA, se usaron ratones adultos homocigotos para la expresión de GFR α 3 humano en lugar de GFR α 3 de ratón ("GFR α 3" humanizado). Se usaron ratones machos y hembras en cada ensayo, con el sexo equilibrado entre los grupos de tratamiento (un total de 8 ratones por grupo de tratamiento o de control). Se determinó previamente que los ratones GFR α 3 humanizados tenían respuestas de latencia de hiperalgesia térmica de capsaicina inducida por ARTEMINA similares a las observadas en ratones de tipo silvestre.
- 30

En el modelo, se ensayaron seis anticuerpos anti-GFR α 3 (H4H2212N, H4H2243N2, H4H2292S, H4H2294S, H4H2342P y H4H2352S-1). Todos los anticuerpos se diluyeron en solución salina tamponada con fosfato (PBS) y se administraron por vía subcutánea a 25 mg/kg en un volumen de peso corporal de 1 ml/100 g 24 horas antes de la inyección de ARTEMINA en la pata trasera. En todos los experimentos, un grupo de animales recibió un anticuerpo de control de isotipo.

La sensibilidad al dolor para cada grupo de tratamiento o grupo de control se definió como el porcentaje de la latencia hasta la retirada de referencia (% LRP), calculado como el cambio fraccionario para la latencia hasta la retirada (LR) basada en el tiempo de cada animal tres días después del tratamiento con capsaicina en comparación con su latencia hasta la retirada de referencia sin tratamiento con capsaicina:

$$\% \text{ LRP} = [(LR_{(\text{capsaicina})} - LR_{(\text{sin capsaicina})}) / LR_{(\text{sin capsaicina})}] \times 100$$

Usando el % LRP, los valores negativos mayores indican una mayor hiperalgesia térmica.

La Tabla 8 muestra el resumen de las medias de los grupos (en negrita) y el error típico de las medias (en cursiva) para el porcentaje de latencia hasta la retirada de referencia (% LRP) en el modelo de hiperalgesia térmica de capsaicina sensibilizado con ARTEMINA evaluado tres días después de la inyección de capsaicina.

Tal como se muestra en la Tabla 8, los ratones tratados con anticuerpos anti-hGFR α 3 presentaron aumentos en el % de LRP (valores negativos o positivos menores) en comparación con los ratones tratados con el anticuerpo de control de isotipo. Cuatro anticuerpos, H4H2352S, H4H2243N2, H4H2294S y H4H2342P potenciaron la mayor resistencia a la hiperalgesia térmica en todos los experimentos realizados.

Tabla 8: Resumen de los datos del modelo de hiperalgesia térmica de capsaicina sensibilizada con ARTEMINA evaluada tres días después de la inyección de capsaicina.

AbPID	% LRP			
	Exp. 323	Exp. 361	Exp. 367	Exp. 380
Control de Isotipo	-17 ± 7,6	-32 ± 6,8	-40 ± 4,8	-35 ± 3,5
H4H2292S	0,72 ± 19	<i>nd</i>	<i>nd</i>	-26 ± 5,9
H4H2352S	27 ± 15	<i>nd</i>	-5,6 ± 9,4**	<i>nd</i>
H4H2243N2	20 ± 18	<i>nd</i>	<i>nd</i>	21 ± 6,4***
H4H2294S	<i>nd</i>	-9,0 ± 12	2,3 ± 12**	<i>nd</i>
H4H2342P	<i>nd</i>	-12 ± 9,3	18 ± 8,3***	<i>nd</i>
H4H2212N	<i>nd</i>	-22 ± 6,9	<i>nd</i>	<i>nd</i>

significativamente diferente del control de isotipo, ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ (nd = no ensayado en este experimento)

Ejemplo 7. Ensayo de anticuerpos anti-GFR α 3 para determinar la reactividad cruzada con GFR α 1 y GFR α 2

Se evaluó la capacidad de los anticuerpos anti-GFR α 3 para unirse a los receptores de la familia de GDNF usando un biosensor Octet Red (Fortebio, Inc.). Los anticuerpos se analizaron para determinar su unión a GFR α 1 humano expresado con una marcador de Fc humano C-terminal y un marcador de hexahistidina (hGFR α 1-hFc-6His, R&D Systems n.º 714-GR), GFR α 1 humano expresado con solo un marcador de Fc humano C-terminal (hGFR α 1-hFc; SEQ ID: 376), GFR α 2 humano expresado con una marcador de Fc humano C-terminal y un marcador de hexahistidina (hGFR α 2-hFc-6His, R&D Systems n.º 613-FR), GFR α 3 humano expresado con un marcador de Fc humano C-terminal (hGFR α 3-hFc, SEQ ID: 371), o una proteína marcada con Fc humano irrelevante. Los antígenos se capturaron en puntas de sensores anti-Fc humano a partir de soluciones a 10 ug/ml durante 5 minutos. Las puntas del sensor recubiertas se bloquearon con una solución a 100 ug/ml de anticuerpos de Fc humanos irrelevantes durante 5 minutos. Las puntas del sensor bloqueadas se sumergieron luego en pocillos que contenían 667 uM de cada anticuerpo anti-GFR α 3 o tampón solo durante 10 minutos. El experimento se realizó a 25 °C con un caudal de 1.000 rpm usando el tampón de HBST + BSA (HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, tensioactivo P20 al 0,05 % p/v, BSA a 0,1 mg/ml, pH 7,4). Se controló y registró la respuesta de unión (medida en unidades de nm) en cada etapa del experimento.

Los seis anticuerpos anti-GFR α 3 ensayados mostraron una unión por encima de 1,0 nm a la proteína hGFR α 3-hFc, pero no demostraron ninguna unión medible a los otros receptores de la familia de GDNF ni a la proteína marcada con Fc humano irrelevante, tal como se muestra en la Tabla 9.

Tabla 9. Reactividad de los anticuerpos anti-GFR α 3 con GFR α 1, GFR α 2 y GFR α 3

Antígeno	Nivel de captura (nm) +/- Desviación típica	100 ug/ml de H4H229 4S unido (nm)	100 ug/ml de H4H2342 P unido (nm)	100 ug/ml de H4H224 3N2 unido (nm)	100 ug/ml de H4H221 2N unido (nm)	100 ug/ml de H4H235 2S unido (nm)	100 ug/ml de H4H229 2S unido (nm)	Tampón
hGFR α 1-hFc	1,89 $\pm$ 0,14	0,04	0,06	0,03	0,00	0,02	0,05	-0,07
hGFR α 1-hFc-6his	1,66 $\pm$ 0,10	0,03	0,08	0,03	-0,01	0,03	0,03	-0,07
hGFR α 2-hFc-6his	1,49 $\pm$ 0,09	0,06	0,12	0,06	0,02	0,04	0,05	-0,06
hGFR α 3-hFc	1,68 $\pm$ 0,10	1,17	1,59	1,11	1,18	1,25	1,04	-0,09
Proteína marcada con hFc irrelevante	1,00 $\pm$ 0,06	0,03	0,07	0,03	0,00	0,03	0,02	-0,08

Ejemplo 8. Medición de la capacidad de los anticuerpos anti-GFR α 3 para bloquear la estimulación con ARTEMINA en un bioensayo de HEK293/MfGFR α 3/MfRet/SRE-Luc

Se determinó la capacidad de los anticuerpos anti-GFR α 3 para el bloqueo de la activación de GFR α 3 de macaco cangrejero y RET de macaco cangrejero por su ligando ARTEMINA *in vitro* usando un ensayo basado en células. Se generaron células HEK293 modificadas para expresar de manera estable tanto el GFR α 3 de mono cangrejero (MfGFR α 3; SEQ ID: 377) como RET de mono cangrejero (MfRET; SEQ ID: 378) y luego se transdujeron con un indicador de SRE Signal Lenti (SA Biosciences, n.º CLS- 010L) que expresaba el gen de luciferasa de luciérnaga bajo el control de un promotor mínimo de CMV y repeticiones en tándem del elemento de respuesta sérica para generar la estirpe celular HEK293/MfGFR α 3/MfRet/SRE-Luc.

Para el bioensayo, se sembraron 20.000 células HEK293/MfGFR α 3/MfRet/SRE-Luc en placas de 96 pocillos recubiertas con Poly D-Lisina (Greiner, n.º 35-4620) en Optimem (GIBCO, n.º 31985) que contenía FBS al 0,5 % y luego se cultivaron durante la noche en CO₂ al 5 % a 37 °C. Las células se incubaron luego durante 1 hora con diluciones en serie de anticuerpos anti-GFR α 3 que variaban de 5 pM a 300 nM. Se añadió una dosis constante (500 pM) de ARTEMINA humana expresada con un marcador de myc-myc-hexahistidina C-terminal (ARTEMINA humana-MMH; SEQ ID: 369) a las células y se incubaron durante 6 horas más. Para determinar el valor de CE₅₀ de ARTEMINA humana-MMH a partir de las curvas de respuesta a la dosis, se añadieron diluciones en serie de ARTEMINA humana-MMH de 0,5 pM a 10 nM a las células sin anticuerpos y se incubaron durante 6 horas a 37 °C. La actividad de la luciferasa se midió como unidades de luz relativas (ULR) en un luminómetro Victor (Perkin Elmer) tras la adición del reactivo OneGlo (Promega, n.º E6051). Los valores de CE₅₀ e CI₅₀ se calcularon a partir de una ecuación logística de cuatro parámetros sobre una curva de respuesta de 12 puntos usando el software de análisis de datos GraphPad Prism.

Se analizaron seis anticuerpos anti-GFR α 3 para determinar su capacidad para inhibir la activación dependiente de la ARTEMINA de las células HEK293/MfGFR α 3/MfRET/SRE-luc. Tal como se muestra en la Tabla 10, los seis anticuerpos ensayados bloquearon completamente la actividad de la luciferasa con valores de CI₅₀ que variaban de 0,7 nM a 2,5 nM. ARTEMINA humana-MMH estimuló la actividad de la luciferasa dependiente de SRE en la estirpe celular HEK293/mfGFR α 3/mfRet/SRE-LUC con un valor de CE₅₀ de 70 pM.

Tabla 10: Inhibición de la estimulación dependiente de la ARTEMINA de las células HEK293/MfGFR α 3/MfRET/SRE-luc por anticuerpos anti-GFR α 3

Anticuerpo	CI ₅₀ (nM)
H4H2294S	0,7
H4H2342P	2,5
H4H2212N	1,8
H4H2292S	1,5
H4H2243N2	0,8
H4H2352S	1,3

Ejemplo 9. Generación de un anticuerpo anti-GFR α 3 biespecífico

Se generan diversos anticuerpos biespecíficos para su uso en la práctica de los métodos descritos en el presente documento. Por ejemplo, se generan anticuerpos específicos de GFR α 3 en un formato biespecífico (un "biespecífico") en el que las regiones variables que se unen a distintos epítomos en GFR α 3 se unen entre sí para conferir especificidad de epítopo doble dentro de una sola molécula de unión. Los biespecíficos adecuadamente diseñados pueden mejorar la eficacia global del bloqueo de GFR α 3 al aumentar tanto la especificidad de GFR α 3 como la avidéz de unión. Las regiones variables con especificidad hacia diferentes epítomos individuales dentro de cualquiera de las tres repeticiones de cisteína o que pueden unirse a diferentes regiones dentro de un epítopo de cualquiera de las tres repeticiones de cisteína se emparejan en un armazón estructural que permite que cada región variable se una simultáneamente a los epítomos separados o a regiones diferentes dentro de un epítopo. En un ejemplo para regiones variables de cadena pesada (V_H) biespecíficas de un aglutinante con especificidad por un epítopo dentro de una repetición de cisteína, se recombinan con las regiones variables de cadena ligera (V_L) de una serie de aglutinantes que tienen especificidad por un segundo epítopo dentro de cualquiera de las otras dos repeticiones de cisteína para identificar parejas de V_L no afines que puedan emparejarse con una V_H original sin interrumpir la especificidad original de esa V_H . De esta manera, un solo segmento V_L (por ejemplo, V_{L1}) se puede combinar con dos dominios de V_H diferentes (por ejemplo, V_{H1} y V_{H2}) para generar un biespecífico compuesto por dos "brazos" de unión (V_{H1} - V_{L1} y V_{H2} - V_{L1}). El uso de un solo segmento de V_L reduce la complejidad del sistema y, por lo tanto, simplifica y aumenta la eficacia en los procesos de clonación, expresión y purificación usados para generar el biespecífico (véase, por ejemplo, documentos USSN13/022759 y US2010/0331527).

Como alternativa, los anticuerpos que se unen tanto a GFR α 3 como a una segunda diana, tales como, pero sin limitación, por ejemplo, RET pueden prepararse en un formato biespecífico usando técnicas descritas en el presente documento, u otras técnicas conocidas por los expertos en la materia. Las regiones variables del anticuerpo que se unen a distintas regiones de GFR α 3 que están expuestas extracelularmente se unen entre sí con regiones variables que se unen a sitios relevantes de, por ejemplo, el ligando, la artemina, otros receptores de GFR α , o RET, para conferir especificidad por el antígeno doble dentro de una sola molécula de unión. Las regiones variables con especificidad por epítomos individuales de GFR α 3, se combinan con una región variable con especificidad por, por ejemplo, la artemina y se emparejan en un armazón estructural que permite que cada región variable se una a los antígenos separados.

Los aglutinantes biespecíficos se ensayan para determinar la unión y el bloqueo funcional de los antígenos diana, por ejemplo, GFR α 3 y/o la artemina, otros receptores de GFR α , o RET, en cualquiera de los ensayos descritos anteriormente para los anticuerpos. Por ejemplo, se usan métodos convencionales para medir la unión de proteínas solubles para evaluar la interacción biespecífica con su/s antígeno/s, tales como BIAcore, ELISA, cromatografía de exclusión molecular, dispersión de luz láser de múltiples ángulos, calorimetría de barrido directo y otros métodos. La unión de anticuerpos biespecíficos a células que expresan TFG α 3 se determina mediante citometría de flujo usando un anticuerpo secundario marcado con fluorescencia que reconoce el antígeno diana en las células. Los experimentos de unión con péptidos también pueden llevarse a cabo usando experimentos de resonancia de plasmón superficial, en los que la interacción de unión del péptido al anticuerpo en tiempo real se mide haciendo fluir un péptido o biespecífico a través de una superficie del sensor en la que el biespecífico o péptido, respectivamente, se capturan. El bloqueo funcional *in vitro* del receptor de GFR α 3 por un biespecífico se determina usando cualquier bioensayo tal como el que se describe en el presente documento, o mediante la determinación *in vivo* de la reacción al dolor en modelos animales apropiados, tal como los descritos en el presente documento. El bloqueo funcional *in vitro* de GFR α 3 o su ligando, la artemina, por un biespecífico se determina usando cualquier ensayo biológico tal como el descrito en el documento WO2010/077854, o en el documento US2010/0166768, o mediante la determinación *in vivo* de hipersensibilidad a los estímulos térmicos en modelos animales apropiados, tal como los descritos en el presente documento.

Ejemplo 10. Afinidades de unión derivadas de la resonancia de plasmón superficial y constantes cinéticas de anticuerpos monoclonales anti-GFR α 3 de ratón

Las constantes de velocidad asociativa y disociativa de unión (k_a y k_d , respectivamente), y las constantes de disociación de equilibrio y las semividas disociativas (K_D y $t_{1/2}$, respectivamente) calculadas para la unión del antígeno a los anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón se determinaron usando un ensayo de biosensor de resonancia de plasmón superficial en tiempo real (Biacore 3000) a 25 °C. Los anticuerpos se ensayaron para determinar la unión al GFR α 3 de ratón expresado con un marcador de myc-myc-hexahistidina (mGFR α 3-MMH; SEQ ID: 379.). Los anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón se capturaron en una superficie de un anticuerpo policlonal de cabra anti-IgG de ratón (GE Healthcare, n.º BR-1008-38) creada mediante acoplamiento directo de amina a un chip sensor Biacore CM5. Los experimentos cinéticos se llevaron a cabo usando HBS-EP (HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, tensioactivo P20 al 0,05 %, a pH 7,4) como tampón de procesamiento y tampón de muestra. La unión a GFR α 3-MMH de ratón se evaluó mediante la inyección de varias concentraciones que variaban de 100 nM a 6,25 nM (diluciones con factor de dilución de 2) a través de la superficie del anticuerpo capturado. La asociación de anticuerpo-antígeno se controló durante hasta 5 minutos, mientras que la disociación en el tampón se controló durante hasta 10 minutos. Las constantes de velocidad de asociación (k_a) y disociación (k_d) cinéticas se determinaron procesando y ajustando los datos a un modelo de unión 1:1 usando el programa informático de ajuste de curvas Scrubber 2.0c. Las constantes en equilibrio de disociación de

unión (K_D) y las semividas disociativas ($t_{1/2}$) se calcularon a partir de las constantes de velocidad cinéticas como: $K_D (M) = k_d / k_a$ y $t_{1/2} (min) = [ln2/(60 \cdot k_d)]$.

Tal como se muestra en la Tabla 11, los dos anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón ensayados, M1M6986N y M1M6977N, se unieron a mGFR α 3-MMH a 25 °C con valores de K_D de 23,1 pM y 107 pM, respectivamente.

Tabla 11: Cinéticas de unión de mGFR α 3-MMH a diferentes anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón a 25 °C

AbPID	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	$t_{1/2}$ (min)
M1M6986N	$1,02 \times 10^6$	$2,35 \times 10^{-5}$	$2,31 \times 10^{-11}$	491
M1M6977N	$3,84 \times 10^5$	$4,1 \times 10^{-5}$	$1,07 \times 10^{-10}$	282

Ejemplo 11. ELISA de bloqueo de GFR α 3 de ratón

La capacidad de los anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón para bloquear la unión de GFR α 3 de ratón a la ARTEMINA de ratón en presencia o ausencia de correceptor RET de ratón se determinó usando dos formatos de ELISA de bloqueo diferentes. En el primer formato, se recubrió proteína ARTEMINA (R&D cat n.º 1085-AR/CF) de ratón recombinante a 2 ug/ml (166 nM) en placas de microtitulación de 96 pocillos en tampón PBS durante la noche a 4 °C y luego se bloqueó con una solución de BSA al 0,5 % (p/v). Se mezcló previamente una cantidad constante (3,5 nM) de GFR α 3 de ratón biotinilado con un marcador de myc-myc-hexahistidina C-terminal (biotina-hGFR α 3-MMH, SEQ ID: 379) con cantidades variadas de anticuerpos, que variaban de 100 nM a 1,6 pM en diluciones en serie, seguidas de una incubación de 1 hora a temperatura ambiente (TA) para permitir que la unión del anticuerpo-biotina-mGFR α 3-MMH alcanzara el equilibrio. Las soluciones de muestra equilibradas se transfirieron luego a la placa recubierta con mARTEMINA. Tras 1 hora de unión, la placa se lavó, luego se detectó la proteína de biotina-mGFR α 3-MMH unida usando estreptavidina-HRP (Pierce, n.º N200), y se desarrollaron señales colorimétricas usando sustratos de TMB HRP (BD Biosciences, n.º 51-2606KC y n.º 51-2607KC). La absorbancia se registró a 450 nm en un lector de placas Victor X5 (Perkin Elmer) para determinar la cantidad de biotina-mGFR α 3-MMH libre de las soluciones de biotina-mGFR α 3-MMH-anticuerpo previamente equilibradas que era capaz de unirse a la placa recubierta con mARTEMINA. Los valores de Cl_{50} , definidos como la concentración de anticuerpo requerida para reducir la señal de una concentración constante de biotina-mGFR α 3-MMH en un 50 %, se calcularon a partir de los datos usando el software Prism de GraphPad. La absorbancia medida a la cantidad constante de biotina-mGFR α 3-MMH en ausencia de anticuerpo anti-GFR α 3 de ratón se define como un bloqueo del 0 % y la absorbancia sin biotina-mGFR α 3-MMH añadido se define como un bloqueo del 100 %. La absorbancia observada en los pocillos que contienen la mayor concentración de anticuerpos se usó para calcular el porcentaje de bloqueo máximo que se muestra en la tabla. Los resultados se resumen en la tabla 12.

En el segundo formato de ELISA, las placas, las muestras y los datos se procesaron de manera similar a la del primer formato, excepto tanto RET de ratón expresado con hFc C-terminal como los marcadores de hexahistidina (mRET-hFc-6His; R&D cat n.º 482-RT/CF) y mARTEMINA (R&D cat n.º 1085-AR/CF) se recubrieron para el experimento de ELISA de bloqueo. Las placas de microtitulación de 96 pocillos se recubrieron con una mezcla de 1,2 ug/ml (100 nM) de mARTEMINA y 9,5 ug/ml de proteínas mRET-hFc-6His (100 nM) en PBS durante la noche a 4 °C y luego se bloquearon con una solución de BSA al 0,5 % (p/v). Se mezcló previamente una cantidad constante (350 pM) de biotina-mGFR α 3-MMH con cantidades variadas de anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón, que variaban de 100 nM a 1,6 pM en diluciones en serie, seguido de una incubación de 1 hora a TA para permitir que la unión de anticuerpo-biotina-mGFR α 3-MMH alcanzara el equilibrio. Las muestras equilibradas se transfirieron luego a la placa recubierta. Tras 1 hora de unión, la placa se lavó, luego se detectó la proteína de biotina-mGFR α 3-MMH unida usando estreptavidina conjugada con HRP y se desarrollaron señales colorimétricas usando sustratos de TMB HRP. Los valores de Cl_{50} y el bloqueo máximo por cada anticuerpo se muestran en la Tabla 12.

Tal como se muestra en la Tabla 12, solo un anticuerpo anti-GFR α 3 de ratón ensayado, M1M6986N, demostró la capacidad de bloquear la unión de biotina-mGFR α 3-MMH a la placa recubierta con mARTEMINA con un valor de Cl_{50} de 69,1 pM. El otro anticuerpo anti-GFR α 3 de ratón ensayado, M1M6977N, no demostró ningún bloqueo medible en este formato de ELISA. Ambos anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón ensayados, M1M6986N y M1M6977N, demostraron la capacidad de bloquear completamente la unión de biotina-mGFR α 3-MMH a las placas recubiertas con mARTEMINA y mRET-hFc-6His, con una Cl_{50} de 47,2 pM y 366 pM, respectivamente.

Tabla 12: Bloqueo de ELISA de GFR α 3 de ratón a ARTEMINA de ratón sola o ARTEMINA de ratón y RET de ratón

AbPID	Formato de ELISA 1: Anticuerpo que bloquea la unión de biotina-mGFR α 3-MMH 3,5 nM a mARTEMINA recubierta		Formato de ELISA 2: Anticuerpo que bloquea la unión de biotina-mGFR α 3-MMH 350 pM a mARTEMINA y mRET-hFc-6His recubiertas	
	Cl_{50} (M)	% de bloqueo máximo	Cl_{50} (M)	% de bloqueo máximo
M1M6986N	$6,91 \times 10^{-11}$	100 %	$4,72 \times 10^{-11}$	100 %
M1M6977N	NB		$3,66 \times 10^{-10}$	100 %
NB = No Bloqueador				

Ejemplo 12. Bioensayo de luciferasa basado en células

La capacidad de los anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón para bloquear la activación de GFR α 3 de ratón y RET de ratón por su ligando ARTEMINA de ratón *in vitro* se determinó usando un ensayo basado en células. Se generaron células HEK293 modificadas para expresar de manera estable tanto el GFR α 3 de ratón (aminoácidos 1-397 del número de acceso AAH66202.1) como el RET de ratón (aminoácidos 1-1115 del número de acceso NP_033076.2) y luego se transdujeron con un indicador de luciferasa sensible a SRE. (SRE-luc; Sabiosciences, CCS-010L) (células 293/mGFR α 3/mRET/SRE-luc).

Se sembraron veinte mil células 293/mGFR α 3/mRET/SRE-luc en placas de 96 pocillos recubiertos con Poly D-Lisina (Greiner, n.º 35-4620) en Optimem (GIBCO, n.º 31985) que contenía FBS al 0,5 % y luego se cultivaron durante la noche en CO₂ al 5 % a 37 °C. Las células se incubaron luego durante 1 hora a temperatura ambiente con diluciones en serie de anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón que variaban de 3 nM a 44 nM. A continuación, se añadió una dosis constante (100 pM) de ARTEMINA de ratón (R&D, n.º 1085-AR/CF) a las células y se incubó durante 6 horas más. La actividad de la luciferasa se midió como unidades de luz relativas (ULR) en un luminómetro Victor (Perkin Elmer) después de la adición del reactivo OneGlo (Promega, n.º E6051). Los valores de CE₅₀ e CI₅₀ se calcularon a partir de una ecuación logística de cuatro parámetros sobre una curva de respuesta de 12 puntos usando el software de análisis de datos GraphPad Prism.

Tal como se muestra en la Tabla 13, ambos anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón ensayados, M1M6986N y M1M6977N demostraron la capacidad de inhibir la estimulación dependiente de la ARTEMINA de ratón de células 293/mGFR α 3/mRET/SRE-luc con valores de CI₅₀ de aproximadamente 44 nM y 3 nM, respectivamente.

Tabla 13: Inhibición de la estimulación dependiente de la ARTEMINA de las células 293/mGFR α 3/mRET/SRE-luc por anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón

Anticuerpo	CI ₅₀ (nM)
M1M6986N	44 ± 3 (n = 2)
M1M6977N	3 ± 1 (n = 3)

Ejemplos 13, 14 y 15: Efecto de los anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón en modelos animales de dolor de cáncer de huesos y dolor artrósico

Los anticuerpos descritos en el presente documento son anticuerpos humanos de alta afinidad contra el receptor alfa unido a GPI para la artemina, GFR α 3. Dado que estos anticuerpos contra GFR α 3 humano no reaccionan de forma cruzada con GFR α 3 de ratón, los ensayos *in vivo* con estos anticuerpos solo se puede realizar en ratones alterados genéticamente para reemplazar la secuencia de GFR α 3 de ratón con la de GFR α 3 humano. Los primeros experimentos *in vivo* en estos ratones GFR α 3^{hu/hu} usando inhibición farmacológica de capsaicina sensibilizada con artemina reveló la eficacia de cuatro anticuerpos humanos en este ensayo *in vivo*. Para acelerar la generación de datos de eficacia, se generaron anticuerpos GFR α 3 de ratón para servir como sustitutos de los anticuerpos humanos. Se inmunizaron ratones de una cepa C57BL6/129Sv mixta que eran homocigotos para la eliminación del gen GFR α 3 endógeno con el dominio extracelular de GFR α 3 de ratón recombinante expresado en células de ovario de hámster chino. Se confirmó una respuesta inmune específica hacia GFR α 3 mediante inmunoensayos de suero de ratones inmunizados. Se recogieron los bazos de ratones que mostraban una respuesta inmune específica alta y se generaron células de hibridoma productoras de anticuerpos mediante la fusión de los esplenocitos aislados con células de mieloma de ratón siguiendo procedimientos de hibridoma convencionales. Se examinaron los sobrenadantes de hibridoma además en inmunoensayos para determinar la unión a GFR α 3 y su capacidad para bloquear la unión de GFR α 3 a artemina o a artemina/Ret recubiertas sobre una superficie sólida en un formato de inmunoensayo. Los sobrenadantes también se examinaron para determinar su capacidad para bloquear la estimulación con artemina de la vía del correceptor GFR α 3/Ret en un ensayo biológico basado en células. Se obtuvieron secuencias de anticuerpos de región variable mediante amplificación por PCR de clones de hibridoma seleccionados cuyas proteínas de anticuerpo mostraron un bloqueo potente en el ensayo basado en células, y estas secuencias se usaron para producir anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón recombinantes de longitud completa con un isotipo de IgG1 de ratón. Se seleccionaron dos anticuerpos para los ensayos *in vivo* que inhibieron potentemente la señalización de la artemina en el ensayo basado en células. En el inmunoensayo de unión *in vitro*, el anticuerpo M1M6986N bloqueó la unión de GFR α 3 tanto a artemina como a artemina/Ret recubiertas en una superficie sólida, y se denomina en el presente documento bloqueador directo. El anticuerpo M1M6977N bloqueó la unión de GFR α 3 a artemina/Ret recubierta, pero no a la artemina sola en el inmunoensayo *in vitro* y se denomina en el presente documento bloqueador indirecto. Estos dos anticuerpos de ratón, M1M6986N y M1M6977N, se seleccionaron para ensayarlos en el modelo de analgesia térmica de capsaicina sensibilizada con artemina (descrito en el Ejemplo 6), ya que estos dos anticuerpos demostraron perfiles de unión y de bloqueo similares a los anticuerpos humanos eficaces. Estos dos anticuerpos se seleccionaron por su capacidad para bloquear la sensibilización inducida por la artemina de la hiperalgesia *in vivo* en ratones de tipo silvestre. Al igual que sus homólogos de anticuerpos humanos, ambos anticuerpos inhibieron significativamente el efecto sensibilizador de la artemina sobre la hiperalgesia térmica con capsaicina tres días después de la inyección de capsaicina (Figura 1).

Ejemplo 13: Modelo de fibrosarcoma de la metodología del dolor del cáncer de huesos**Sujetos**

- 5 Se usaron ratones macho adultos en una cepa de fondo C57Bl6 para dos experimentos de fibrosarcoma a aproximadamente 12 semanas de vida. Los experimentadores que midieron los datos de resultados para este experimento tuvieron ocultación del grupo de tratamiento de los animales durante la recogida, compilación y análisis de los datos.

10 Modelo de cáncer de huesos

- Para inducir el dolor por cáncer de huesos, los ratones se anestesiaron y luego se inyectaron por vía intrafemoral $1,0 \times 10^6$ células de fibrosarcoma MC57G. Estas células se derivan de una estirpe de tumor de fibrosarcoma de ratón C57Bl/6. Los tumores suelen crecer agresivamente en este modelo, de modo que la destrucción ósea es evidente 14 días después de la implantación del tumor. Las radiografías se tomaron los días 7, 10 y 14 después de la implantación para verificar el crecimiento del tumor y la destrucción ósea. La destrucción ósea se calificó en una escala de tres puntos, de manera que 0 representaba ninguna destrucción y 3 representaba la destrucción completa del fémur en la región del tumor.

20 Tratamiento con anticuerpos

- Cada animal recibió 30 mg/kg de inyecciones de anticuerpos sc administrados el día anterior a la implantación de las células cancerosas y, de nuevo, en el día 7. Los animales fueron asignados pseudo-aleatoriamente a uno de dos o tres grupos de tratamiento: 1) Anticuerpo de control de isotipo M2M180N (negativo) en dos experimentos separados; 2) anticuerpo anti-GFR α 3 de ratón M1M6977N en dos experimentos separados; o 3) anticuerpo anti-GFR α 3 de ratón M1M6986N en el segundo experimento solamente. M1M6986 bloquea la interacción de la artemina con GFR α 3 y, por lo tanto, se considera un bloqueador "directo" de la acción de la artemina. Por el contrario, M1M6977N inhibe la acción de la artemina a través del complejo GFR α 3/RET y, por lo tanto, se considera un inhibidor "indirecto".

30 Medidas de la nocicepción

- Las respuestas nociceptivas al tumor óseo se midieron usando la prueba de von Frey Hair para determinar la alodinia mecánica (táctil) generada, la prueba de soporte dinámico de peso (DWB) para determinar la disposición a soportar peso en una extremidad y el comportamiento de vigilancia. Los resultados de la prueba de Von Frey se expresan en gramos de presión requeridos para la retirada de la pata. Los resultados de soporte de peso se expresan como el porcentaje de peso corporal colocado en la extremidad ipsilateral. El comportamiento de vigilancia se expresa como el tiempo empleado en proteger la extremidad durante un período de dos minutos.

Resultados**40 Destrucción ósea**

- No hubo un efecto significativo del tratamiento con anticuerpos en la puntuación de destrucción ósea en ninguno de los dos experimentos, lo que sugirió que el tratamiento con anticuerpos no tuvo impacto en la gravedad del cáncer de huesos en sí (no se muestran los datos).

Comportamiento nociceptivo

- Hubo una disminución estadísticamente significativa en la alodinia táctil con el tratamiento con el anticuerpo GFR α 3 tras la inyección de fibrosarcoma en el primer experimento ($F(1,20) = 9,189$, $p = 0,007$, Figura 2A) y una tendencia estadística hacia la eficacia global en el segundo experimento ($F(2,29) = 3,069$, $p < 0,062$, Figura 2B), con comparaciones individuales que, en ocasiones, alcanzan significación en el segundo estudio (Figura 2B).

- No hubo un efecto estadísticamente significativo de los anticuerpos GFR α 3 sobre el peso dinámico soportado por la extremidad ipsilateral medido 14 días después de la implantación del hueso con células de fibrosarcoma en cualquiera de los experimentos, aunque el primer experimento reveló una tendencia estadística hacia la eficacia con el tratamiento con M1M6977N ($t(10) = 2,047$, $P = 0,068$, Figura 3A; $F(2,28) = 1,598$, $p = 0,220$, Figura 3B).

- Los anticuerpos de GFR α 3 redujeron significativamente la vigilancia de la extremidad después de la implantación del cáncer de hueso en ambos experimentos de fibrosarcoma ($F(1,20) = 12,270$, $p = 0,002$, Figura 4A; $F(2,29) = 3,576$, $p = 0,041$, Figura 4B).

Conclusión

- 65 El tratamiento con anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón redujo significativamente los comportamientos nociceptivos en este modelo de dolor por cáncer de hueso medido por la evaluación de la vigilancia y la prueba de von Frey de la

alodinia táctil. Además, hubo una tendencia estadística hacia la eficacia del anticuerpo M1M6977N en el diferencial de soporte de peso en un experimento. Las puntuaciones de destrucción ósea no fueron diferentes en los grupos que recibieron anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón, lo que sugiere que las diferencias en las medidas relacionadas con el dolor no se deben a las diferencias en la gravedad del cáncer. Por lo tanto, los presentes datos sugieren que los anticuerpos neutralizantes contra GFR α 3 podrían ser eficaces contra el dolor del cáncer de huesos. Debido a que las células de sarcoma suelen ser más a menudo tumores primarios que las metástasis en los huesos, y debido a que la mayoría de los cánceres de hueso se derivan de las metástasis de tumores primarios de otros sitios, estos anticuerpos también se ensayaron en un modelo de dolor por cáncer de huesos inducido por carcinoma de mama (mamario). Los tumores de mama y de próstata se encuentran entre los tumores más comúnmente forman metástasis en los huesos.

Ejemplo 14: Modelo de carcinoma de mama de la metodología del dolor del cáncer de huesos

Sujetos

Se usaron ratones macho adultos de una cepa de fondo Balb/c para un experimento de cáncer de huesos de carcinoma de mama de aproximadamente 12 semanas de vida. Los experimentadores que midieron los datos de resultados para este experimento tuvieron ocultación del grupo de tratamiento de los animales durante la recogida, compilación y análisis de los datos.

Modelo de cáncer de huesos

Para inducir el dolor por cáncer de huesos, los ratones se anestesiaron y luego se inyectaron por vía intrafemoral 10.000 células de carcinoma de mama 4T-1. Estas células se derivan de una estirpe de tumor de carcinoma de mama de ratón Balb/c. Los tumores suelen crecer agresivamente en este modelo, de modo que los tumores son graves 18 días después de la implantación. Las radiografías se tomaron los días 10, 14 y 19 después de la implantación para verificar el crecimiento del tumor y la destrucción ósea. La destrucción ósea se calificó en una escala de tres puntos, de manera que 0 representaba ninguna destrucción y 3 representaba la destrucción completa del fémur en la región del tumor.

Tratamiento con anticuerpos

Cada animal recibió 30 mg/kg de inyecciones de anticuerpos sc administrados el día anterior a la implantación de las células cancerosas y, después, dos veces a la semana. Los animales fueron asignados pseudo-aleatoriamente a uno de tres grupos de tratamiento: 1) anticuerpo de control de isotipo M2M180N (negativo); 2) anticuerpo anti-GFR α 3 de ratón M1M6977N; o 3) anticuerpo anti-GFR α 3 de ratón M1M6986N. M1M6986N bloquea la interacción de la artemina con GFR α 3 y, por lo tanto, se considera un bloqueador "directo" de la acción de la artemina. Por el contrario, M1M6977N inhibe la acción de la artemina a través del complejo GFR α 3/RET y, por lo tanto, se considera un inhibidor "indirecto".

Medidas de la nocicepción

Las respuestas nociceptivas al tumor óseo se midieron usando la prueba de von Frey Hair para determinar la alodinia mecánica (táctil) generada, la prueba de soporte dinámico de peso (DWB) para determinar la disposición a soportar peso en una extremidad y el comportamiento de vigilancia. Los resultados de la prueba de Von Frey se expresan en gramos de presión requeridos para la retirada de la pata. Los resultados de soporte de peso se expresan como el porcentaje de peso corporal colocado en la extremidad ipsilateral. El comportamiento de vigilancia se expresa como el tiempo empleado en proteger la extremidad durante un período de dos minutos.

Resultados

Destrucción ósea

No hubo un efecto significativo del tratamiento con anticuerpos en la puntuación de destrucción ósea en este modelo, lo que sugiere que el tratamiento con anticuerpos no tuvo impacto en la gravedad del cáncer de huesos en sí.

Comportamiento nociceptivo

Hubo una disminución estadísticamente significativa en la alodinia táctil con el tratamiento con el anticuerpo GFR α 3 tras el carcinoma ($F(2,25) = 8,626$, $p = 0,001$, Figura 5).

No hubo efectos globales estadísticamente significativos de los anticuerpos GFR α 3 en el peso dinámico sobre la extremidad ipsilateral, aunque el efecto global del tratamiento logró una tendencia estadística y M1M6977N logró una eficacia significativa en la comparación post hoc a los 11 días (A), pero no a los 18 días (B), después de la implantación del hueso con células de carcinoma (11 día $F(2,25) = 2,939$, $p = 0,071$, Figura 6A; Día 18 $F(2,25) = 0,149$, $p = 0,862$, Figura 6B).

Los anticuerpos GFR α 3 redujeron significativamente la vigilancia de la extremidad después de la implantación del cáncer de hueso en este experimento ($F(2,25) = 4,222, p = 0,026$, Figura 7).

Conclusión

El tratamiento con anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón redujo significativamente los comportamientos nociceptivos en este modelo de dolor por cáncer de hueso medido por la evaluación de la vigilancia y la prueba de von Frey de la alodinia táctil. Además, hubo evidencias de eficacia del anticuerpo REGN1967 en el diferencial de soporte de peso en un punto de tiempo. Las puntuaciones de destrucción ósea no fueron diferentes en los grupos que recibieron anticuerpos anti-GFR α 3 de ratón, lo que sugiere que las diferencias en las medidas relacionadas con el dolor no se deben a las diferencias en la gravedad del cáncer. Por lo tanto, los presentes datos sugieren que los anticuerpos neutralizantes contra GFR α 3 podrían ser eficaces contra el dolor del cáncer de huesos en este modelo de dolor por cáncer de huesos metastásico.

Ejemplo 15. Desestabilización del modelo de menisco medial (DMM) de la metodología del dolor artrósico

Sujetos

Se usaron ratones macho adultos en una cepa de fondo C57Bl6 para los experimentos de DMM partiendo a aproximadamente 12 semanas de vida. Los experimentadores que midieron los datos de resultados para este experimento tuvieron ocultación del grupo de tratamiento de los animales durante la recogida, compilación y análisis de los datos.

Modelo de DMM

En el modelo de DMM, se desestabiliza el menisco medial de una rodilla y se deja que el animal desarrolle la enfermedad durante 16 semanas. Durante el período de 16 semanas, los animales desarrollan alodinia táctil y aumentos del volumen óseo y en el contenido mineral del hueso en la rodilla lesionada que se asemeja a la artrosis humana precoz. La alodinia táctil se verificó en los animales mediante el ensayo de von Frey 16 semanas antes del inicio del tratamiento con anticuerpos.

Tratamiento con anticuerpos

Cada animal recibió 30 mg/kg de inyecciones de anticuerpo sc administradas semanalmente a partir de las 16 semanas posteriores a la cirugía de DMM. Los animales fueron asignados pseudo-aleatoriamente a uno de tres grupos de tratamiento: 1) anticuerpo de control de isotipo M2M180N (negativo); 2) anticuerpo anti-GFR α 3 de ratón M1M6977N; o 3) anticuerpo anti-GFR α 3 de ratón M1M6986N. M1M6986N bloquea la interacción de la artemina con GFR α 3 y, por lo tanto, se considera un bloqueador "directo" de la acción de la artemina. Por el contrario, M1M6977N inhibe la acción de la artemina a través del complejo GFR α 3/RET y, por lo tanto, se considera un inhibidor "indirecto".

Medidas de la nocicepción

Las respuestas nociceptivas a la patología de rodilla se midieron usando la prueba de von Frey Hair para determinar la alodinia mecánica (táctil) generada.

Resultados

Comportamiento nociceptivo

Hubo una disminución estadísticamente significativa en la alodinia táctil con el tratamiento con el anticuerpo GFR α 3 tras la DMM ($F(2, 27)=21,68, p = 0,0001$, Figura 8).

Conclusión

El tratamiento con anticuerpos GFR α 3 de ratón tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre la alodinia táctil, de manera que los grupos tratados con los dos anticuerpos GFR α 3 mostraron sistemáticamente menos alodinia que el control de isotipos que comenzó 14 días después del inicio del tratamiento semanal. Estos datos sugieren la posibilidad de que los anticuerpos GFR α 3 sean eficaces contra el dolor artrósico humano crónico.

Ejemplo 16. Análisis de competitividad cruzada de anticuerpos anti-GFR α 3

Se realizó un ensayo de competitividad cruzada para evaluar la capacidad de los anticuerpos seleccionados para competir entre sí por la unión a GFR α 3 humano usando un biosensor Octet RED384 (Fortebio Inc.). El experimento completo se realizó a 25 °C con un caudal de 1000 rpm en el tampón Octet HBST (HEPES 0,01 M, pH 7,4, NaCl 0,15 M, EDTA 3 mM, tensioactivo P20 al 0,05 % v/v, BSA a 0,1 mg/ml). Para evaluar si 2 anticuerpos eran capaces de competir entre sí por la unión a sus respectivos epítomos en GFR α 3 humano recombinante biotinilado expresado

con un marcador de myc-myc-hexahistidina C-terminal (biotina-hGFR α 3-mmH; SEQ ID: 370), se capturaron aproximadamente ~1,2 nm de biotina-hGFR α 3-mmH primero en las puntas de los sensores Octet recubiertas con estreptavidina (Fortebio Inc, n.º 18-5019) sumergiendo las puntas durante 1 minuto en una solución a 10 µg/ml de biotina-hGFR α 3-mmH. Se dispusieron las puntas del sensor recubiertas con antígeno en pocillos que contenían una solución a 25 µg/ml de un primer anticuerpo monoclonal anti-GFR α 3 durante 4 minutos para saturar la superficie de biotina-hGFR α 3-mmH. Las puntas del sensor se sumergieron posteriormente en pocillos que contenían una solución a 25 µg/ml de un segundo anticuerpo monoclonal anti-GFR α 3. Las puntas de los sensores se lavaron en tampón Octet HBST entre cada etapa del experimento. La respuesta de unión en tiempo real se controló durante el transcurso del experimento y la respuesta de unión al final de cada etapa se registró como se muestra en la Figura 9. Se comparó la respuesta de unión del anticuerpo monoclonal 2 a biotina-hGFR α 3-mmH previamente complejada con el primer anticuerpo y se determinó el comportamiento competitivo/no competitivo de diferentes anticuerpos monoclonales anti-GFR α 3.

Tal como se muestra en la Figura 9, los cuadros de color gris oscuro con una fuente negra representan una respuesta de unión para la auto-competencia. Los anticuerpos que compiten en ambas direcciones, independientemente del orden de unión, se representan con cuadros negros y fuentes blancas. Ninguna competencia entre anticuerpos que sugieran un epítipo de unión distinto se representa como un cuadro blanco con una fuente negra.

Nueve anticuerpos (H4H2236N3, H4H2342P, H4H2295S, H4H2294S, H4H2291S, H4H2357S, H4H2355S, H4H2296S y H4H2243N2) compiten bidireccionalmente entre sí por la unión a biotina-hGFR α 3-mmH. Ocho de los 9 (H4H2236N3, H4H2342P, H4H2295S, H4H2294S, H4H2291S, H4H2357S, H4H2355S y H4H2296S) no compiten con ningún otro anticuerpo anti-GFR α 3 ensayado, mientras que H4H2243N2 también compite bidireccionalmente con dos anticuerpos anti-GFR α 3 adicionales ensayados (H4H2212N y H4H2352S). H4H2212N y H4H2352S compiten bidireccionalmente entre sí y con H4H2243N2 por la unión a biotina-hGFR α 3-mmH, pero, mientras que H4H2212N no compite con ningún otro anticuerpo anti-GFR α 3 ensayado, H4H2352S también compite bidireccionalmente con un anticuerpo anti-GFR α 3 adicional ensayado (H4H2292S). Un anticuerpo anti-GFR α 3 ensayado, H4H2350P, no compite con ninguno de los anticuerpos anti-GFR α 3 ensayados por la unión a biotina-hGFR α 3-mmH.

Listado de secuencias de 8300A-WO

<110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.

<120> Anticuerpos humanos contra GFR-alfa-3 y métodos de uso de los mismos

<130> 8300A-WO

<140> Por asignar

<141> Presentado en el presente documento

< 150> 61/692.029

<151> 22/08/2012

<160> 411

<170> FastSEQ para Windows Versión 4.0

<210> 1

<211> 360

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 1

```
gaagtgcagc  tgggtggagtc  tggggggaggc  ttggtacagc  ctggcaggtc  cctgagactc  60
tcctgtgcag  cctctggatt  cacctttaat  gattatgcc  tgactgggt  ccggcaagct  120
ccagggaagg  gcctggagtg  ggtctcaggt  attagttgga  atagtggtaa  cataggctat  180
gcggaactctg  tgaagggccg  attcaccatc  tccagagaca  acgccaagaa  ctccctgtat  240
ctacagatga  acagtctgag  agctgaggac  acggccttgt  atttctgtgc  aagagatacc  300
cgtatggcaa  ctcgctccctt  tgactactgg  ggccagggaa  ccctgggtcac  cgtctcctca  360
```

<210> 2

<211> 120

ES 2 700 160 T3

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 2

```

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

```

```

          100          105          110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
      115          120

```

<210> 3
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 3
ggattcacct ttaatgatta tgcc 24

<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 4

```

Gly Phe Thr Phe Asn Asp Tyr Ala
 1      5

```

<210> 5
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 5
attagttgga atagtggtaa cata 24

<210> 6

ES 2 700 160 T3

```

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

5  <220>
    <223> Sintético

    <400> 6

                Ile Ser Trp Asn Ser Gly Asn Ile
                1             5

10  <210> 7
    <211> 39
    <212> ADN
    <213> Secuencia artificial

    <220>
    <223> Sintético

20  <400> 7
    gcaagagata cccgatggc aactcgtccc ttgactac    39

    <210> 8
    <211> 13
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

    <220>
    <223> Sintético

30  <400> 8

                Ala Arg Asp Thr Arg Met Ala Thr Arg Pro Phe Asp Tyr
                1             5             10

35  <210> 9
    <211> 318
    <212> ADN
    <213> Secuencia artificial

40  <220>
    <223> Sintético

    <400> 9

    gacatccaga tgacccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
    atcacttgcc gggccagtc gagtattagt aggtggttg cctggtatca gcagaagcca 120
    gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180
    aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
    gatgattttg caagttatta ctgccaacag tataatagtt attcaacttt tggccagggg 300
    accaagctgg agatcaaa                                318

45

    <210> 10
    <211> 106
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

    <220>
    <223> Sintético

55  <400> 10

```

ES 2 700 160 T3

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

<210> 11

<211> 18

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

10

<400> 11

cagagtatta gtagtggtg 18

<210> 12

15 <211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Sintético

<400> 12

Gln Ser Ile Ser Arg Trp

1

5

25

<210> 13

<211> 9

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Sintético

<400> 13

35 aagcgctct 9

<210> 14

<211> 3

<212> PRT

40 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

45 <400> 14
Lys Ala Ser

1

50 <210> 15

<211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Sintético

<400> 15
 caacagtata atagttattc aact 24

10

<210> 16
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Sintético

20

<400> 16
 Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Thr
 1 5

25

<210> 17
 <211> 360
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> Sintético

<400> 17
 gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccagggt 120
 ccaggggaag ggctggagtg ggtctcaggt attagtggta gtgggtggcag cacatacaac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ttgcaaatac acagcctgag agccgaggac acggccggtat attactgtgc gaaagattct 300
 gggacactact ggtactactt tgactactgg ggccagggaa tcctgggtcac cgtctcctca 360

35

<210> 18
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223> Sintético

<400> 18

ES 2 700 160 T3

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

<210> 19
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 19
 ggattcacct ttagcagcta tgcc 24

<210> 20
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 20

Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	Ala
1				5			

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

<220>
 <223> Sintético

<400> 21
 attagtggta gtggtggcag caca 24

<210> 22
 <211> 8

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 22

ES 2 700 160 T3

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
1 5

5
<210> 23
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10
<220>
<223> Sintético

<400> 23
gcgaaagatt ctgggaccta ctgtactac ttgactac 39

15
<210> 24
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20
<220>
<223> Sintético

<400> 24

Ala Lys Asp Ser Gly Thr Tyr Trp Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

25
<210> 25
<211> 339
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30
<220>
<223> Sintético

35
<400> 25

gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggetgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
atcaactgca agtccagcca gaatatatta tacagctccg acaataagaa ctacttagct 120
tggtaccaga agaaaccagg acagcctcct aagctgctca ttactgggc atctacccga 180
gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
atcatcagcc tgcaggctga agatgtggca ttatattact gtcataata ttatactact 300
cctccgacgt tcggccaagg gaccaaagtg gaaatcaaa 339

40
<210> 26
<211> 113
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45
<220>
<223> Sintético

<400> 26

ES 2 700 160 T3

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

<210> 27

<211> 36

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

10

<400> 27

cagaatattt tatacagctc cgacaataag aactac 36

<210> 28

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Sintético

20

<400> 28

Gln Asn Ile Leu Tyr Ser Ser Asp Asn Lys Asn Tyr
 1 5 10

25

<210> 29

<211> 9

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Sintético

<400> 29

tgggcatct 9

35

<210> 30

<211> 3

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Sintético

45

<400> 30

Trp Ala Ser
 1

ES 2 700 160 T3

5 <210> 31
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético

 10 <400> 31
 catcaatatt atactactcc tccgacg 27

 15 <210> 32
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Sintético

 <400> 32

 His Gln Tyr Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
 1 5

 25 <210> 33
 <211> 369
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 30 <220>
 <223> Sintético

 <400> 33

 gaggtgcagt tattggagtc tggggggaac ttggtacagc cggggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agttatgcc a tgacctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaact attagtggta gtggtaccag cacatattac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagggaca attccaggga cacggtgttt 240
 ctacaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgttc gaaaccttct 300
 gcattacgat ttttacattg gttagctatg gacgtctggg gccaagggac cctggtcacc 360
 gtctcctca 369

 35

 40 <210> 34
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintético

 45 <400> 34

ES 2 700 160 T3

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

<210> 35
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 35
 ggattcacct ttagcagta tgcc 24

<210> 36
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 36

Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	Ala
1				5			

<210> 37
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 37
 attagtggta gtgtaccag caca 24

<210> 38
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 38

ES 2 700 160 T3

Ile Ser Gly Ser Gly Thr Ser Thr
1 5

5
<210> 39
<211> 48
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10
<220>
<223> Sintético

<400> 39
tcgaaacctt ctgcattacg atttttacat tggtagcta tggacgtc 48

15
<210> 40
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20
<220>
<223> Sintético

<400> 40

Ser Lys Pro Ser Ala Leu Arg Phe Leu His Trp Leu Ala Met Asp Val
1 5 10 15

25
<210> 41
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30
<220>
<223> Sintético

35
<400> 41

gacatccaga	tgacccagtc	tccatcctca	ctgtctgcat	ttgtaggaga	cagagtcacc	60
atcacttgtc	gggcgagtc	ggacattagg	aattatttag	actggtttca	gcagaaacca	120
gggaaagccc	ctaagtcctt	gatctatgct	gcatccaatt	tgcaaagtgg	gggtcccatca	180
aggttcggcg	gcagtggatc	tgggacagat	ttcactctca	ccatcaacag	cctgcagcct	240
gaagattttg	taacttatta	ctgccagcag	tataattcct	accctccac	tttcggcgga	300
gggaccaagg	tggagatcaa	a				321

40
<210> 42
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45
<220>
<223> Sintético

<400> 42

ES 2 700 160 T3

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

<210> 43
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 43
 caggacatta ggaattat 18

<210> 44
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 44

Gln	Asp	Ile	Arg	Asn	Tyr
1				5	

<210> 45
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 45
 gctgcatcc 9

<210> 46
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 46
 Ala Ala Ser

1

<210> 47

ES 2 700 160 T3

<211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Sintético

<400> 47
 cagcagtata attcttacc tccact 27

10

<210> 48
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Sintético

20

<400> 48
 Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro Thr
 1 5

25

<210> 49
 <211> 372
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> Sintético

<400> 49
 cagggttcaac tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctgggta cacctttacc agctatggta tcatctgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgggt acaatggtaa cacaaactat 180
 gcacagaatc tccagggcag agtcaccatg accacagaca cttccacgac cacagcctac 240
 atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagatgggggt 300
 atagcaactc gtcctacta ctactacgggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360
 accgtctcct ca 372

35

<210> 50
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223> Sintético

<400> 50

ES 2 700 160 T3

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

<210> 51
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 51
 ggttacacct ttaccagcta tgggt 24

<210> 52
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 52

Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr	Gly
1				5			

<210> 53
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 53
 atcagcgggt acaatggtaa caca 24

<210> 54
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 54

ES 2 700 160 T3

Ile Ser Gly Tyr Asn Gly Asn Thr
1 5

5
<210> 55
<211> 51
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10
<220>
<223> Sintético

<400> 55
gcgagatggg gtagcaac tcgtccctac tactactacg gtagggacgt c 51

15
<210> 56
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20
<220>
<223> Sintético

<400> 56

Ala Arg Trp Gly Ile Ala Thr Arg Pro Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15
Val

25
<210> 57
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30
<220>
<223> Sintético

<400> 57

35
gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgct gggcgagtca ggacattacc aattatttag cctggtttca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtcctt gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactcttca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt accctcccac tttcggccct 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

40
<210> 58
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

45
<400> 58

ES 2 700 160 T3

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

<210> 59
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 59
 caggacatta ccaattat 18

<210> 60
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 60

Gln	Asp	Ile	Thr	Asn	Tyr
1				5	

<210> 61
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 61
 gctgcatcc 9

<210> 62
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 62

Ala	Ala	Ser
1		

ES 2 700 160 T3

```

5      <210> 63
      <211> 27
      <212> ADN
      <213> Secuencia artificial

      <220>
      <223> Sintético

10     <400> 63
      caacagtata atagttaccc tcccact    27

      <210> 64
      <211> 9
      <212> PRT
15     <213> Secuencia artificial

      <220>
      <223> Sintético

20     <400> 64

          Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro Thr
          1          5

25     <210> 65
      <211> 363
      <212> ADN
      <213> Secuencia artificial

      <220>
30     <223> Sintético

      <400> 65

      gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc cggggggggtc cctgagagtc 60
      tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc acctctgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
      ccaggggaagg ggcttgagtg ggtctcaggt attagtggta ttggaggtgg tagcacatac 180
      tacgcagact ccgtgaaggg ccggttcacc atctccagag acaattccaa gaacacgctg 240
      tatctgcaaa tgaacagcct gagagccgag gacacggccg tatattttctg tgcgaaattt 300
      tataagtgga attcatatat ttttgatctc tgggggccagg ggacaatggt caccgtctct 360
      tca                                     363

35     <210> 66
      <211> 121
      <212> PRT
      <213> Secuencia artificial

40     <220>
      <223> Sintético

      <400> 66

45

```

ES 2 700 160 T3

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

<210> 67
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 67
 ggattcacct ttagcacctc tgcc 24

<210> 68
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 68

Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Thr	Ser	Ala
1				5			

<210> 69
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 69
 attagtggta ttggaggtgg tagcaca 27

<210> 70
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 70

ES 2 700 160 T3

```

Ile Ser Gly Ile Gly Gly Gly Ser Thr
  1               5

<210> 71
<211> 39
5 <212> ADN
  <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético
10

<400> 71
  gcgaaatttt ataagtgga tcatatatt ttgatctc   39

<210> 72
<211> 13
15 <212> PRT
  <213> Secuencia artificial

<220>
20 <223> Sintético

<400> 72

Ala Lys Phe Tyr Lys Trp Asn Ser Tyr Ile Phe Asp Leu
  1               5               10

25 <210> 73
  <211> 321
  <212> ADN
  <213> Secuencia artificial
30

<220>
<223> Sintético

<400> 73
35
  gaaatttgtgt tgacgcagtc tccagacacc ctatctttgt ctccagggga aagagccacc 60
  ctctcctgca gggccagtc gagtgtagt agcagctact ttgcctggta ccagcagaag 120
  cctggccagg ctcccaggt cctcatgtat agtgcattca gcagggccac tggcatccca 180
  gacagggtca gtggcagtg gtctgggaca gacttctctc tcaccatcag cagattggag 240
  cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagtatggta ggtcactcac tttcggcgga 300
  gggaccaagg tggagatcaa g                               321

<210> 74
<211> 107
40 <212> PRT
  <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético
45

<400> 74

```

ES 2 700 160 T3

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

<210> 75

<211> 21

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 75

cagagtgtta gtagcagcta c 21

<210> 76

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 76

Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Ser	Tyr
1				5		

<210> 77

<211> 9

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 77

agtgcatcc 9

<210> 78

<211> 3

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 78

Ser	Ala	Ser
1		

ES 2 700 160 T3

<210> 79
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 79
 10 cagcagtatg gtaggtcact cact 24
 <210> 80
 <211> 8
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 20 <400> 80
 Gln Gln Tyr Gly Arg Ser Leu Thr
 1 5
 <210> 81
 25 <211> 360
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Sintético
 <400> 81
 gaggtgcagc tgttgaggatc tgggggaggc ttggtacagt ctgggggggtc actgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cagctttaac aactatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcattt attagtggta gtggtggtag tacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa tacgctgtat 240
 ctgcaaataga acagcctgag agtcgaggac acggccggtt tttactgtgc gaaagacaga 300
 tacaactatg gtaccttctt tgactactgg ggccagggaa ccctgggtcac cgtctcctca 360
 35
 <210> 82
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 82
 45

ES 2 700 160 T3

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

<210> 83
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 83
 ggattcagct ttaacaacta tgcc 24

<210> 84
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 84

Gly	Phe	Ser	Phe	Asn	Asn	Tyr	Ala
1				5			

<210> 85
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 85
 attagtggta gtggtgtag taca 24

<210> 86
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 86

ES 2 700 160 T3

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
1 5

5
<210> 87
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10
<220>
<223> Sintético

<400> 87
gcgaaagaca gatacaacta tggtagcttc ttgactac 39

15
<210> 88
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20
<220>
<223> Sintético

<400> 88

Ala Lys Asp Arg Tyr Asn Tyr Gly Thr Phe Phe Asp Tyr
1 5 10

25
<210> 89
<211> 339
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30
<220>
<223> Sintético

<400> 89

35
gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcca gagggccacc 60
atcaactgca aatccagcca gagtggttta tacagctcca acaataagaa ctacttaact 120
tggtagcagc agaaaccagg acagcctcct aaattgctca ttactgggc atctaccggg 180
gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatagtact 300
cctccgacgt tcggcctagg gaccaagggtg gaaatcaaa 339

40
<210> 90
<211> 113
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45
<220>
<223> Sintético

<400> 90

ES 2 700 160 T3

```

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

```

<210> 91
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 91
 cagagtgttt tatacagctc caacaataag aactac 36

<210> 92
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 92

```

Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr
1      5      10

```

<210> 93
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 93
 tgggcatct 9

<210> 94

<211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 94

ES 2 700 160 T3

Trp Ala Ser
1

5 <210> 95
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 95
cagcaatatt atagtactcc tccgacg 27

15 <210> 96
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 96

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Pro Thr
1 5

25 <210> 97
<211> 372
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 97

gaagtgcagc	tggtggagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctggggagtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctctggatt	cacctttagc	aactatgcca	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccaggggaagg	ggctggagtg	ggtctcagtt	attagtggta	gtggtggtag	cacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatg	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcaaataga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaacccccg	300
agtagagcag	ctcgatactt	caactacggt	atggacgtct	ggggccaagg	gaccacggtc	360
accgtctcct	ca					372

40 <210> 98
<211> 124
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 98

ES 2 700 160 T3

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

<210> 99
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 99
 ggattcacct ttagcaacta tgcc 24

<210> 100
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 100

Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asn	Tyr	Ala
1				5			

<210> 101
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 101
 attagtggta gtggtgtag caca 24

<210> 102
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 102

ES 2 700 160 T3

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
1 5

5
<210> 103
<211> 51
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10
<220>
<223> Sintético

<400> 103
gcgaaacccc cgagtagagc agctcgatac ttcaactacg gtagggacgt c 51

15
<210> 104
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20
<220>
<223> Sintético

<400> 104

Ala Lys Pro Pro Ser Arg Ala Ala Arg Tyr Phe Asn Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15
Val

25
<210> 105
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30
<220>
<223> Sintético

<400> 105

35
gccatccgga tgacccagtc cccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca ggggtattag agctggtag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgttcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

40
<210> 106
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45
<220>
<223> Sintético

<400> 106

ES 2 700 160 T3

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

<210> 107

<211> 18

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 107

cagggtatta gcagctgg 18

<210> 108

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 108

Gln Gly Ile Ser Ser Trp

1

5

<210> 109

<211> 9

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 109

gctgcatcc 9

<210> 110

<211> 3

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 110

Ala Ala Ser

1

ES 2 700 160 T3

<210> 111
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 111
 10 caacaggcta acagtttccc gttcact 27
 <210> 112
 <211> 9
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 20 <400> 112
 Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Phe Thr
 1 5
 <210> 113
 25 <211> 363
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Sintético
 <400> 113
 gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggagggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccgggcaagg ggctggagtg ggtgtcattt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatac acagcctgac agccgaggac acggctgtat attattgtgc gagaagaggt 300
 atcctaactg gaactaccgc ttttgatatc tggggccaag ggacaatggt caccgtctct 360
 tca 363
 35 <210> 114
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Sintético
 <400> 114
 45

ES 2 700 160 T3

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

<210> 115
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 115
 ggattcacct tcagtagcta tggc 24

<210> 116
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 116

Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	Gly
1				5			

<210> 117
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 117
 atatggtatg atggaagtaa taaa 24

<210> 118
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 118

ES 2 700 160 T3

Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5

5
<210> 119
<211> 42
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10
<220>
<223> Sintético

<400> 119
gcgagaagag gtatcctaac tggaactacc gcttttgata tc 42

15
<210> 120
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20
<220>
<223> Sintético

<400> 120

Ala Arg Arg Gly Ile Leu Thr Gly Thr Thr Ala Phe Asp Ile
1 5 10

25
<210> 121
<211> 321

30
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

35
<400> 121

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agttatttga attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
agggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatccggag tctgatacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag acttacaata cccattcac tttcggccct 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

40
<210> 122
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

45
<400> 122

ES 2 700 160 T3

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

<210> 123
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 123
 cagagcatta gcagttat 18

<210> 124
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 124

Gln	Ser	Ile	Ser	Ser	Tyr
1				5	

<210> 125
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 125
 gctgcatcc 9

<210> 126
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 126

Ala	Ala	Ser
1		

ES 2 700 160 T3

<210> 127
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 127
 10 caacagactt acaatacccc attcact 27
 <210> 128
 <211> 9
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 20 <400> 128
 Gln Gln Thr Tyr Asn Thr Pro Phe Thr
 1 5
 25
 <210> 129
 <211> 363
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 129
 35
 caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt cagtttcagt gactatgtca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcatct atatggtttg atggaagtaa tgaactctat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240
 ctgcaaatac acagtctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaaaaggga 300
 gttttggtag ctacctctgc ttttcatatc tggggccaag ggacaatggt caccgtctct 360
 tca 363
 <210> 130
 <211> 121
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 45
 <400> 130

ES 2 700 160 T3

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

<210> 131

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 131

ggattcagtt tcagtgacta tgct 24

<210> 132

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 132

Gly	Phe	Ser	Phe	Ser	Asp	Tyr	Val
1				5			

<210> 133

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 133

atatggttg atggaagtaa tgaa 24

<210> 134

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 134

ES 2 700 160 T3

Ile Trp Phe Asp Gly Ser Asn Glu
1 5

5
<210> 135
<211> 42
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10
<220>
<223> Sintético

<400> 135
gcgaaaaagg gagtttggg agctacctct gctttcata tc 42

15
<210> 136
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20
<220>
<223> Sintético

<400> 136

Ala Lys Lys Gly Val Leu Val Ala Thr Ser Ala Phe His Ile

25 1 5 10

<210> 137
<211> 324
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30
<220>
<223> Sintético

<400> 137

35
gccatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gaacattaac aactatttaa attggtatca tcagaaacca 120
gggaaagccc ctaatctcct aatttatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat tacactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg gaaattacta ctgtcaacag agttacagca cttccatgta cacttttggc 300
caggggacca agctggagat caaa 324

40
<210> 138
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 138

ES 2 700 160 T3

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

<210> 139

<211> 18

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Sintético

<400> 139

cagaacatta acaactat 18

<210> 140

15 <211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Sintético

<400> 140

Gln Asn Ile Asn Asn Tyr

1

5

25

<210> 141

<211> 9

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Sintético

<400> 141

35 gctgcatcc 9

<210> 142

<211> 3

<212> PRT

40 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

45 <400> 142

Ala Ala Ser

1

ES 2 700 160 T3

<210> 143
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 143
 10 caacagagtt acagcacttc catgtacact 30
 <210> 144
 <211> 10
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 20 <400> 144
 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Ser Met Tyr Thr
 1 5 10
 <210> 145
 25 <211> 372
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Sintético
 <400> 145
 gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggct cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagtt attagtggta gtggaggtag cacatactac 180
 gcagacgccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagca cacgctgtat 240
 ctgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtac gaaaccctca 300
 tcttatagca gttcgaactt ctattatggg atggacgtct ggggccaagg gtccacggctc 360
 accgtctcct ca 372
 35
 <210> 146
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 146
 45

ES 2 700 160 T3

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

<210> 147

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 147

ggattcacct ttagcagcta tgcc 24

<210> 148

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 148

Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	Ala
1				5			

<210> 149

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 149

attagtggta gtggaggtag caca 24

<210> 150

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 150

ES 2 700 160 T3

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
1 5

5
<210> 151
<211> 51
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10
<220>
<223> Sintético

<400> 151
acgaaaccct catcttatag cagttcgaac ttctattatg gtatggacgt c 51

15
<210> 152
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20
<220>
<223> Sintético

<400> 152

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

25
<210> 153
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30
<220>
<223> Sintético

35
<400> 153

gacatccagt	tgacccagtc	tccatcttcc	gtgtctgcat	ctgtaggaga	cagagtcacc	60
atcacttgtc	gggcgagtca	gggtatttagc	agctgggtag	cctgggtatca	gcagaaacca	120
gggaaagccc	ctaagctcct	gatctatgct	gcatccagtt	tgcaaagtgg	gggtcccatca	180
aggttcagcg	gcagtggatc	tgggacagat	ttcactctca	ccatcagcag	cctgcagcct	240
gaagattttg	caacttacta	ttgtcagcag	actaacagtt	tcccattccc	tttcgggcct	300
gggaccaaag	tggatatcaa	a				321

40
<210> 154
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45
<220>
<223> Sintético

<400> 154

ES 2 700 160 T3

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

<210> 155
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 155
 cagggtatta gcagctgg 18

<210> 156
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 156

Gln	Gly	Ile	Ser	Ser	Trp
1				5	

<210> 157
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 157
 gctgcatcc 9

<210> 158

<211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 158

Ala	Ala	Ser
1		

ES 2 700 160 T3

```

5    <210> 159
    <211> 27
    <212> ADN
    <213> Secuencia artificial

    <220>
    <223> Sintético

10   <400> 159
    cagcagacta acagtttccc attccct    27

    <210> 160
    <211> 9
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

    <220>
    <223> Sintético

20   <400> 160

                                Gln Gln Thr Asn Ser Phe Pro Phe Pro
                                1          5

25   <210> 161
    <211> 372
    <212> ADN
    <213> Secuencia artificial

30   <220>
    <223> Sintético

    <400> 161

    gaggtgcagc  tgggtggagtc  tggggggaggc  ttggtacagg  ctggggggggtc  cctgagactc  60
    tcctgtgtag  cctctggatt  caccttttagc  agctatgcca  tgagctgggt  ccgccaggct  120
    ccaggggaagg  ggctggagtg  ggtctcagct  attagtggta  gtggtggttag  cacatactcc  180
    gcagactccg  tgaagggccg  gttcaccatc  tccagagaca  attccaagaa  cacgctgtat  240
    ctgcaaataga  acagcctgag  agccgaggac  acggccgtat  attactgtac  gaaaccctca  300
    tcttatagca  gctcgaactt  ctactacggg  atggacgtct  ggggccaagg  gaccacgggc  360
35   accgtctcct  ca                                     372

    <210> 162

    <211> 124
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

    <220>
    <223> Sintético

45   <400> 162

```

ES 2 700 160 T3

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

<210> 163

<211> 24

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

10

<400> 163

ggattcacct ttagcagcta tgcc 24

<210> 164

<211> 8

15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20

<223> Sintético

<400> 164

Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	Ala
1				5			

25

<210> 165

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Sintético

<400> 165

35

attagtggta gtggtgtag caca 24

<210> 166

<211> 8

40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

45

<400> 166

ES 2 700 160 T3

```

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
 1               5

<210> 167
<211> 51
5 <212> ADN
  <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético
10

<400> 167
acgaaaccct catcttatag cagctcgaac ttctactacg gtagggacgt c    51

<210> 168
<211> 17
15 <212> PRT
  <213> Secuencia artificial

<220>
20 <223> Sintético

<400> 168

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

25

<210> 169
<211> 321
<212> ADN
30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 169
35

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc ggggtattag agctgggtag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatact gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
agggttcagcg gcagtggatc taggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag actaacagtc tcccactcac tttcggccct 300
gggaccaagg tggagatcaa a                                321

<210> 170
<211> 107
40 <212> PRT
  <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético
45

<400> 170

```

ES 2 700 160 T3

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

<210> 171
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 171
 cagggtatta gcagctgg 18

<210> 172
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 172

Gln	Gly	Ile	Ser	Ser	Trp
1				5	

<210> 173
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 173
 actgcatcc 9

<210> 174
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 174

Thr	Ala	Ser
1		

<210> 175

ES 2 700 160 T3

<211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Sintético

<400> 175
 caacagacta acagtctccc actcact 27

10

<210> 176
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Sintético

20

<400> 176

 Gln Gln Thr Asn Ser Leu Pro Leu Thr
 1 5

25

<210> 177
 <211> 372
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> Sintético

<400> 177

 gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctggggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagtt attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctacaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgttt attactgtgc gaaaccctca 300
 tcttatagca gctcgaactt ctactacggt atggacgtct ggggcccaagg gaccacgggc 360
 accgtctcct ca 372

35

<210> 178
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223> Sintético

<400> 178

ES 2 700 160 T3

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

<210> 179
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 179
 ggattcacct ttagcagcta tgcc 24

<210> 180
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 180

Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	Ala
1				5			

<210> 181
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 181
 attagtggta gtggtgtag caca 24

<210> 182
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 182

ES 2 700 160 T3

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
1 5

5 <210> 183
<211> 51
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 183
gcgaaaccct catcttatag cagctcgaac ttctactacg gtagggacgt c 51

15 <210> 184
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 184

Ala Lys Pro Ser Ser Tyr Ser Ser Ser Asn Phe Tyr Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15
Val

25 <210> 185

30 <211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

35 <400> 185

gacatcgtga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc ggggtattag agctggtag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcgaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcaccag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacac actaacagtt tcccattcac tttcggccct 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

40 <210> 186
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 186

ES 2 700 160 T3

```

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

```

<210> 187
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 187
 cagggtatta gcagctgg 18

<210> 188
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 188

```

Gln Gly Ile Ser Ser Trp
1           5

```

<210> 189
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 189
 gctgcatcc 9

<210> 190
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 190

```

Ala Ala Ser
1

```


ES 2 700 160 T3

```

5  <210> 191
   <211> 27
   <212> ADN
   <213> Secuencia artificial

   <220>
   <223> Sintético

10  <400> 191
    caacacacta acagttccc attcact 27

   <210> 192
   <211> 9
   <212> PRT
15  <213> Secuencia artificial

   <220>
   <223> Sintético

20  <400> 192

      Gln His Thr Asn Ser Phe Pro Phe Thr
      1              5

25  <210> 193
   <211> 369
   <212> ADN
   <213> Secuencia artificial

   <220>
30  <223> Sintético

   <400> 193

    gaggtgcagc  tgggtggagtc  tggggctgag  gtgaagaagt  ctgggtcctc  ggtgaaggtc  60
    tcctgcaagg  cttctggagg  caccttcagc  cgctatgcta  tcagctgggt  gcgacaggcc  120
    cctggacaag  ggcttgagtg  gatgggaggg  atcatccctc  tctttggtac  attaaactac  180
    gcacagaagt  tccagggcag  agtcacgctt  accacggacg  aatcaacgag  cacagcctac  240
    atggagctga  gcagcctgag  atctgaggac  acggccgtgt  attactgtgc  ggtattttac  300
    tatggttcgg  ggagttatcg  caactggttc  gacccctggg  gccagggaac  cctggtcacc  360
    gtctcctca                                     369

35  <210> 194
   <211> 123
   <212> PRT
   <213> Secuencia artificial

40  <220>
   <223> Sintético

   <400> 194

45

```

ES 2 700 160 T3

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

<210> 195
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 195
 ggaggcacct tcagccgcta tgct 24

<210> 196
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 196

Gly	Gly	Thr	Phe	Ser	Arg	Tyr	Ala
1				5			

<210> 197
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 197
 atcatccctc tctttgtac atta 24

<210> 198
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 198

ES 2 700 160 T3

Ile Ile Pro Leu Phe Gly Thr Leu
1 5

5
<210> 199
<211> 48
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10
<220>
<223> Sintético

<400> 199
gcgggtattt actatgggtc ggggagttat cgcaactggt tcgacccc 48

15
<210> 200
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20
<220>
<223> Sintético

<400> 200

Ala Val Phe Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Arg Asn Trp Phe Asp Pro
1 5 10 15

25
<210> 201
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30
<220>
<223> Sintético

<400> 201

35
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcatcagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacca ctgtcaacag agttacagta tcccgatcac cttcggccaa 300
gggacacgac tggagattaa a 321

40
<210> 202
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45
<220>
<223> Sintético

<400> 202

ES 2 700 160 T3

```

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

```

5 <210> 203
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético
 <400> 203
 cagagcatca gcagctat 18

15 <210> 204
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético
 <400> 204

25 Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 1 5

30 <210> 205
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 205
 gctgcatcc 9

40 <210> 206
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético

45 <400> 206

Ala Ala Ser
 1

ES 2 700 160 T3

<210> 207
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 207
 10 caacagagtt acagtatccc gatcacc 27
 <210> 208
 <211> 9
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 20 <400> 208
 Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Pro Ile Thr
 1 5
 <210> 209
 25 <211> 357
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Sintético
 <400> 209
 gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc acctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccaggggaagg ggctggaatg ggtctcagct attcgtggta atgggtgttaa cacatactac 180
 ggagactcca tgaagggccg tttcaccatc tccagagaca attccaagga cacgctgtat 240
 ttgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaaataaa 300
 tgggagctgc tagtccttga atactggggc caggggaacc tggtcaccgt ctctca 357
 35
 <210> 210
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 210
 45

ES 2 700 160 T3

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

<210> 211
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 211
 ggattcacct ttagcaccta tgcc 24

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

<220>
 <223> Sintético

<400> 212

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala

1 5

<210> 213
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 213
 attcgtgga atggtgtaa caca 24

<210> 214
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 214

ES 2 700 160 T3

	Ile	Arg	Gly	Asn	Gly	Val	Asn	Thr
	1				5			
5	<210> 215 <211> 36 <212> ADN <213> Secuencia artificial							
10	<220> <223> Sintético							
	<400> 215 gcgaaaaata aatgggagct gctagtcttt gaatac 36							
15	<210> 216 <211> 12 <212> PRT <213> Secuencia artificial							
20	<220> <223> Sintético							
	<400> 216							
25	Ala	Lys	Asn	Lys	Trp	Glu	Leu	Leu Val Phe Glu Tyr
	1				5			10
30	<210> 217 <211> 318 <212> ADN <213> Secuencia artificial							
	<220> <223> Sintético							
35	<400> 217							
	gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60 atcacttgcc gggcgagtca ggacattagc aattatcttag cctgggtatca gcagaaacca 120 gggaaagtgc ctaagctcct gatctatgct gcatccactt tgcaatcagg ggtcccattt 180 cggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240 gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaag tataacagtg cccctccttt cggccctggg 300 accaaagtgg atatcaaa 318							
40	<210> 218 <211> 106 <212> PRT <213> Secuencia artificial							
45	<220> <223> Sintético							
	<400> 218							

ES 2 700 160 T3

```

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

```

5 <210> 219
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 219
 caggacatta gcaattat 18

15 <210> 220
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 220

25 Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 1 5

<210> 221
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 221
 gctgcatcc 9

40 <210> 222
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 222

Ala Ala Ser
 1

ES 2 700 160 T3

```

5      <210> 223
      <211> 24
      <212> ADN
      <213> Secuencia artificial

      <220>
      <223> Sintético

10     <400> 223
      caaaagtata acagtgtccc tcct    24

      <210> 224
      <211> 8
      <212> PRT
15     <213> Secuencia artificial

      <220>
      <223> Sintético

20     <400> 224

              Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Pro
                1                5

25     <210> 225
      <211> 363
      <212> ADN
      <213> Secuencia artificial

      <220>
30     <223> Sintético

      <400> 225

      gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

      tcctgtgcag cgtctggatt cagtttcagt gactatgtca tgcactgggt ccgccaggct 120
      ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcatct atatggtttg atggaagtaa tgaattctat 180
      gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240
      ctgcaaataga acagtctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaaaaggga 300
      gtgttggttag ctacctctgc ttttgatata tggggccaag ggacaatggt caccgtctct 360
      tca                                           363

35     <210> 226
      <211> 121
      <212> PRT
      <213> Secuencia artificial

40     <220>
      <223> Sintético

      <400> 226

45

```

ES 2 700 160 T3

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

<210> 227

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 227

ggattcagtt tcagtgacta tgtc 24

<210> 228

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 228

Gly	Phe	Ser	Phe	Ser	Asp	Tyr	Val
1				5			

<210> 229

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 229

atatggttg atggaagtaa tgaa 24

<210> 230

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 230

ES 2 700 160 T3

Ile Trp Phe Asp Gly Ser Asn Glu
1 5

5
<210> 231
<211> 42
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10
<220>
<223> Sintético

<400> 231
gcgaaaaagg gagtgttggt agctacctct gcttttgata tc 42

15
<210> 232
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20
<220>
<223> Sintético

<400> 232

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

25
<210> 233
<211> 324
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30
<220>
<223> Sintético

35
<400> 233

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattaac aactatttaa attggtatca tcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct aatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat tacactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg gaaattacta ctgtcaacag agttacagaa cttccatgta cacttttggc 300
caggggacca aggtggaaat caaa 324

40
<210> 234
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45
<220>
<223> Sintético

<400> 234

ES 2 700 160 T3

```

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

```

5 <210> 235
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético
 <400> 235
 cagagcatta acaactat 18

15 <210> 236
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético
 <400> 236

25 Gln Ser Ile Asn Asn Tyr
 1 5

<210> 237
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 237
 gctgcatcc 9

40 <210> 238
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 238

Ala Ala Ser
 1

ES 2 700 160 T3

<210> 239
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 239
 10 caacagagtt acagaacttc catgtacact 30
 <210> 240
 <211> 10
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 20 <400> 240
 Gln Gln Ser Tyr Arg Thr Ser Met Tyr Thr
 1 5 10
 <210> 241
 25 <211> 360
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Sintético
 <400> 241
 gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacggc ctggcaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat aattatgcca tgcactgggt cgggcaagtt 120
 ccaggggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attacttgga atagtgttag cctaggctat 180
 gcggactctg tgaagggcgc attcaccatc tccagagaca acgcccagaa ctccctgtat 240
 ctgcaaataga acagtctgag aactgtggac acggccttgt attactgtgc aaaagatagg 300
 35 tgggggtggaa gttactactt tgacttctgg ggccaggga cctgggtcac cgtctcctca 360
 <210> 242
 <211> 120
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 45 <400> 242

ES 2 700 160 T3

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

<210> 243

<211> 24

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

10

<400> 243

ggattcacct ttgataatta tgcc 24

<210> 244

15 <211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Sintético

<400> 244

Gly	Phe	Thr	Phe	Asp	Asn	Tyr	Ala
1				5			

25

<210> 245

<211> 24

30 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

35 <400> 245

attacttgga atagtgttag ccta 24

<210> 246

40 <211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

45 <223> Sintético

<400> 246

ES 2 700 160 T3

Ile Thr Trp Asn Ser Val Ser Leu
1 5

5
<210> 247
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10
<220>
<223> Sintético

<400> 247
gcaaaagata ggtggggtgg aagtactac ttgacttc 39

15
<210> 248
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20
<220>
<223> Sintético

<400> 248

Ala Lys Asp Arg Trp Gly Gly Ser Tyr Tyr Phe Asp Phe
1 5 10

25
<210> 249
<211> 318
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30
<220>
<223> Sintético

<400> 249

gacatcgtga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcgagtca gggcattagc aattatttag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagtgc ctaaactcct gatctattct gcatccactt tgcaatcagg ggtcccatct 180
cggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcaa cctgcagcct 240

gaagattttg caactttttt ctgtcaaaag tataacagtg cccccacttt cggcggaggg 300
accaaggtgg agatcaaa 318

40
<210> 250
<211> 106
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45
<220>
<223> Sintético

<400> 250

ES 2 700 160 T3

```

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

```

5 <210> 251
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético
 <400> 251
 cagggcatta gcaattat 18

15 <210> 252
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético
 <400> 252

25 Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
 1 5

<210> 253
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 253
 tctgcatcc 9

40 <210> 254
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 254

Ser Ala Ser
 1

ES 2 700 160 T3

```

5      <210> 255
      <211> 24
      <212> ADN
      <213> Secuencia artificial

      <220>
      <223> Sintético

10     <400> 255
      caaaagtata acagtgcccc cact    24

      <210> 256
      <211> 8
      <212> PRT
15     <213> Secuencia artificial

      <220>
      <223> Sintético

20     <400> 256

              Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Thr
                1              5

25     <210> 257
      <211> 363
      <212> ADN
      <213> Secuencia artificial

      <220>
30     <223> Sintético

      <400> 257

      caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60
      tcctgtgcag cgtctggatt cagtttcagt gactatgtca tgcactgggt ccgccaggct 120
      ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcatct atatggtttg atggaagtaa tgaattctat 180
      gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240
      ctgcaaatac acagtctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaaaaggga 300
      gtggttggtag ctacctctgc ttttgatata tggggccaag ggacaatggt caccgtctct 360
      tca                                     363

35     <210> 258
      <211> 121
      <212> PRT
      <213> Secuencia artificial

40     <220>
      <223> Sintético

      <400> 258

45

```

ES 2 700 160 T3

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

<210> 259

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 259

ggattcagtt tcagtgacta tgtc 24

<210> 260

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 260

Gly	Phe	Ser	Phe	Ser	Asp	Tyr	Val
1				5			

<210> 261

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 261

atatggttg atggaagtaa tgaa 24

<210> 262

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 262

ES 2 700 160 T3

Ile Trp Phe Asp Gly Ser Asn Glu
1 5

5
<210> 263
<211> 42
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10
<220>
<223> Sintético

<400> 263
gcgaaaaagg gagtggtggt agctacctct gcttttgata tc 42

15
<210> 264
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20
<220>
<223> Sintético

<400> 264

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

25
<210> 265
<211> 324
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30
<220>
<223> Sintético

35
<400> 265

gaaattgtga	tgacgcagtc	tccatcctcc	ctgtctgcat	ctgtaggaga	cagagtcacc	60
atcacttgcc	gggcaagtca	gagcattaac	aactatttaa	attggtatca	tcagaaacca	120
gggaaagccc	ctaagctcct	aatctatgct	gcatccagtt	tgcaaagtgg	gggtcccatca	180
aggttcagtg	gcagtggatc	tgggacagat	tacactctca	ccatcagcag	tctgcaacct	240
gaagattttg	gaaattacta	ctgtcaacag	agttacagaa	cttccatgta	cacttttggc	300
caggggacca	aggtggagat	caaa				324

40
<210> 266
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45
<220>
<223> Sintético

<400> 266

ES 2 700 160 T3

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

<210> 267
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 267
 cagagcatta acaactat 18

<210> 268
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 268

Gln	Ser	Ile	Asn	Asn	Tyr
1				5	

<210> 269
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 269
 gctgcatcc 9

<210> 270
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 270

Ala	Ala	Ser
1		

ES 2 700 160 T3

<210> 271
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 271
 10 caacagagtt acagaacttc catgtacact 30
 <210> 272
 <211> 10
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 20 <400> 272
 Gln Gln Ser Tyr Arg Thr Ser Met Tyr Thr
 1 5 10
 <210> 273
 25 <211> 366
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Sintético
 <400> 273
 caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt acttactact ggagctgggt ccggcagccc 120
 ccaggggaagg gactggagtg gattgggtat atctattaca gtgggagcac caaccacaac 180
 ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
 aaactgaggt ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgcgag agtaggtccg 300
 gtgggctggg gatcatgggg gaactttgac tactggggcc aggggaaccct ggtcaccgtc 360
 tcctca 366
 35
 <210> 274
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 274
 45

ES 2 700 160 T3

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

<210> 275
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 275
 ggtggctcca tcagtactta ctac 24

<210> 276
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 276

Gly	Gly	Ser	Ile	Ser	Thr	Tyr	Tyr
1				5			

<210> 277
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 277
 atctattaca gtgggagcac c 21

<210> 278
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 278

ES 2 700 160 T3

Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr
1 5

5
<210> 279
<211> 48
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10
<220>
<223> Sintético

<400> 279
gcgagagtag gtccggtggg ctggggatca tgggggaact ttgactac 48

15
<210> 280
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20
<220>
<223> Sintético

<400> 280

Ala Arg Val Gly Pro Val Gly Trp Gly Ser Trp Gly Asn Phe Asp Tyr
1 5 10 15

25
<210> 281
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30
<220>
<223> Sintético

<400> 281

35
gacatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgct gggccagtca gggcattagc agttatttag cctgggtctca gcaaaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccactt tacaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtcaacag cttaatagtt acccgtggac gttcggccaa 300
gggaccaagg ttgagatcaa a 321

40
<210> 282
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45
<220>
<223> Sintético

<400> 282

ES 2 700 160 T3

```

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

```

5 <210> 283
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético
 <400> 283
 cagggcatta gcagttat 18

15 <210> 284
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético
 <400> 284

25 Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
 1 5

<210> 285
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 285
 gctgcatcc 9

40 <210> 286
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 286

Ala Ala Ser
 1

ES 2 700 160 T3

<210> 287
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 287
 10 caacagctta atagttaccc gtggacg 27
 <210> 288
 <211> 9
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 20
 <400> 288
 Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Trp Thr
 1 5
 25 <210> 289
 <211> 360
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Sintético
 <400> 289
 gaggtgcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctgggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctgggta cacctttacc aattatggta tcacctgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggggtgg atcagcgctt acaatggtaa caccggctat 180
 gcacagaaat tccagggcag agtcaccatg accacagaca cttccacgag cacagcctac 240
 atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagaggat 300
 35 tacgattttt ggagggcttt tgatatctgg ggccaaggga caatgggtcac cgtctcttca 360
 <210> 290
 <211> 120
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 45 <400> 290

ES 2 700 160 T3

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

<210> 291
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 291
 ggttacacct ttaccaatta tggt 24

<210> 292
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 292

Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asn	Tyr	Gly
1				5			

<210> 293
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 293
 atcagcgctt acaatggttaa cacc 24

<210> 294
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 294

ES 2 700 160 T3

Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr
1 5

5
<210> 295
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10
<220>
<223> Sintético

<400> 295
gcgagagagg attacgatt ttgagggt ttgatatc 39

15
<210> 296
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20
<220>
<223> Sintético

<400> 296

Ala Arg Glu Asp Tyr Asp Phe Trp Arg Ala Phe Asp Ile
1 5 10

25
<210> 297
<211> 324
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30
<220>
<223> Sintético

<400> 297

35
gaaattgtgc tgactcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccggggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcacctact tagcctggct ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac cggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcaa cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtt ttattgtcaa cagtatgctt actcaccgta cacttttggc 300
caggggacca agctggagat caaa 324

40
<210> 298
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45
<220>
<223> Sintético

<400> 298

ES 2 700 160 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	Thr
			20					25					30		
Tyr	Leu	Ala	Trp	Leu	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	Asn	Arg	Leu	Glu
65					70					75					80
Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Ala	Tyr	Ser	Pro
				85					90					95	
Tyr	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys				
			100					105							

<210> 299

<211> 21

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Sintético

<400> 299

cagagtgtta gcagcaccta c 21

<210> 300

15 <211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Sintético

<400> 300

Gln Ser Val Ser Ser Thr Tyr

1 5

25

<210> 301

<211> 9

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Sintético

<400> 301

35 ggtgcatcc 9

<210> 302

<211> 3

<212> PRT

40 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

45

<400> 302

Gly Ala Ser

1

50 <210> 303

ES 2 700 160 T3

<211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Sintético

<400> 303
 caacagtatg cttactcacc gtacact 27

10

<210> 304
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Sintético

20

<400> 304
 Gln Gln Tyr Ala Tyr Ser Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 305
 <211> 363
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25

<220>
 <223> Sintético

30

<400> 305
 caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt cagtttcagt gactatgtca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcatct atatggtttg atggaagtaa tgaattctat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240
 ctgcaaataa acagtctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaaaaggga 300
 gtgttggttag ctacctctgc ttttgatatc tggggccaag ggacaatggc caccgtctct 360
 tca 363

35

<210> 306
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223> Sintético

<400> 306

ES 2 700 160 T3

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

<210> 307

<211> 24

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

10

<400> 307

ggattcagtt tcagtgacta tgtc 24

<210> 308

15 <211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Sintético

<400> 308

Gly	Phe	Ser	Phe	Ser	Asp	Tyr	Val
1				5			

25

<210> 309

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Sintético

<400> 309

35 atatggttg atggaagtaa tgaa 24

<210> 310

<211> 8

40 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

45

<400> 310

ES 2 700 160 T3

Ile Trp Phe Asp Gly Ser Asn Glu
1 5

5
<210> 311
<211> 42
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10
<220>
<223> Sintético

<400> 311
gcgaaaaagg gagtgttggg agctacctct gcttttgata tc 42

15
<210> 312
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20
<220>
<223> Sintético

<400> 312

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

25
<210> 313
<211> 324
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30
<220>
<223> Sintético

35
<400> 313

```
gacatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattaac aactatttaa attggtatca tcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct aatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
agggttcagt gcagtggatc tgggacagat tacactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg gaaattacta ctgtcaacag agttacagaa cttccatgta cacttttggc 300
cagggggacca aggtggaaat caaa 324
```

40
<210> 314
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45
<220>
<223> Sintético

<400> 314

ES 2 700 160 T3

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

<210> 315
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 315
 cagagcatta acaactat 18

<210> 316
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 316

Gln	Ser	Ile	Asn	Asn	Tyr
1				5	

<210> 317
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 317
 gctgcatcc 9

<210> 318
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 318
 Ala Ala Ser

1

ES 2 700 160 T3

<210> 319
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Sintético
 <400> 319
 10 caacagagtt acagaacttc catgtacact 30
 <210> 320
 <211> 10
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 20 <400> 320
 Gln Gln Ser Tyr Arg Thr Ser Met Tyr Thr
 1 5 10
 <210> 321
 25 <211> 360
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Sintético
 <400> 321
 gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc cggggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccagggt 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtgataa tacatataac 180
 gcagagtccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa tatgttgtat 240
 ctgcaaatac acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaacaaag 300
 ttttagcagct cgttgctctt tgactactgg ggccagggaa ccctgggtcac cgtctcctca 360
 35
 <210> 322
 <211> 120
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 45 <400> 322

ES 2 700 160 T3

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

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

<210> 323
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 323
ggattcacct ttagcagcta tgcc 24

<210> 324
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 324

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 325
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 325
attagtggta gtggtgataa taca 24

<210> 326
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

ES 2 700 160 T3

<400> 326

Ile Ser Gly Ser Gly Asp Asn Thr
1 5

5 <210> 327
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 327
gcgaaaacaa agttagcag ctggtgctc ttgactac 39

15 <210> 328
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 328

25 Ala Lys Thr Lys Phe Ser Ser Ser Leu Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 329
<211> 318
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

35 <400> 329

gacatcgtga tgacccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggccagtc gagtattagt tgggtggttg cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt attccacttt cggcggaggg 300
accaagctgg agatcaaa 318

40 <210> 330
<211> 106
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 330

ES 2 700 160 T3

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

5 <210> 331
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 331
 cagagtatta gttggtgg 18

15 <210> 332
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 332

Gln Ser Ile Ser Trp Trp
 1 5

25 <210> 333
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 333
 aaggcgtct 9

40 <210> 334
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 334

ES 2 700 160 T3

Lys Ala Ser

1

5 <210> 335
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 335
caacagtata atagtattc cact 24

15 <210> 336
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 336

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Thr
1 5

25 <210> 337
<211> 372

30 <212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

35 <400> 337

```
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggct cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctacatt caccttttagc agctatgcca tgacctgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg ggctggagtg ggtctcaagt attagtggta gtggtgatag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240
ctgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaaaggat 300
gggcctggga ggtattacgt gaggtacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360
accgtctcct ca 372
```

40 <210> 338
<211> 124
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 338

ES 2 700 160 T3

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

<210> 339
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 339
 acattcacct ttagcagcta tgcc 24

<210> 340
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 340

Thr	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	Ala
1				5			

<210> 341
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 341
 attagtggta gtggtgatag caca 24

<210> 342
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 342

ES 2 700 160 T3

Ile Ser Gly Ser Gly Asp Ser Thr

1

5

5 <210> 343
<211> 51
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 343
gcgaaaaagg atgggcctgg gaggtattac gtgaggtacg gtatggacgt c 51

15 <210> 344
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 344

Ala Lys Lys Asp Gly Pro Gly Arg Tyr Tyr Val Arg Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15

25 Val

<210> 345
<211> 321
<212> ADN
30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

35 <400> 345

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca ggggtattagc agctgggtag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatact acatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatcc 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ttgtcaacag gctaacagtt tccctctcac tttcggcgga 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

40 <210> 346
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 346

ES 2 700 160 T3

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

5 <210> 347
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 347
 cagggtatta gcagctgg 18

15 <210> 348
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 348

Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 1 5

25 <210> 349
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 349
 actacatcc 9

40 <210> 350
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 350

ES 2 700 160 T3

Thr Thr Ser
1

5 <210> 351
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 351
caacaggcta acagttccc ttcact 27

15 <210> 352
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 352

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr
1 5

25 <210> 353
<211> 372
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 353

```
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggaacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgtca tgagctgggt ccgccagggt 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagtt atcagtggtg gtgggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaccctca 300
tcttatagca gctcgaactt ccactacggg atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360
accgtctcct ca 372
```

40 <210> 354
<211> 124
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 354

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

ES 2 700 160 T3

```

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

```

5 <210> 355
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético
 <400> 355
 ggattcacct ttagcagcta tgct 24

15 <210> 356
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético
 <400> 356

25 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Val
 1 5

<210> 357
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 357
 atcagtggta gtggtgtag caca 24

40 <210> 358
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 358

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
 1 5

50 <210> 359
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

ES 2 700 160 T3

<220>
 <223> Sintético

5 <400> 359
 gcgaaccct catcttatag cagctcgaac ttccactacg gtatggacgt c 51

10 <210> 360
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Sintético

15 <400> 360
 Ala Lys Pro Ser Ser Tyr Ser Ser Ser Asn Phe His Tyr Gly Met Asp
 1 5 10 15
 Val

20 <210> 361
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Sintético

30 <400> 361
 gacatccaga tgaccagtc tccatattcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtca ggggtattag agctgggttag cctgggtatca gcagaaacca 120
 gggagagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttacta ttgtcaaaaag actaacagtt tcccattcac tttcggccct 300
 gggaccaagg tggaaatcaa a 321

35 <210> 362
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Sintético

40 <400> 362

ES 2 700 160 T3

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

5 <210> 363
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 363
 cagggtatta gcagctgg 18

15 <210> 364
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 364

Gln	Gly	Ile	Ser	Ser	Trp
1				5	

25 <210> 365
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

<400> 365
 gctgcatcc 9

35 <210> 366
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Sintético

45 <400> 366

ES 2 700 160 T3

Ala Ala Ser
1

5 <210> 367
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 367
caaaagacta acagttccc attcact 27

15 <210> 368
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 368

Gln Lys Thr Asn Ser Phe Pro Phe Thr
1 5

25 <210> 369
<211> 141
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

<400> 369

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

40 <210> 370
<211> 371
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 700 160 T3

<223> Sintético

<400> 370

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

5

<210> 371

<211> 578

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 700 160 T3

<223> Sintético

<400> 371

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

ES 2 700 160 T3

```

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
      420                                425                        430
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
      435                                440                        445
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
      450                                455                        460
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
465      470                                475                        480
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
      485                                490                        495
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
      500                                505                        510
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
      515                                520                        525
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
      530                                535                        540
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
545      550                                555                        560
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
      565                                570                        575
Gly Lys

```

<210> 372

<211> 584

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

<400> 372

```

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

```


ES 2 700 160 T3

		195					200					205			
Ala	Leu	Pro	Pro	Val	Ala	Pro	Asn	Cys	Leu	Glu	Leu	Arg	Arg	Leu	Cys
	210					215					220				
Phe	Ser	Asp	Pro	Leu	Cys	Arg	Ser	Arg	Leu	Val	Asp	Phe	Gln	Thr	His
225					230					235					240
Cys	His	Pro	Met	Asp	Ile	Leu	Gly	Thr	Cys	Ala	Thr	Glu	Gln	Ser	Arg
				245					250					255	
Cys	Leu	Arg	Ala	Tyr	Leu	Gly	Leu	Ile	Gly	Thr	Ala	Met	Thr	Pro	Asn
			260					265					270		
Phe	Val	Ser	Asn	Val	Asn	Thr	Ser	Val	Ala	Leu	Ser	Cys	Thr	Cys	Arg
		275					280					285			
Gly	Ser	Gly	Asn	Leu	Gln	Glu	Glu	Cys	Glu	Met	Leu	Glu	Gly	Phe	Phe
	290					295					300				
Ser	His	Asn	Pro	Cys	Leu	Thr	Glu	Ala	Ile	Ala	Ala	Lys	Met	Arg	Phe
305					310					315					320
His	Ser	Gln	Leu	Phe	Ser	Gln	Asp	Trp	Pro	His	Pro	Thr	Phe	Ala	Val
				325					330					335	
Met	Ala	His	Gln	Asn	Glu	Asn	Pro	Ala	Val	Arg	Pro	Gln	Pro	Trp	Glu
			340					345					350		
Pro	Arg	Gly	Pro	Thr	Ile	Lys	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Lys	Cys	Pro	Ala
		355					360					365			
Pro	Asn	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Ile
	370					375					380				
Lys	Asp	Val	Leu	Met	Ile	Ser	Leu	Ser	Pro	Ile	Val	Thr	Cys	Val	Val
385					390					395					400
Val	Asp	Val	Ser	Glu	Asp	Asp	Pro	Asp	Val	Gln	Ile	Ser	Trp	Phe	Val
				405					410					415	
Asn	Asn	Val	Glu	Val	His	Thr	Ala	Gln	Thr	Gln	Thr	His	Arg	Glu	Asp
			420					425					430		
Tyr	Asn	Ser	Thr	Leu	Arg	Val	Val	Ser	Ala	Leu	Pro	Ile	Gln	His	Gln
		435					440					445			
Asp	Trp	Met	Ser	Gly	Lys	Glu	Phe	Lys	Cys	Lys	Val	Asn	Asn	Lys	Asp
	450					455					460				
Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Arg	Thr	Ile	Ser	Lys	Pro	Lys	Gly	Ser	Val
465					470					475					480
Arg	Ala	Pro	Gln	Val	Tyr	Val	Leu	Pro	Pro	Pro	Glu	Glu	Glu	Met	Thr
				485					490					495	
Lys	Lys	Gln	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Met	Val	Thr	Asp	Phe	Met	Pro	Glu
		500						505					510		
Asp	Ile	Tyr	Val	Glu	Trp	Thr	Asn	Asn	Gly	Lys	Thr	Glu	Leu	Asn	Tyr
	515						520					525			
Lys	Asn	Thr	Glu	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Tyr	Phe	Met	Tyr
	530					535									

<210> 373
<211> 371
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 373

ES 2 700 160 T3

[illegible]

<210> 374

$\langle 211 \rangle$ 1200

<212> ADN <213> *Homo sapiens*

<400> 374

ES 2 700 160 T3

```

atggtgcgcc ccctgaaccc gcgaccgctg ccgcccgtag tcctgatggt gctgctgctg 60
ctgccgccgt cgccgctgcc tctcgagacc ggagaccccc ttcccacaga aagccgactc 120
atgaacagct gtctccaggc caggaggaag tgccaggctg atcccacctg cagtgtgtcc 180
taccaccacc tggattcctg cacctctagc ataagcacc cactgccctc agaggagcct 240
tcggtccctg ctgactgcct ggaggcagca cagcaactca ggaacagctc tctgataggc 300
tgcatgtgcc accggcgcat gaagaaccag gttgcctgct tggacatcta ttggaccgtt 360
caccgtgccc gcagccttgg taactatgag ctggatgtct ccccctatga agacacagtg 420
accagcaaac cctggaaaat gaatctcagc aaactgaaca tgctcaaacc agactcagac 480
ctctgcctca agtttgccat gctgtgtact ctcaatgaca agtgtgaccg gctgcgcaag 540
gcctacgggg aggcgtgtct cgggccccac tgccagcgcc acgtctgcct caggcagctg 600
ctcactttct tcgagaaggc cgccgagccc cagcgcgagg gcctgtact gtgcccattg 660
gcccccaacg accggggctg cggggagcgc cggcgcaaca ccatcgcccc caactgcgcg 720
ctgccgctg tggcccccaa ctgectggag ctgcggcgcc tctgcttctc cgacccgctt 780
tgcagatcac gcctggtgga tttccagacc cactgccatc ccatggacat cctaggaact 840
tgtgcaacag agcagtccag atgtctacga gcatacctgg ggctgattgg gactgccatg 900
acccccaaact ttgtcagcaa tgtcaacacc agtgttgcct taagctgcac ctgccgaggc 960
agtggcaacc tgcaggagga gtgtgaaatg ctggaagggg tcttctccca caaccctgc 1020
ctcacggagg ccattgcagc taagatgcgt ttacacagcc aactcttctc ccaggactgg 1080
ccacacccta cctttgctgt gatggcacac cagaatgaaa accctgctgt gaggccacag 1140
ccctgggtgc cctctctttt ctctgcacg cttcccttga ttctgtcctt gaggcctatgg 1200

```

<210> 375

<211> 400

5 <212> PRT <213> *Homo sapiens*

<400> 375

ES 2 700 160 T3

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

<210> 376

<211> 632

5 <212> PRT <213> *Homo sapiens*

<400> 376

ES 2 700 160 T3

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

ES 2 700 160 T3

Thr	Asn	Cys	Gln	Pro	Glu	Ser	Arg	Ser	Val	Ser	Ser	Cys	Leu	Lys	Glu
				245					250					255	
Asn	Tyr	Ala	Asp	Cys	Leu	Leu	Ala	Tyr	Ser	Gly	Leu	Ile	Gly	Thr	Val
			260					265					270		
Met	Thr	Pro	Asn	Tyr	Ile	Asp	Ser	Ser	Ser	Leu	Ser	Val	Ala	Pro	Trp
		275					280					285			
Cys	Asp	Cys	Ser	Asn	Ser	Gly	Asn	Asp	Leu	Glu	Glu	Cys	Leu	Lys	Phe
	290					295					300				
Leu	Asn	Phe	Phe	Lys	Asp	Asn	Thr	Cys	Leu	Lys	Asn	Ala	Ile	Gln	Ala
305					310					315					320
Phe	Gly	Asn	Gly	Ser	Asp	Val	Thr	Val	Trp	Gln	Pro	Ala	Phe	Pro	Val
				325					330					335	
Gln	Thr	Thr	Thr	Ala	Thr	Thr	Thr	Thr	Ala	Leu	Arg	Val	Lys	Asn	Lys
				340					345				350		
Pro	Leu	Gly	Pro	Ala	Gly	Ser	Glu	Asn	Glu	Ile	Pro	Thr	His	Val	Leu
		355					360					365			
Pro	Pro	Cys	Ala	Asn	Leu	Gln	Ala	Gln	Lys	Leu	Lys	Ser	Asn	Val	Ser
	370					375					380				
Gly	Asn	Thr	His	Leu	Cys	Ile	Ser	Asn	Gly	Asn	Tyr	Glu	Lys	Glu	Gly
385					390					395					400
Leu	Gly	Ala	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala
				405					410					415	
Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro
				420				425					430		
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val
	435						440					445			
Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val
	450					455					460				
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln
465					470					475					480
Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln
				485					490					495	
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala
			500					505					510		
Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro
		515					520					525			
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr
	530					535					540				
Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser
545					550					555					560
Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr
				565					570					575	
Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr
			580					585					590		
Ser	Lys	Leu	Thr												

<210> 377

<211> 405

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> GFRalfa3 de mono cangrejero: ADNc de cerebelo

ES 2 700 160 T3

<400> 377

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

5

<210> 378
<211> 1086
<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> RET de mono cangrejero sin secuencia señal

5

<400> 378

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

ES 2 700 160 T3

Asn	Cys	Gln	Ala	Phe	Ser	Gly	Ile	Asn	Val	Gln	Tyr	Glu	Leu	His	Ser		
				405					410					415			
Ser	Gly	Ala	Asn	Cys	Ser	Thr	Leu	Gly	Val	Val	Thr	Ser	Ala	Glu	Asp		
			420					425					430				
Thr	Ser	Gly	Ile	Leu	Phe	Val	Asn	Asp	Thr	Lys	Ala	Leu	Arg	Arg	Pro		
		435					440					445					
Lys	Cys	Ala	Glu	Leu	His	Tyr	Met	Val	Val	Ala	Thr	Asn	His	Gln	Thr		
	450					455					460						
Ser	Arg	Gln	Ala	Gln	Ala	Gln	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Glu	Gly	Leu	Tyr		
465						470				475					480		
Val	Ala	Glu	Glu	Ala	Gly	Cys	Pro	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Ser	Lys	Arg		
				485					490					495			
Arg	Pro	Glu	Cys	Glu	Glu	Cys	Gly	Gly	Leu	Gly	Ser	Pro	Thr	Gly	Arg		
		500						505					510				
Cys	Glu	Trp	Arg	Gln	Gly	Asp	Gly	Lys	Gly	Ile	Thr	Arg	Asn	Phe	Ser		
	515						520					525					
Thr	Cys	Ser	Pro	Ser	Thr	Lys	Thr	Cys	Pro	Asp	Gly	His	Cys	Asp	Val		
	530					535					540						
Val	Glu	Thr	Gln	Asp	Ile	Asn	Ile	Cys	Pro	Gln	Asp	Cys	Leu	Arg	Gly		
545					550					555					560		
Ser	Ile	Val	Gly	Gly	His	Glu	Pro	Gly	Glu	Pro	Arg	Gly	Ile	Lys	Ala		
				565					570					575			
Gly	Tyr	Gly	Thr	Cys	Asn	Cys	Phe	Pro	Glu	Glu	Glu	Lys	Cys	Phe	Cys		
			580					585				590					
Glu	Pro	Glu	Asp	Ile	Gln	Asp	Pro	Leu	Cys	Asp	Glu	Leu	Cys	Arg	Thr		
		595					600					605					
Val	Ile	Ala	Ala	Ala	Val	Leu	Phe	Ser	Phe	Ile	Val	Ser	Val	Leu	Leu		
	610					615					620						
Ser	Ala	Phe	Cys	Ile	His	Arg	Tyr	His	Lys	Phe	Ala	His	Lys	Pro	Pro		
625					630					635					640		
Ile	Pro	Ser	Ala	Glu	Met	Thr	Phe	Arg	Arg	Pro	Ala	Gln	Ala	Phe	Pro		
				645					650					655			
Val	Ser	Tyr	Ser	Ser	Ser	Gly	Ala	Arg	Arg	Pro	Ser	Leu	Asp	Ser	Met		
			660					665					670				
Glu	Asn	Gln	Val	Ser	Val	Asp	Ala	Phe	Lys	Ile	Pro	Glu	Asp	Pro	Lys		
	675						680					685					
Trp	Glu	Phe	Pro	Arg	Lys	Asn	Leu	Val	Leu	Gly	Lys	Thr	Leu	Gly	Glu		
	690					695					700						
Gly	Glu	Phe	Gly	Lys	Val	Val	Lys	Ala	Thr	Ala	Phe	Arg	Leu	Lys	Gly		
705					710					715					720		
Arg	Ala	Gly	Tyr	Thr	Thr	Val	Ala	Val	Lys	Met	Leu	Lys	Glu	Asn	Ala		
				725					730					735			
Ser	Pro	Ser	Glu	Leu	Arg	Asp	Leu	Leu	Ser	Glu	Phe	Asn	Leu	Leu	Lys		
			740					745					750				
Gln	Val	Asn	His	Pro	His	Val	Ile	Lys	Leu	Tyr	Gly	Ala	Cys	Ser	Gln		
		755					760					765					
Asp	Gly	Pro	Leu	Leu	Leu	Ile	Val	Glu	Tyr	Ala	Lys	Tyr	Gly	Ser	Leu		
	770					775					780						
Arg	Gly	Phe	Leu	Arg	Glu	Ser	Arg	Lys	Val	Gly	Pro	Gly	Tyr	Leu	Gly		
785					790					795					800		
Ser	Gly	Gly	Ser	Arg	Asn	Ser	Ser	Ser	Leu	Asp	His	Pro	Asp	Glu	Arg		
				805					810					815			
Ala	Leu	Thr	Met	Gly	Asp	Leu	Ile	Ser	Phe	Ala	Trp	Gln	Ile	Ser	Arg		
			820					825					830				
Gly	Met	Gln	Tyr	Leu	Ala	Glu	Met	Lys	Leu	Val	His	Arg	Asp	Leu	Ala		
	835						840					845					
Ala	Arg	Asn	Ile	Leu	Val	Ala	Glu	Gly	Arg	Lys	Met	Lys	Ile	Ser	Asp		
	850					855					860						

ES 2 700 160 T3

```

Phe Gly Leu Ser Arg Asp Val Tyr Glu Glu Asp Ser Tyr Val Lys Arg
865                               870                               875                               880
Ser Lys Gly Arg Ile Pro Val Lys Trp Met Ala Ile Glu Ser Leu Phe
                               885                               890                               895
Asp His Ile Tyr Thr Thr Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Leu
                               900                               905                               910
Leu Trp Glu Ile Val Thr Leu Gly Gly Asn Pro Tyr Pro Gly Ile Pro
                               915                               920                               925
Pro Glu Arg Leu Phe Asn Leu Leu Lys Thr Gly His Arg Met Glu Arg
                               930                               935                               940
Pro Asp Asn Cys Ser Glu Glu Met Tyr Arg Leu Met Leu Gln Cys Trp
945                               950                               955                               960
Lys Gln Glu Pro Asp Lys Arg Pro Val Phe Ala Asp Ile Ser Lys Asp
                               965                               970                               975
Leu Glu Lys Met Met Val Lys Ser Arg Asp Tyr Leu Asp Leu Ala Ala
                               980                               985                               990
Ser Thr Pro Ser Asp Ser Leu Leu Tyr Asp Asp Gly Leu Ser Glu Glu
                               995                               1000                               1005
Glu Thr Pro Leu Val Asp Cys Asn Asn Ala Pro Leu Pro Arg Ala Leu
1010                               1015                               1020
Pro Ser Thr Trp Ile Glu Asn Lys Leu Tyr Gly Met Ser Asp Pro Asn
1025                               1030                               1035                               1040
Trp Pro Gly Glu Ser Pro Val Pro Leu Thr Arg Ala Asp Gly Thr Asn
                               1045                               1050                               1055
Thr Gly Phe Pro Arg Tyr Ala Asn Asp Ser Val Tyr Ala Asn Trp Met
                               1060                               1065                               1070
Leu Ser Pro Ser Ala Ala Lys Leu Met Asp Thr Phe Asp Ser
                               1075                               1080                               1085

```

<210> 379

<211> 371

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> aa 1-343 GFRalfa3-MMH de ratón: N29-N371 de Ac. aa 344-371 de n.º AAH66202.1: marcador de myc-enlazador de GG-myc-hexahistidina

<400> 379

ES 2 700 160 T3

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

[illegible]

<210> 380
<211> 372
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sintético

ES 2 700 160 T3

<400> 380

```
cagggttcaac tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctgggggcctc agtgaaggctc 60
tcctgcaagg cttctgggta cacctttacc agctatggta tcatctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgggt acaatggtaa cacaaactat 180
acacagaatc tccagggcag agtcaccatg accacagaca cttccacgac cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagatgggggt 300
atagcaactc gtcctacta ctactacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360
accgtctcct ca 372
```

5 <210> 381
<211> 124
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> sintético

<400> 381

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

15 <210> 382
<211> 24
<212> ADN
20 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> sintético

25 <400> 382
ggttacacct ttaccagcta tgggt 24

<210> 383
<211> 8
30 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sintético

35 <400> 383

```
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly
1 5
```

40 <210> 384

ES 2 700 160 T3

```

<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

5  <220>
    <223> sintético

    <400> 384
    atcagcgggtt acaatggttaa caca    24

10  <210> 385
    <211> 8
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

15  <220>
    <223> sintético

    <400> 385

20  Ile Ser Gly Tyr Asn Gly Asn Thr
    1                      5

    <210> 386
    <211> 51
    <212> ADN
    <213> Secuencia artificial

    <220>
    <223> sintético

30  <400> 386
    gcgagatggg gtatagcaac tcgtccctac tactactacg gtatggacgt c    51

35  <210> 387
    <211> 17
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

    <220>
    <223> sintético

40  <400> 387

    Ala Arg Trp Gly Ile Ala Thr Arg Pro Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
    1                      5                      10                      15
    Val

45  <210> 388

    <211> 321
    <212> ADN
    <213> Secuencia artificial

    <220>
    <223> sintético

55  <400> 388

```

ES 2 700 160 T3

```

gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca ggacattacc aattatttag cctgggtttca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtcctt gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt accctccac tttcggccct 300
gggaccaaag tgatatcaa a                                     321

```

<210> 389
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> sintético

<400> 389

```

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

```

<210> 390
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> sintético

<400> 390
 caggacatta ccaattat 18

<210> 391
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> sintético

<400> 391

```

Gln Asp Ile Thr Asn Tyr
 1           5

```

<210> 392
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> sintético

ES 2 700 160 T3

```

<400> 392
gctgcatcc    9

5  <210> 393
    <211> 3
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

10 <220>
    <223> sintético

    <400> 393

                                Ala Ala Ser
                                1

15 <210> 394
    <211> 27
    <212> ADN
    <213> Secuencia artificial

20 <220>
    <223> sintético

    <400> 394
25 caacagtata atagttaccc tcccact    27

    <210> 395
    <211> 9
    <212> PRT
30 <213> Secuencia artificial

    <220>
    <223> sintético

35 <400> 395

                                Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro Thr
                                1                                5

40 <210> 396
    <211> 369
    <212> ADN
    <213> Secuencia artificial

    <220>
45 <223> sintético

    <400> 396

    gaggtgcagt tattggagtc tggggggaac ttggtacagc cggggggggtc cctgagactc 60
    tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agttatgcca tgacctgggt ccgccaggct 120
    ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaact attagtggta gtggtaccag cacatattac 180
    gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagggaaca attccaggga cacggtgttt 240
    ctacaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgttc gaaaccttct 300
    gcattacgat ttttacattg gttatgtatg gacgtctggg gccaaaggac cctggtcacc 360
    gtctcctca                                     369

50 <210> 397
    <211> 123
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

55 <220>

```

ES 2 700 160 T3

<223> sintético

<400> 397

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

5

<210> 398

<211> 24

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintético

15 <400> 398

ggattcacct ttagcagta tgcc 24

<210> 399

<211> 8

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> sintético

25

<400> 399

Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	Ala
1				5			

30 <210> 400

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> sintético

<400> 400

attagtggta gtgtaccag caca 24

40

<210> 401

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45

<220>

<223> sintético

ES 2 700 160 T3

<400> 401

Ile Ser Gly Ser Gly Thr Ser Thr
1 5

5 <210> 402
<211> 48
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> sintético

<400> 402
tcgaaacctt ctgcattacg atttttacat tggttatgta tggacgctc 48

15 <210> 403
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> sintético

25 <400> 403
Ser Lys Pro Ser Ala Leu Arg Phe Leu His Trp Leu Cys Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 404
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sintético

35 <400> 404

gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ttgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca ggacattagg aattatttag actggtttca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtcctt gatctatgct gcatccaatt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
agggttcggcg gcagtggatc tgggacagat ttactcttca ccatcaacag cctgcagcct 240
gaagattttg taacttatta ctgccagcag tataattctt accctccac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

40 <210> 405
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> sintético

<400> 405

ES 2 700 160 T3

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

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

<210> 406
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> sintético

<400> 406
 caggacatta ggaattat 18

<210> 407
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> sintético

<400> 407

Gln Asp Ile Arg Asn Tyr
 1 5

<210> 408
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> sintético

<400> 408
 gctgcatcc 9

<210> 409
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> sintético

<400> 409

ES 2 700 160 T3

Ala Ala Ser
1

5 <210> 410
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> sintético
10
<400> 410
cagcagtata attcttacc tccact 27

15 <210> 411
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> sintético

<400> 411

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro Thr
1 5

25

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a GFR α 3 humano, en el que el anticuerpo comprende las tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y las tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314, 322/330, 338/346, 354/362, 381/389 y 397/405.
2. El anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno de la reivindicación 1, que comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR seleccionado del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314, 322/330, 338/346, 354/362, 381/389 y 397/405.
3. El anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno de la reivindicación 2, que comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 50/58, 146/154, 210/218 y 290/298.
4. El anticuerpo monoclonal aislado o un fragmento de unión al antígeno del mismo de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que tiene una o más de las siguientes características:
 - (i) presenta una K_D que varía de aproximadamente 10^{-8} M a aproximadamente 10^{-13} M medida mediante resonancia de plasmón superficial;
 - (ii) demuestra la capacidad de bloquear aproximadamente el 50-100 % de la unión de GFR α 3 a su ligando, la artemina, con un valor de CI_{50} que varía de aproximadamente 40 pM a aproximadamente 15 nM;
 - (iii) demuestra la capacidad de bloquear entre el 20 % y el 100 % de la unión de GFR α 3 a un soporte sólido recubierto con una mezcla de artemina y RET;
 - (iv) bloquea o inhibe la activación de RET dependiente de la artemina con una CI_{50} que varía de aproximadamente 200 pM a aproximadamente 50 nM;
 - (v) inhibe o reduce una o más respuestas nociceptivas en un modelo *in vivo* de dolor por cáncer de huesos;
 - (vi) inhibe o reduce la hiperalgesia térmica sensibilizada con artemina *in vivo*;
 - (vii) inhibe o reduce la alodinia en un modelo *in vivo* de artrosis; o
 - (viii) no reacciona de forma cruzada con otros receptores conjuntos GFR para RET.
5. El anticuerpo monoclonal aislado o un fragmento de unión al antígeno del mismo de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que:
 - (a) el anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo quimérico y un anticuerpo humano; y/o
 - (b) en el que el anticuerpo no reacciona de forma cruzada con GFR α 1 humano o GFR α 2 humano; y/o
 - (c) en el que el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal humano que comprende (a) una región variable de cadena pesada (HCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338, 354, 381 y 397; y (b) una región variable de cadena ligera (LCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346, 362, 389 y 405.
6. El anticuerpo monoclonal aislado o un fragmento de unión al antígeno del mismo de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que:
 - (a) el anticuerpo demuestra la capacidad de bloquear aproximadamente el 50-95 % de la unión de GFR α 3 humano a su ligando, la artemina, con un valor de CI_{50} que varía de aproximadamente 40 pM a aproximadamente 750 pM;
 - (b) el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo bloquea aproximadamente el 75-100 % de la unión de GFR α 3 humano a su ligando, la artemina, con un valor de CI_{50} que varía de aproximadamente 400 pM a aproximadamente 15 nM;
 - (c) el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo bloquea o inhibe la activación dependiente de la artemina de RET humano con una CI_{50} que varía de aproximadamente 300 pM a aproximadamente 5 nM; o
 - (d) el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo bloquea o inhibe la activación dependiente de la artemina de RET de macaco cangrejero con una CI_{50} que varía de aproximadamente 0,7 nM a aproximadamente 2,5 nM.
7. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 1-6.
8. Un vector de expresión que comprende la molécula de ácido nucleico de la reivindicación 7.

9. Un método para producir un anticuerpo anti-GFR α 3 o un fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende las etapas de introducir el vector de expresión de la reivindicación 8 en una célula hospedadora aislada, cultivar la célula en condiciones que permitan la producción del anticuerpo o fragmento del mismo, y recoger el anticuerpo así producido.

5

10. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

11. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6 y un segundo agente terapéutico seleccionado del grupo que consiste en un opioide, un inhibidor de COX-2, un anestésico local, un modulador de NMDA, un agonista del receptor cannabinoide, un modulador de la familia de P2X, un antagonista de VR1, un antagonista de la sustancia P, un antagonista del segundo GFR α 3, un antagonista de citocinas o de receptor de citocinas, un inhibidor del factor de crecimiento nervioso (NGF) (un inhibidor de bajo peso molecular o un anticuerpo anti-NGF), un inhibidor de BDNF, TrkA, TrkB o p75, aspirina, un AINE, un esteroide, morfina, un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina (ISRS), un inhibidor de la recaptación de serotonina y norepinefrina (SNRI), un tricíclico, un inhibidor de un canal de sodio controlado por tensión (Na_v), un inhibidor de los canales de calcio, un inhibidor de los canales de potasio, un factor de necrosis tumoral (TNF) o inhibidor del receptor de TNF, un inhibidor de TWEAK (inductor de apoptosis WEAK relacionado con TNF), un inhibidor de RET, un inhibidor de un ligando de la familia de GDNF, un inhibidor de GFR α 1, GFR α 2 o GFR α 4, un inhibidor de un canal iónico de detección de ácido (ASIC1 o ASIC3), un anticonvulsivo (gabapentina o pregabalina), un inhibidor de un receptor de prequinetina (PROK1 y PROK2), un inhibidor de caspasa, un inhibidor de p38, un inhibidor de IKK1/2, CTLA-4lg y un corticosteroide; y un vehículo o vehículo farmacéuticamente aceptable; opcionalmente, en el que el segundo antagonista de GFR α 3 es una pequeña molécula orgánica, un antagonista de polipéptido, un segundo anticuerpo específico de GFR α 3, un ARNip o una molécula antisentido específica de GFR α 3; o en el que el antagonista de citocinas o del receptor de citocinas es un antagonista de interleucina-1 (IL-1), un antagonista de IL-6 y un antagonista de IL-18.

12. El anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, o la composición farmacéutica de la reivindicación 10 u 11, para su uso en el tratamiento de una afección o enfermedad relacionada con GFR α 3, o el dolor asociado con la afección o enfermedad relacionada con GFR α 3, en el que la afección o enfermedad relacionada con GFR α 3 se previene, se mejora o se reduce su gravedad o frecuencia de aparición, o el dolor asociado con la afección o enfermedad se previene, se mejora o se reduce su gravedad o frecuencia de aparición; en el que la afección o enfermedad relacionada con GFR α 3 se selecciona del grupo que consiste en dolor agudo, dolor crónico, dolor neuropático, dolor inflamatorio, un síndrome de dolor funcional, artritis, pancreatitis, artrosis, dolor articular, cefaleas en racimo, neuralgia del trigémino, neuralgia herpética, neuralgias generales, trastornos neurodegenerativos, trastornos del movimiento, trastornos neuroendocrinos, ataxia, dolor visceral, gota, neuralgia posherpética, neuropatía diabética, ciática, dolor de espalda, dolor de cabeza o cuello, dolor intenso o intratable, dolor irruptivo, dolor postoperatorio, eritromelalgia hereditaria, dolor dental, rinitis, dolor oncológico, síndrome de dolor regional complejo (CRPS), enfermedad inflamatoria del intestino (por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa) y trastornos de la vejiga.

13. El anticuerpo aislado, el fragmento de unión al antígeno del mismo o la composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en el que el síndrome de dolor funcional se selecciona del grupo que consiste en dolor lumbar crónico, síndrome del intestino irritable (SII), fibromialgia (FM), síndrome de fatiga crónica, dolor abdominal, trastorno de la articulación temporomandibular (TMJD), síndrome de vejiga dolorosa (cistitis intersticial), trastornos/síndromes gastrointestinales funcionales, síndrome de dolor torácico funcional, migrañas y cefaleas de tipo tensional, síndrome de dolor pélvico crónico, síndrome de próstata dolorosa (prostatitis crónica), síndrome de sensibilidad química múltiple y síndrome de la Guerra del Golfo; o en el que el dolor oncológico se asocia con un cáncer seleccionado del grupo que consiste en cáncer de endometrio, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de cuello uterino, cáncer de hígado, cáncer pancreático, cáncer de colon, cáncer de estómago, cáncer de útero, cáncer de ovarios, cáncer de riñón, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de cerebro, una leucemia, un linfoma, cáncer de huesos y dolor asociado con la metástasis de un cáncer.

14. El anticuerpo, el fragmento de unión al antígeno o la composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 12 o 13, en el que dicho anticuerpo, fragmento de unión al antígeno o composición farmacéutica es para la administración a un paciente en combinación con un segundo agente terapéutico; en el que dicho segundo agente terapéutico se define opcionalmente en la reivindicación 11.

15. El anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno de la reivindicación 1, que comprende una secuencia de aminoácidos de HCDR1 de SEQ ID NO: 148; una secuencia de aminoácidos de HCDR2 de SEQ ID NO: 150; una secuencia de aminoácidos de HCDR3 de SEQ ID NO: 152; una secuencia de aminoácidos de LCDR1 de SEQ ID NO: 156; una secuencia de aminoácidos de LCDR2 de SEQ ID NO: 158; y una secuencia de aminoácidos de LCDR3 de SEQ ID NO: 160.

65

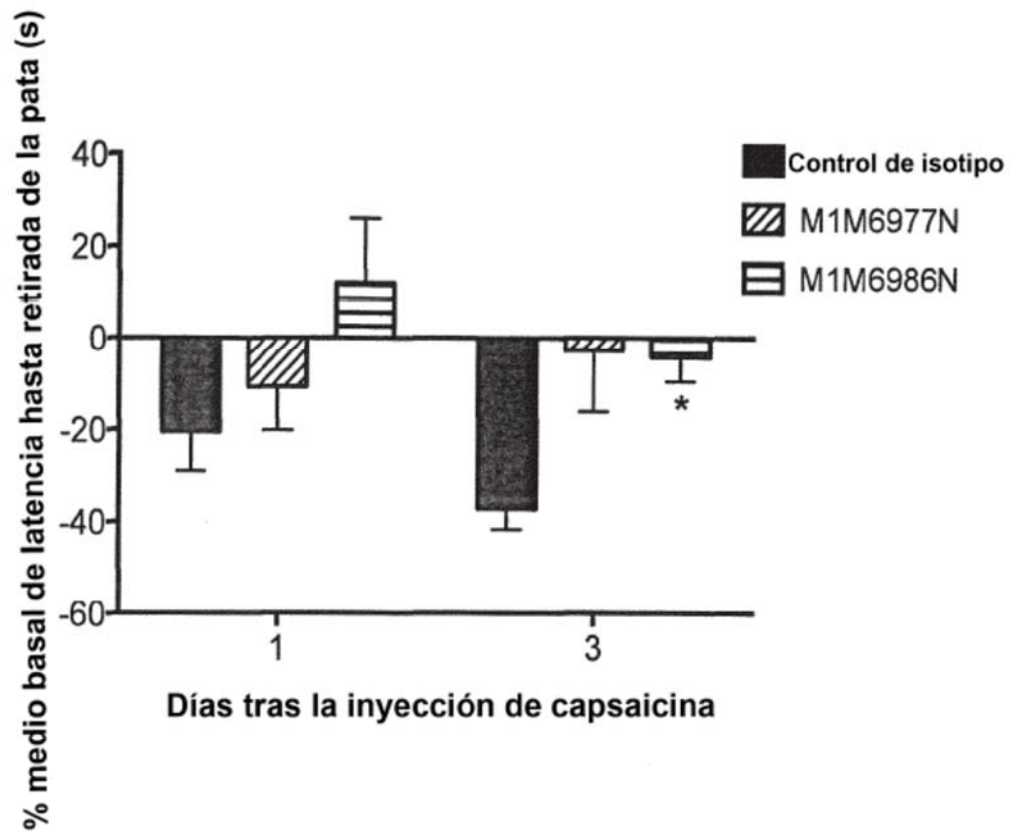


Figura 1

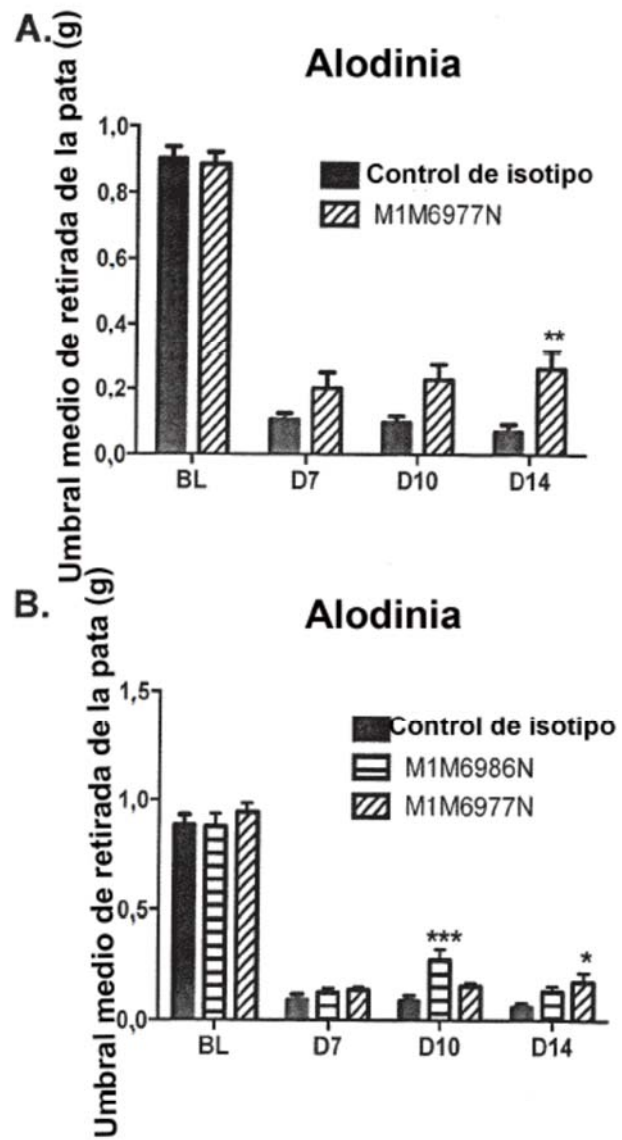
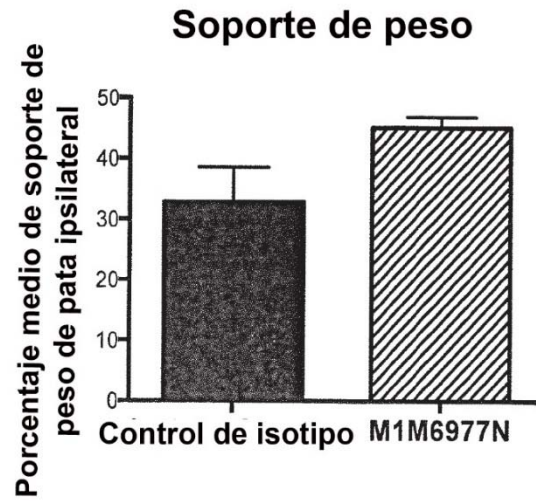


Figura 2

A.



B.

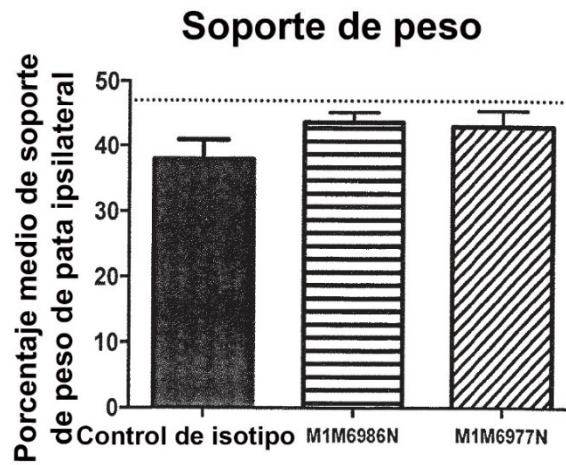


Figura 3

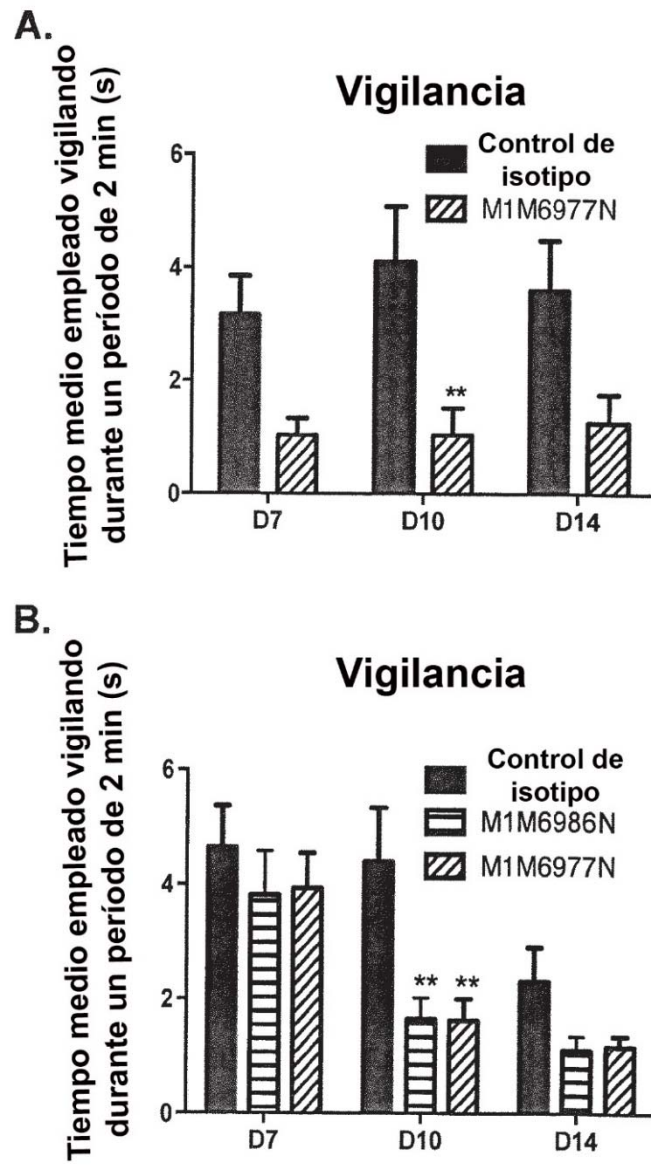


Figura 4

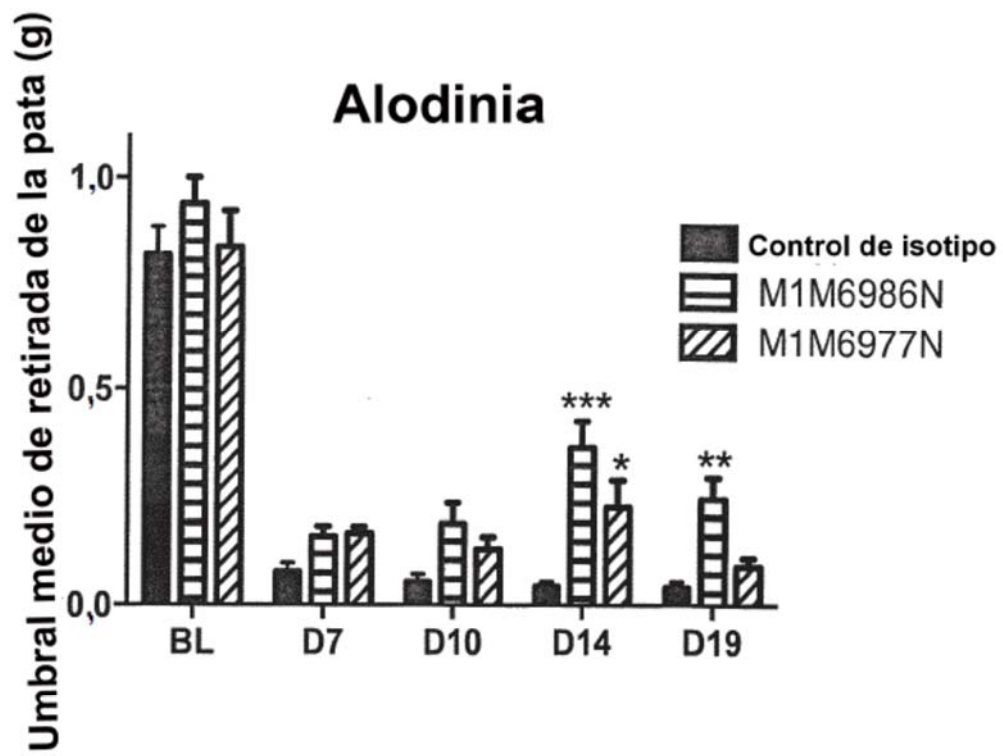


Figura 5

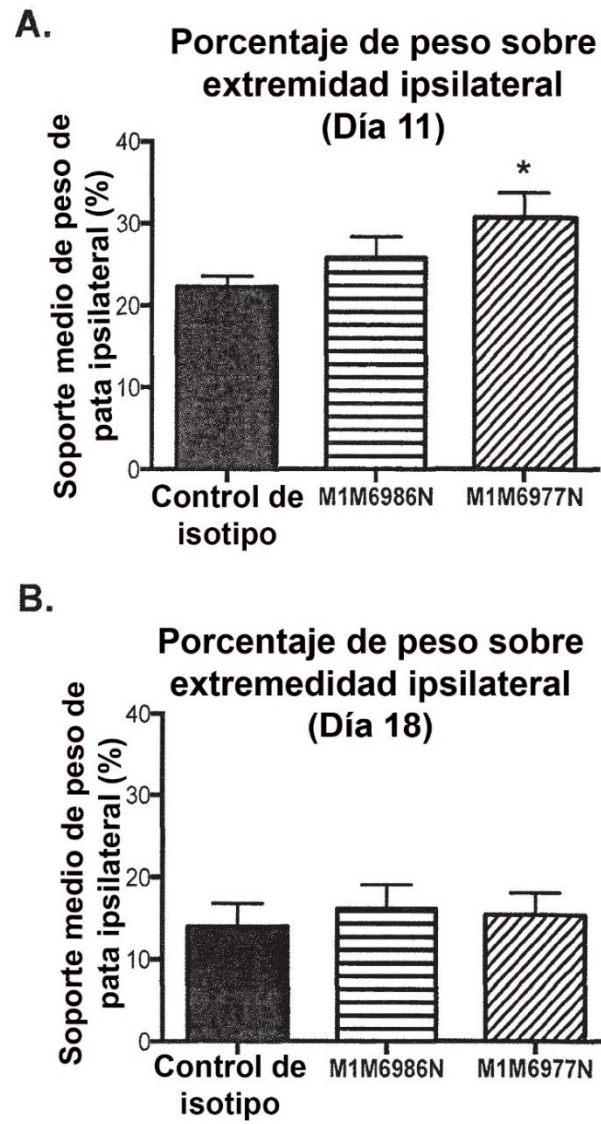


Figura 6

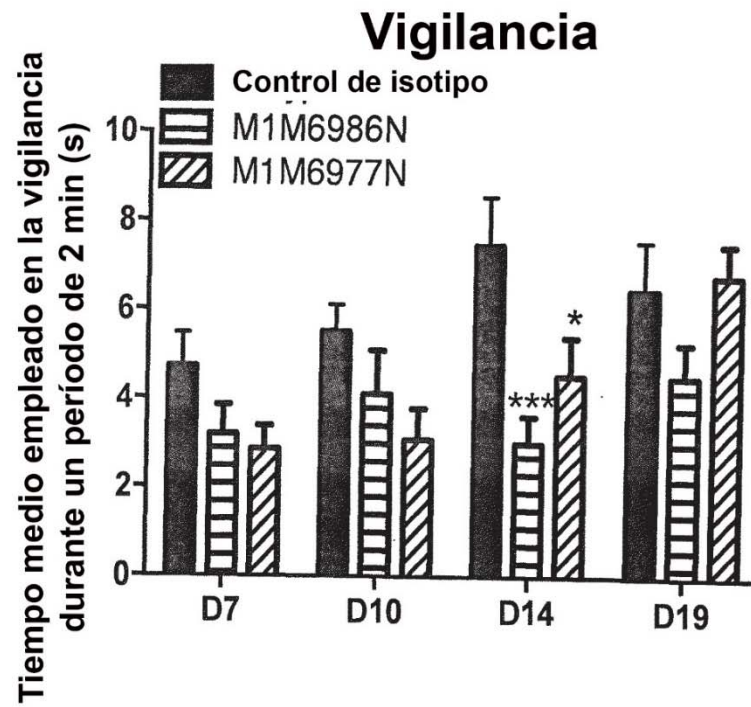


Figura 7

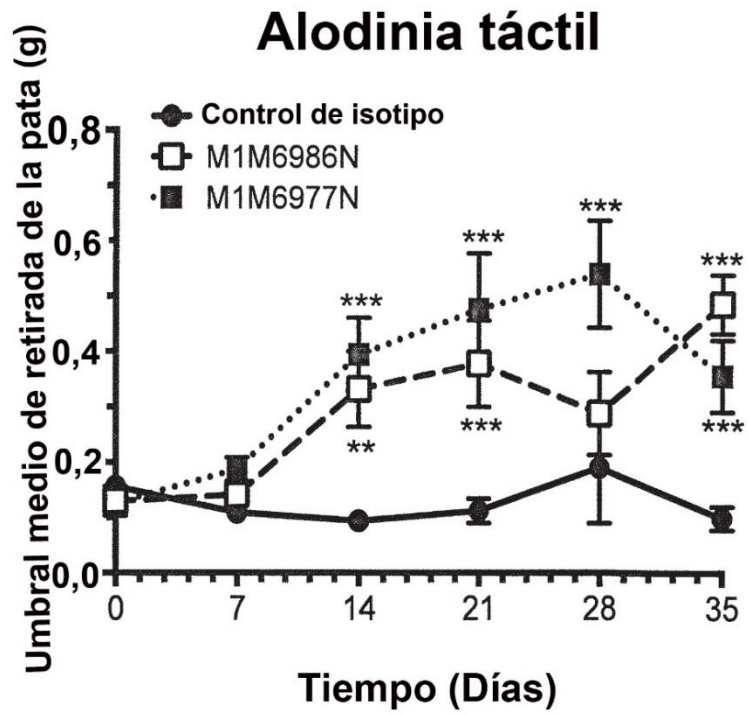


Figura 8

Figura 9

Anticuerpo	Biotina- GFR α 3 humano capturado (nm)	Cantidad de anticuerpo 1 unido (nm)	H4H2236N3	H4H2342P	H4H2295S	H4H2294S	H4H2291S	H4H2357S	H4H2355S	H4H2296S	H4H2243N2	H4H2212N	H4H2352S	H4H2292S	H4H2350P
H4H2236N3	1,07 $\pm$ 0,08	2,64 $\pm$ 0,18	0,00	-0,01	0,03	0,00	0,06	0,04	0,00	0,02	0,02	1,79	1,91	1,81	1,35
H4H2342P	1,09 $\pm$ 0,08	2,69 $\pm$ 0,17	0,20	0,06	0,31	0,23	0,45	0,25	0,16	0,28	0,11	1,76	1,72	1,85	1,46
H4H2295S	1,14 $\pm$ 0,15	2,83 $\pm$ 0,27	0,01	0,01	0,05	0,02	0,20	0,05	0,02	0,07	0,01	1,81	1,85	1,80	1,35
H4H2294S	1,22 $\pm$ 0,04	2,91 $\pm$ 0,09	0,05	0,01	0,04	0,02	0,12	0,03	0,00	0,04	0,03	1,92	1,99	1,92	1,42
H4H2291S	1,16 $\pm$ 0,04	2,89 $\pm$ 0,08	0,01	-0,01	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	-0,01	0,00	1,96	2,03	1,94	1,44
H4H2357S	1,15 $\pm$ 0,03	2,82 $\pm$ 0,07	0,04	-0,01	0,12	0,05	0,18	0,04	0,00	0,06	0,01	1,90	2,00	1,92	1,35
H4H2355S	1,15 $\pm$ 0,03	2,73 $\pm$ 0,07	0,18	0,06	0,20	0,16	0,31	0,16	0,07	0,18	0,09	1,95	1,97	1,92	1,44
H4H2296S	1,29 $\pm$ 0,13	2,88 $\pm$ 0,23	0,07	0,03	0,05	0,04	0,18	0,06	0,02	0,07	0,06	1,76	2,01	1,87	1,27
H4H2243N2	1,10 $\pm$ 0,08	2,42 $\pm$ 0,17	0,30	0,15	0,39	0,29	0,52	0,32	0,24	0,33	0,06	0,22	0,46	1,70	1,20
H4H2212N	1,09 $\pm$ 0,08	2,32 $\pm$ 0,15	2,14	2,17	2,15	2,12	2,69	2,38	2,05	2,36	0,16	0,05	0,08	1,76	1,36
H4H2352S	1,15 $\pm$ 0,03	2,74 $\pm$ 0,16	2,15	2,08	2,31	2,25	2,63	2,45	2,12	2,35	0,13	0,05	0,10	0,15	1,43
H4H2292S	1,17 $\pm$ 0,04	2,82 $\pm$ 0,08	2,24	2,16	2,31	2,31	2,81	2,43	2,07	2,36	1,91	1,78	0,34	0,11	1,53
H4H2350P	1,09 $\pm$ 0,07	3,31 $\pm$ 0,15	1,98	1,80	2,05	2,00	2,57	2,23	1,77	2,10	1,72	1,57	2,06	1,74	0,25