

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 707 599**

51 Int. Cl.:

C07K 16/18 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.01.2013 PCT/US2013/023784**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.08.2013 WO13116296**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.01.2013 E 13702876 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.12.2018 EP 2809681**

54 Título: **Anticuerpos anti-asic1 y usos de los mismos**

30 Prioridad:

31.01.2012 US 201261592837 P

08.05.2012 US 201261644038 P

24.08.2012 US 201261692925 P

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

04.04.2019

73 Titular/es:

REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.

(100.0%)

777 Old Saw Mill River Road

Tarrytown, NY 10591, US

72 Inventor/es:

MACDONALD, LYNN;

GAO, MIN;

MORRA, MARC., R.;

ALESSANDRI-HABER, NICOLE, M. y

LACROIX-FRALISH, MICHAEL, L.

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 707 599 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 anti-asic1 y usos de los mismos

5 **Campo de la invención**

La presente se refiere a anticuerpos y a fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que son específicos para el ASIC1 humano, y a métodos de uso de los mismos.

10 **Antecedentes**

Los canales iónicos sensibles a ácido (ASIC) son canales catiónicos activados por protones expresados en los sistemas nerviosos central y periférico. La familia ASIC en los seres humanos incluye subunidades ASIC1, ASIC2, ASIC3 y ASIC4 que se disponen en canales iónicos homo- o heteromultiméricos en las membranas neuronales. ASIC1, ASIC2 y ASIC3 se expresan significativamente en las neuronas sensoriales nociceptivas pequeñas y medianas que pueden detectar estímulos nocivos químicos, térmicos y mecánicos de alto umbral. ASIC2 y ASIC3 también se expresan en neuronas grandes que corresponden principalmente a mecanorreceptores de bajo umbral.

Los ASIC son permeables a iones Na^+ y Ca^{2+} y se activan por variaciones externas del pH que oscilan de pH 6,8 a 4,0. Se cree que los ASIC juegan un papel importante en la detección de una acidosis local. La acidosis local de tejidos es una característica del dolor y la inflamación, y los tejidos inflamados a menudo presentan un bajo pH (de tan solo -4,7). Se ha propuesto el bloqueo de ASIC como un método para tratar una diversidad de trastornos y afecciones. En particular, se ha propuesto el bloqueo de ASIC1 como medio para tratar afecciones tales como el dolor, enfermedades neurodegenerativas y enfermedades psiquiátricas.

Los inhibidores farmacológicos de ASIC1 incluyen el péptido de tarántula Psalmotoxina-1 (PcTx1), que inhibe específicamente homómeros ASIC1, y los inhibidores de ASIC no selectivos de molécula pequeña amilorida y A-317567. Se ha demostrado que la toxina peptídica de 40 aminoácidos APETx2, aislada de la anémona de mar, inhibe homómeros ASIC3 así como heterómeros ASIC3/1 y ASIC3/2.

En la actualidad, no se conocen anticuerpos que bloqueen específicamente los ASIC. Por lo tanto, existe la necesidad en la técnica de nuevos inhibidores de ASIC, tales como anticuerpos anti-ASIC1, que puedan usarse para tratar enfermedades y afecciones mediadas por la señalización de ASIC. El documento WO 2011/051349 A1 describe un anticuerpo anti-canal iónico E1 o fragmento de unión del mismo, composiciones farmacéuticas que comprenden dichos anticuerpos y el uso de dichos anticuerpos en el tratamiento del dolor.

Breve resumen de la invención

La presente invención proporciona anticuerpos que se unen específicamente a ASIC1 humano, entre los que se incluyen, por ejemplo, anticuerpos que se unen específicamente a ASIC1 expresado en la superficie celular. Los anticuerpos de la presente invención, de acuerdo con determinadas realizaciones, inhiben corrientes iónicas mediadas por ASIC1, inducidas por ácido, en células que expresan ASIC1 humano. Los anticuerpos de la invención son útiles, *entre otras cosas*, para inhibir la señalización mediada por ASIC1 y para tratar enfermedades y trastornos causados por o relacionados con la actividad y/o señalización de ASIC1. Por ejemplo, los anticuerpos de la presente invención pueden administrarse a un paciente para el tratamiento o alivio del dolor y afecciones relacionadas.

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).

La presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo que comprende una región variable de cadena pesada (HCVR) que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 34 y una región variable de cadena ligera (LCVR) que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 42.

En este documento también se describe un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende un par de secuencias de HCVR y LCVR (HCVR/LCVR) seleccionado del grupo que consiste en las 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, 370/378 y 386/394.

También se describe en el presente documento un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo que comprende un dominio CDR3 de cadena pesada (HCDR3) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las 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, 376 y 392, o una secuencia sustancialmente similar a la misma que tiene al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia; y un dominio CDR3 de cadena ligera (LCDR3) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las 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, 384 y 400, o una secuencia sustancialmente similar a la misma que tiene al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia.

5 En determinados casos, el anticuerpo o parte de unión a antígeno de un anticuerpo comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCDR3/LCDR3 seleccionadas del grupo que consiste en las 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, 376/384 y 392/400.

10 También se describe en el presente documento un anticuerpo o fragmento del mismo que comprende un dominio CDR1 de cadena pesada (HCDR1) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las 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, 372 y 388, o una secuencia sustancialmente similar a la misma que tiene al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia; un dominio CDR2 de cadena pesada (HCDR2) que
 15 tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las 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, 374 y 390, o una secuencia sustancialmente similar a la misma que tiene al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia; un dominio CDR1 de cadena ligera (LCDR1) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220,
 20 236, 252, 268, 284, 300, 316, 332, 348, 364, 380 y 396, o una secuencia sustancialmente similar a la misma que tiene al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia; y un dominio CDR2 de cadena ligera (LCDR2) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la 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,
 25 366, 382 y 398, o una secuencia sustancialmente similar a la misma que tiene al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia.

La presente invención también proporciona un anticuerpo o fragmento del mismo que comprende dominios HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3, respectivamente, que tienen las secuencias de aminoácidos de: las SEQ ID NO: 36-38-40-44-46-48 (por ejemplo, H1M6718N).

30 También se describe en el presente documento un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo que se une específicamente a ASIC1 (por ejemplo, ASIC1 expresado en la superficie celular), en donde el anticuerpo o fragmento comprende los dominios CDR de cadena pesada y ligera contenidos dentro de secuencias de región variable de cadena pesada y ligera (HCVR/LCVR) seleccionadas del grupo que consiste en las 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, 370/378 y 386/394. Los métodos y técnicas para identificar las CDR dentro de las secuencias de aminoácido de HCVR y LCVR son bien conocidos 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 ejemplares que pueden usarse para identificar los límites de
 35 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. USA* 86:9268-9272 (1989). También están disponibles bases de datos públicas para identificar las secuencias de CDR dentro de un anticuerpo.

También se describen en el presente documento moléculas de ácido nucleico que codifican anticuerpos anti-ASIC1 o fragmentos de los mismos. También se describen vectores de expresión recombinante que portan los ácidos nucleicos de la invención, y células hospedadoras en las que se han introducido dichos vectores, así como métodos de producción de los anticuerpos mediante el cultivo de las células hospedadoras en condiciones que permiten la producción de los anticuerpos y la recuperación de los anticuerpos producidos.

55 También se describe en el presente documento un anticuerpo o fragmento del mismo que comprende una HCVR codificada por una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en las 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, 369 y 385, o una secuencia sustancialmente idéntica que tiene al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de homología de la misma.

60 También se describe en el presente documento un anticuerpo o fragmento del mismo que comprende una LCVR codificada por una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en las 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, 377 y 393, o una secuencia sustancialmente idéntica que tiene al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de homología de la misma.

65 También se describe en el presente documento un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo que

comprende un dominio HCDR3 codificado por una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 7, 23, 39, 55, 71, 87, 103, 119, 135, 151, 167, 183, 199, 215, 231, 247, 263, 279, 295, 311, 327, 343, 359, 375 y 391, o una secuencia sustancialmente idéntica que tiene al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de homología de la misma; y un dominio LCDR3 codificado por una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 15, 31, 47, 63, 79, 95, 111, 127, 143, 159, 175, 191, 207, 223, 239, 255, 271, 287, 303, 319, 335, 351, 367, 383 y 399, o una secuencia sustancialmente idéntica que tiene al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de homología de la misma.

El anticuerpo o fragmento del mismo puede comprender además un dominio HCDR1 codificado por una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 3, 19, 35, 51, 67, 83, 99, 115, 131, 147, 163, 179, 195, 211, 227, 243, 259, 275, 291, 307, 323, 339, 355, 371 y 387, o una secuencia sustancialmente idéntica que tiene al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de homología de la misma; un dominio HCDR2 codificado por una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 5, 21, 37, 53, 69, 85, 101, 117, 133, 149, 165, 181, 197, 213, 229, 245, 261, 277, 293, 309, 325, 341, 357, 373 y 389, o una secuencia sustancialmente idéntica que tiene al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de homología de la misma; un dominio LCDR1 codificado por una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 11, 27, 43, 59, 75, 91, 107, 123, 139, 155, 171, 187, 203, 219, 235, 251, 267, 283, 299, 315, 331, 347, 363, 379 y 395, o una secuencia sustancialmente idéntica que tiene al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de homología de la misma; y un dominio LCDR2 codificado por una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 13, 29, 45, 61, 77, 93, 109, 125, 141, 157, 173, 189, 205, 221, 237, 253, 269, 285, 301, 317, 333, 349, 365, 381 y 397, o una secuencia sustancialmente idéntica que tiene al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de homología de la misma.

De acuerdo con determinados casos, el anticuerpo o fragmento del mismo comprende las secuencias de CDR de cadena pesada y ligera codificadas por las secuencias de ácido nucleico de las SEQ ID NO: 1 y 9 (por ejemplo, H1M6712N), 17 y 25 (por ejemplo, H1M6716N), 33 y 41 (por ejemplo, H1M6718N), 49 y 57 (por ejemplo, H1M7101N), 65 y 73 (por ejemplo, H2M7103N), 81 y 89 (por ejemplo, H3M6713N), 97 y 105 (por ejemplo, H3M6715N), 113 y 121 (por ejemplo, H3M6720N), 129 y 137 (por ejemplo, H3M6721N), 145 y 153 (por ejemplo, H3M6721N2), 161 y 169 (por ejemplo, H3M6726N), 177 y 185 (por ejemplo, H3M6760N), 193 y 201 (por ejemplo, H3M7102N), 209 y 217 (por ejemplo, H3M7118N), 225 y 233 (por ejemplo, H4H6362P), 241 y 249 (por ejemplo, H4H6363P), 257 y 265 (por ejemplo, H4H6364P), 273 y 281 (por ejemplo, H4H6366P), 289 y 297 (por ejemplo, H4H6372P), 305 y 313 (por ejemplo, H4H6374P), 321 y 329 (por ejemplo, H4H6375P), 337 y 345 (por ejemplo, H4H6379P), 353 y 361 (por ejemplo, H4H6380P), 369 y 377 (por ejemplo, H4H6381P), 385 y 393 (por ejemplo, H4H6383P).

La presente invención incluye anticuerpos anti-ASIC1 que tienen un patrón de glucosilación modificado. En algunas aplicaciones, puede ser útil la modificación para retirar sitios de glucosilación indeseables, o un anticuerpo que carezca de un resto de fucosa presente en la cadena de oligosacárido.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo humano recombinante o fragmento del mismo que se une específicamente a ASIC1 (por ejemplo, ASIC1 expresado en la superficie celular) y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En un aspecto relacionado, la invención proporciona una composición que es una combinación de un anticuerpo anti-ASIC1 y un segundo agente terapéutico. En una realización, el segundo agente terapéutico es cualquier agente que se combine de forma ventajosa con un anticuerpo anti-ASIC1. Los agentes ejemplares que pueden combinarse de forma ventajosa con un anticuerpo anti-ASIC1 incluyen, sin limitación, otros agentes que inhiben la actividad de ASIC1 (incluyendo otros anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, inhibidores peptídicos, antagonistas de molécula pequeña, etc.) y/o agentes que no se unen directamente a ASIC1 pero, a pesar de ello, interfieren con, bloquean o atenúan las corrientes iónicas mediadas por ASIC1 en las células.

En otro aspecto más, la invención proporciona el uso de la parte de unión a antígeno de un anticuerpo o composición farmacéutica de la invención en métodos para tratar el dolor, en donde los métodos terapéuticos comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de la invención. El trastorno tratado es cualquier enfermedad o afección que se mejore, mitigue, inhiba o prevenga por eliminación, inhibición o reducción de corrientes iónicas mediadas por ASIC1. Los anticuerpos anti-ASIC1 o fragmentos de anticuerpo de la invención pueden funcionar bloqueando las corrientes mediadas por ASIC1 inducidas por ácido o inhibiendo de otro modo la actividad de señalización de ASIC1.

También se describe en el presente documento el uso de un anticuerpo anti-ASIC1 o parte de unión a antígeno de un anticuerpo de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno relacionado o causado por corrientes iónicas mediadas por ASIC1 en un paciente.

Otras realizaciones se harán evidentes tras la revisión de la siguiente descripción detallada.

Breve descripción de las figuras

La **Figura 1** representa los umbrales de retirada de ratones tratados con un anticuerpo anti-ASIC1 (H1M6718N), o anticuerpo de control de isotipo, en respuesta a un pellizco mecánico de la cola (panel A) o del músculo gastrocnemio (panel B). Los resultados se expresan en términos de umbral de retirada al pellizco en gramos (media \pm SEM para cada cohorte de ratones).

La **Figura 2** muestra el porcentaje de cambio en el umbral de retirada desde el punto de referencia en hiperalgesia muscular inducida por solución salina ácida en ratones tratados con un anticuerpo anti-ASIC1 (H1M6718N) o control de isotipo.

La **Figura 3 (paneles A y B)** muestra el porcentaje de cambio en el umbral de retirada desde el punto de referencia en hiperalgesia muscular inducida por carragenina en ratones tratados con un anticuerpo anti-ASIC1 (H1M6718N, 10 o 40 mg/kg - **panel A**; o H4H6721N2, 10 o 30 mg/kg - **panel B**), o control de isotipo.

La **Figura 4** muestra el grado de alodinia táctil inducida por taxol a lo largo del tiempo en ratones que recibieron taxol y que se trataron con 30 mg/kg (s.c.) de un anticuerpo de control de isotipo, 30 mg/kg (s.c.) de H1M6718N o 100 mg/kg (s.c.) de gabapentina. Los resultados se expresan en términos de umbral de retirada (g) medido usando filamentos de Von Frey (como se describe en el Ejemplo 10).

Descripción detallada

Antes de describir la presente invención, debe entenderse 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 utilizada en el presente documento únicamente tiene el fin de describir realizaciones particulares, y no se pretende que sea limitante, ya que el alcance de la presente invención estará limitado únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

Salvo que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que el que entiende comúnmente una persona normalmente experta en la materia a la cual pertenece la presente invención. Como se usa en el presente documento, El término "aproximadamente", cuando se usa en referencia a un valor numérico indicado particular, significa que el valor puede variar del valor indicado en no más de un 1 %. Por ejemplo, tal como se usa en el presente documento, la expresión "aproximadamente 100" incluye 99 y 101 y todos los valores intermedios (por ejemplo, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, etc.).

Aunque en la práctica o el ensayo de la presente invención puede utilizarse cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en el presente documento, a continuación se describen métodos y materiales preferidos.

Definiciones

Las expresiones "ASIC1" y "fragmento de ASIC1", tal como se usan en el presente documento, se refieren a la proteína ASIC1 humana o a un fragmento de la misma, salvo que se especifique que procede de una especie no humana (por ejemplo, "ASIC1 de ratón", "fragmento de ASIC1 de ratón," "ASIC1 de mono," "fragmento de ASIC1 de mono," etc.). La proteína ASIC1 humana tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 401). La expresión "ASIC1", tal como se usa en el presente documento, incluye fragmentos solubles del dominio extracelular de ASIC1 (por ejemplo, polipéptidos que comprenden o que consisten en al menos 30 aminoácidos contiguos que se encuentran entre los aminoácidos 63 a 424 de la SEQ ID NO:401), así como a la proteína ASIC1 expresada en la superficie celular (como se define dicho término más adelante en el presente documento).

Como se usa en el presente documento, "un anticuerpo que se une a ASIC1" o un "anticuerpo anti-ASIC1" incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen a un fragmento soluble de una proteína ASIC1 (por ejemplo, una parte del dominio extracelular de ASIC1) y/o a la proteína ASIC1 expresada en la superficie celular. La expresión "ASIC1 expresada en la superficie celular" significa una o más proteínas ASIC1 que se expresan en la superficie de una célula *in vitro* o *in vivo*, de tal modo de al menos una parte de la proteína ASIC1 (por ejemplo, los aminoácidos 63 a 424 de la SEQ ID NO:401) queda expuesta al lado extracelular de la membrana celular y accesible a una parte de unión antígeno de un anticuerpo. "ASIC1 expresada en la superficie celular" incluye la proteína ASIC1 contenida dentro del contexto de un canal iónico ASIC1 funcional en la membrana de una célula. En algunos casos, "ASIC1 expresada en la superficie celular" es una proteína ASIC1 que se expresa como parte de un heteromultímero en la superficie de una célula (por ejemplo, un heteromultímero ASIC1/2, ASIC1/3 o ASIC1/4). En otros casos, "ASIC1 expresada en la superficie celular" es una proteína ASIC1 que se expresa como parte de un homomultímero en la superficie de una célula. Por otra parte, "ASIC1 expresada en la superficie celular" puede comprender o consistir en la proteína ASIC1 expresada en la superficie de una célula que normalmente expresa la proteína ASIC1. Como alternativa, "ASIC1 expresada en la superficie celular" puede comprender o consistir en la proteína ASIC1 expresada en la superficie de una célula que normalmente no expresa ASIC1 humana en su superficie pero se ha modificado genéticamente de forma artificial para expresar ASIC1 en su superficie.

El término "anticuerpo", tal como se usa en el presente documento, significa cualquier molécula o complejo molecular de unión a antígeno que comprende al menos una región determinante de complementariedad (CDR) que se une específicamente a o interacciona con un antígeno particular (por ejemplo, ASIC1). El término «anticuerpo» incluye moléculas de inmunoglobulina que comprenden cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro, así como multímeros de las mismas (por ejemplo, IgM).

Cada cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (abreviada en el presente documento como HCVR o V_H) y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada comprende tres dominios, C_{H1} , C_{H2} y C_{H3} . Cada cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (abreviada en el presente documento como LCVR o V_L) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera comprende un dominio (C_{L1}). Las regiones V_H y V_L pueden subdividirse además en regiones de hipervariabilidad, llamadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, llamadas regiones marco (FR). Cada V_H y V_L está compuesta por tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino al extremo carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. En diferentes realizaciones de la invención, las FR del anticuerpo anti-ASIC1 (o parte de unión a antígeno del mismo) pueden ser idénticas a las secuencias de la línea germinal humana, o pueden haberse modificado de forma natural o artificial. Una secuencia consenso de aminoácidos se puede definir basándose en un análisis en paralelo de dos o más CDR.

El término "anticuerpo", tal como se usa en el presente documento, también incluye fragmentos de unión a antígeno de moléculas de anticuerpo completas. Las expresiones "parte de unión a antígeno" de un anticuerpo, "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo y similares, tal como se usa en el presente documento, incluyen cualquier polipéptido o glucoproteína de origen natural, que puede obtenerse enzimáticamente, sintética o modificada por ingeniería genética, que se une específicamente a un antígeno para formar un complejo. Los fragmentos de unión a antígeno de un anticuerpo pueden obtenerse, por ejemplo, a partir de moléculas de anticuerpo completas, usando cualquier técnica convencional adecuada tal como digestión proteolítica o técnicas de ingeniería genética recombinante que implican la manipulación y expresión de ADN que codifica dominios variables, y opcionalmente constantes, de anticuerpo. Dicho ADN se conoce y/o se puede adquirir fácilmente en, por ejemplo, fuentes comerciales, bibliotecas de ADN (entre las que se incluyen, por ejemplo, fagotecas de anticuerpos), o puede 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 limitativos de fragmentos de unión a 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 mínimo que consisten en los restos de aminoácidos que imitan la región hipervariable de un anticuerpo (por ejemplo, una región determinante de complementariedad (CDR) aislada, tal como un péptido CDR3) o un péptido FR3-CDR3-FR4 constreñido. Dentro de la expresión "fragmento de unión a antígeno", como se usa en el presente documento, también se incluyen otras moléculas modificadas genéticamente, tales como anticuerpos específicos de dominio, anticuerpos de un dominio, anticuerpos de dominio eliminado, anticuerpos quiméricos, anticuerpos de CDR injertada, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, minicuerpos, nanocuerpos (por ejemplo, nanocuerpos monovalentes, nanocuerpos bivalentes, etc.), agentes inmunofarmacéuticos modulares pequeños (SMIP) y dominios variables de IgNAR de tiburón.

Un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo comprenderá típicamente al menos un dominio variable. El dominio variable puede ser de cualquier tamaño o composición de aminoácidos y generalmente comprenderá al menos una CDR que está adyacente a o en fase con una o más secuencias marco. En fragmentos de unión a antígeno que tienen un dominio V_H asociado con un dominio V_L , los dominios V_H y V_L pueden situarse uno respecto al otro 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 a antígeno de un anticuerpo puede contener un dominio V_H o V_L monomérico.

En determinadas realizaciones, un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo puede contener al menos un dominio variable unido covalentemente a al menos un dominio constante. Las configuraciones ejemplares no limitantes de dominios variables y constantes que pueden encontrarse dentro de un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo 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 ejemplares enumeradas anteriormente, los dominios variables y constantes pueden estar unidos directamente entre sí o pueden estar unidos mediante una región bisagra completa o parcial o conectora. Una región 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 única molécula polipeptídica. Por otra parte, un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo 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 ocurre con las moléculas de anticuerpo completas, los fragmentos de unión a antígeno pueden ser monoespecíficos o multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos). Un fragmento de unión a antígeno multiespecífico de un anticuerpo típicamente comprenderá al menos dos dominios variables diferentes, en donde cada dominio variable puede unirse específicamente a un antígeno diferente o a un epítopo diferente en el mismo antígeno. Cualquier formato de anticuerpo multiespecífico, incluyendo los formatos de anticuerpo biespecífico ejemplares divulgados en este documento, puede adaptarse para su uso en el contexto de un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de la

presente invención usando técnicas rutinarias disponibles en este campo.

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 humanos de la invención pueden incluir restos de aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulinas de la línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o dirigida *in vitro* o por mutación somática *in vivo*), por ejemplo, en las CDR y, en particular, en la CDR3. Sin embargo, la expresión "anticuerpo humano", como se usa en el presente documento, no pretende incluir anticuerpos en los que se han injertado secuencias de CDR derivadas de la línea germinal de otra especie de mamífero, tal como un ratón, en secuencias marco humanas.

La expresión "anticuerpo humano recombinante", tal como se usa en el presente documento, pretende incluir todos los anticuerpos humanos que se han preparado, expresado, creado o aislado por medios recombinantes, tales como anticuerpos expresados usando un vector de expresión recombinante introducido por transfección en una célula hospedadora (descrito más adelante con más detalle), anticuerpos aislados a partir de una biblioteca de anticuerpos humana combinatoria recombinante (descrita más adelante con más detalle), anticuerpos aislados de un animal (por ejemplo, un ratón) que es transgénico para genes de inmunoglobulina humana (véase, por ejemplo, Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295) o anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados por cualquier otro medio que implica el corte y empalme de secuencias génicas de inmunoglobulina humana a otras secuencias de ADN. Dichos anticuerpos humanos recombinantes tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. En determinadas realizaciones, sin embargo, dichos anticuerpos humanos recombinantes se someten a mutagénesis *in vitro* (o, cuando se usa un animal transgénico para las secuencias de Ig humana, mutagénesis somática *in vivo*) y, por tanto, las secuencias de aminoácidos de las regiones V_H y V_L de los anticuerpos recombinantes son secuencias que, aunque derivan de, y están relacionadas con, las secuencias V_H y V_L de la línea germinal humana, no pueden existir de forma natural dentro del repertorio de la línea germinal de anticuerpos humanos *in vivo*.

Los anticuerpos humanos pueden existir en dos formas que están asociadas con heterogeneidad de bisagra. En una forma, una molécula de inmunoglobulina comprende una construcción de cuatro cadenas estable de aproximadamente 150-160 kDa en la que los dímeros se mantienen juntos por un enlace disulfuro intercatenario de la cadena pesada. En una segunda forma, los dímeros no están unidos mediante enlaces disulfuro intercatenarios y se forma una molécula de aproximadamente 75-80 kDa compuesta de una cadena ligera y pesada acopladas covalentemente (semianticuerpo). Estas formas han sido extremadamente difíciles de separar, incluso después de purificación por afinidad.

La frecuencia de aparición de la segunda forma en diversos isotipos de IgG intacta se debe a, pero sin limitación, diferencias estructurales asociadas con el isotipo de la región bisagra del anticuerpo. Una sustitución de un único aminoácido en la región bisagra de la bisagra de IgG4 humana puede reducir significativamente la aparición de la segunda forma (Angal *et al.* (1993) Molecular Immunology 30:105) hasta los niveles típicamente observados usando una bisagra de IgG1 humana. La presente invención incluye anticuerpos que tienen una o más mutaciones en la región bisagra, C_H2 o C_H3, que pueden ser deseables, por ejemplo, en la producción, para mejorar el rendimiento de la forma de anticuerpo deseada.

Un "anticuerpo aislado", como se usa en el presente documento, significa un anticuerpo que se ha identificado y separado y/o recuperado de al menos un componente de su entorno natural. Por ejemplo, un anticuerpo que se ha separado o retirado de al menos un componente de un organismo, o de un tejido o célula en la que existe de forma natural o se produce de forma natural el anticuerpo, es un "anticuerpo aislado" para los fines de la presente invención. Un anticuerpo aislado también incluye un anticuerpo *in situ* dentro de una célula recombinante. Los anticuerpos aislados son anticuerpos que se han sometido a al menos una etapa de purificación o aislamiento. De acuerdo con determinadas realizaciones, un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente libre de otro material celular y/o agentes químicos.

Un anticuerpo "neutralizante" o "bloqueante", como se usa en el presente documento, pretende hacer referencia a un anticuerpo cuya unión a ASIC1 reduce o inhibe de manera detectable las corrientes iónicas mediadas por ASIC1 inducidas por ácido. La inhibición causada por un anticuerpo neutralizante o bloqueante de ASIC1 no tiene que ser completa siempre que sea detectable usando un ensayo apropiado. En otra parte del presente documento se describen ensayos ejemplares para detectar la inhibición de ASIC1.

Los anticuerpos anti-ASIC1 divulgados en el presente documento pueden comprender una o más sustituciones, inserciones y/o eliminaciones de aminoácidos en las regiones marco y/o CDR de los dominios variables de cadena pesada y ligera en comparación con las secuencias correspondientes de la línea germinal de las que se obtuvieron los anticuerpos. Dichas mutaciones pueden averiguarse fácilmente comparando las secuencias de aminoácidos divulgadas en este documento con secuencias de la línea germinal disponibles en, por ejemplo, bases de datos de secuencias de anticuerpos públicas. En este documento se describen anticuerpos, y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se obtienen a partir de cualquiera de las secuencias de aminoácidos divulgadas en el presente documento, en las que uno o más aminoácidos dentro de una o más regiones marco y/o CDR están mutados en el

resto o restos correspondientes de la secuencia de la línea germinal de la que se obtuvo el anticuerpo, o en el resto o restos correspondientes de otra secuencia de la línea germinal humana, o en una sustitución de aminoácidos conservativa del resto o restos de la línea germinal correspondientes (dichos cambios de secuencia se mencionan en el presente documento colectivamente como "mutaciones de la línea 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 mutaciones de la línea germinal individuales o combinaciones de las mismas. En determinadas realizaciones, todos los restos marco y/o CDR dentro de los dominios V_H y/o V_L mutan de vuelta a los restos encontrados en la secuencia de la línea germinal original de la que se obtuvo el anticuerpo. En otras realizaciones, únicamente determinados restos mutan de vuelta a la secuencia de la línea germinal original, por ejemplo, únicamente 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 CDR1, CDR2 o CDR3. En otras realizaciones, uno o más de los restos marco y/o CDR están mutados a los restos correspondientes de una secuencia de la línea germinal diferente (es decir, una secuencia de la línea germinal que es diferente de la secuencia de la línea germinal de la que se obtuvo originalmente el anticuerpo). Además, los anticuerpos descritos en el presente documento pueden contener cualquier combinación de dos o más mutaciones de la línea germinal dentro de las regiones marco y/o CDR, por ejemplo, en las que determinados restos individuales están mutados al resto correspondiente de una secuencia de la línea germinal particular mientras que otros restos determinados que difieren de la secuencia de la línea germinal original se mantienen o están mutados al resto correspondiente de una secuencia de la línea germinal diferente. Una vez obtenidos, los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno que contienen una o más mutaciones de la línea germinal pueden ensayarse fácilmente con respecto a una o más propiedades deseadas tales como, mejor especificidad de unión, mayor afinidad de unión, propiedades biológicas antagonista o agonistas mejoradas o potenciadas (según pueda ser el caso), menor inmunogenicidad, etc. Dentro de la presente invención se incluyen anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno obtenidos de esta manera general.

La presente divulgación también incluye anticuerpos anti-ASIC1 que comprenden variantes de cualquiera de las secuencias de aminoácidos de HCVR, LCVR, y/o CDR desveladas en el presente documento que tienen una o más sustituciones conservativas. Por ejemplo, la presente divulgación incluye anticuerpos anti-ASIC1 que tienen secuencias de aminoácidos de HCVR, LCVR y/o CDR con, por ejemplo, 10 o menos, 8 o menos, 6 o menos, 4 o menos, etc. sustituciones de aminoácidos conservativas con respecto a cualquiera de las secuencias de aminoácidos de HCVR, LCVR y/o CDR desveladas en el presente documento.

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 lo tanto, diferentes anticuerpos pueden unirse a diferentes áreas en un antígeno y pueden tener diferentes efectos biológicos. Los epítipos pueden ser conformacionales o lineales. Un epítipo conformacional se produce por yuxtaposición espacial de aminoácidos de diferentes segmentos de la cadena de polipéptido lineal. Un epítipo lineal es uno producido por restos de aminoácidos adyacentes en una cadena polipeptídica. En determinadas circunstancias, un epítipo puede incluir restos de sacáridos, grupos fosforilo o grupos sulfonilo en el antígeno.

La expresión "identidad sustancial" o "sustancialmente 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 un 95 % y, más preferentemente, al menos aproximadamente un 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de las bases nucleotídicas, medida por cualquier algoritmo bien conocido de identidad de secuencias, tal como FASTA, BLAST o Gap, como se analiza a continuación. Una molécula de ácido nucleico que tiene identidad sustancial con una molécula de ácido nucleico de referencia puede, en determinados casos, codificar un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos igual o sustancialmente similar a la del polipéptido codificado por la molécula de ácido nucleico de referencia.

Aplicada a polipéptidos, la expresión "similitud sustancial" o "sustancialmente 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 un 95 % de identidad de secuencia, incluso más preferentemente al menos un 98 % o 99 % de identidad de secuencia. Preferentemente, las posiciones de los restos que no son idénticas difieren por sustituciones de aminoácidos conservativas. Una "sustitución de aminoácido conservativa" es una en la 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 aminoácidos conservativa no cambiará sustancialmente las propiedades funcionales de una proteína. En los casos en los que dos o más secuencias de aminoácidos difieren entre sí por sustituciones conservativas, el porcentaje de identidad de secuencia o grado de similitud puede ajustarse al alza para corregir la naturaleza conservativa de la sustitución. Los medios para hacer 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 laterales de hidroxilo-alifáticas: serina y treonina; (3) cadenas laterales 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 que son cisteína y metionina. Son grupos de sustitución de aminoácidos conservativa preferidos: valina-leucina-isoleucina, fenilalanina-tirosina, lisina-arginina, alanina-valina, glutamato-aspartato y asparagina-glutamina. Como alternativa, un remplazo conservativo es cualquier cambio que tenga un valor positivo en la matriz de probabilidad logarítmica PAM250 divulgada en Gonnet *et al.* (1992) Science 256: 1443-1445. Un remplazo "moderadamente conservativo" es cualquier cambio que tenga un valor no negativo en la matriz de probabilidad logarítmica PAM250.

La similitud de secuencia para polipéptidos, que también se menciona como identidad de secuencia, se mide típicamente usando un programa informático de análisis de secuencias. El programa informático de análisis de proteínas empareja 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 usando 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 Altschul *et al.* (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-402.

Características biológicas de los anticuerpos

La presente invención incluye anticuerpos que se unen específicamente a ASIC1 expresado en la superficie celular. Como se usa en el presente documento, un anticuerpo se une específicamente a ASIC1 expresado en la superficie celular si el anticuerpo muestra unión detectable a una célula que expresa ASIC1 de manera natural o artificial, pero no muestra unión detectable a una célula equivalente que no expresa ASIC1. Un formato de ensayo ejemplar que puede usarse para determinar si un anticuerpo se une específicamente a ASIC1 expresado en la superficie celular es la clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS), como se ilustra en el Ejemplo 3 del presente documento. La unión de un anticuerpo a células que expresan ASIC1, determinada por FACS positiva cualitativa, tal como se muestra en la Tabla 2, puede usarse para identificar un anticuerpo como un anticuerpo que se une específicamente a ASIC1 expresado en la superficie celular. También puede usarse FACS para evaluar cuantitativamente la unión de un anticuerpo a una célula que expresa ASIC1 en términos de un valor de CE_{50} , como se muestra en el Ejemplo 3, Tabla 3. Por lo tanto, de acuerdo con determinadas realizaciones de la presente invención, un anticuerpo "se une específicamente a ASIC1 expresado en la superficie celular" si el anticuerpo, cuando se ensaya en el formato de ensayo FACS del Ejemplo 3 o en un formato de ensayo sustancialmente similar, presenta un valor de CE_{50} de aproximadamente 5 nM o menor (por ejemplo, aproximadamente 5,0 nM, 4,5 nM, 4,0 nM, 3,5 nM, 3,0 nM, 2,5 nM, 2,0 nM, 1,5 nM, 1,4 nM, 1,3 nM, 1,2 nM, 1,1 nM, 1,0 nM, 900 pM, 800 pM, 700 pM, 600 pM, 500 pM, 400 pM, 300 pM, 200 pM, 100 pM, 90 pM, 85 pM, 80 pM, 75 pM, 70 pM o menor).

Los anticuerpos de la presente invención, de acuerdo con determinadas realizaciones, pueden funcionar también (o como alternativa) inhibiendo corrientes iónicas mediadas por ASIC1, inducidas por ácido, en células que expresan ASIC1 humano. Como se usa en el presente documento, la expresión "inhibe corrientes iónicas mediadas por ASIC1 inducidas por ácido" significa que, en un ensayo en el que pueden detectarse y/o cuantificarse flujos o corrientes iónicas celulares inducidas por ácido, la adición de un anticuerpo de la invención reduce de manera detectable o inhibe las corrientes iónicas inducidas por ácido en comparación con las corrientes iónicas observadas en ausencia del anticuerpo (por ejemplo, en presencia de un anticuerpo de control negativo no específico). En el Ejemplo 4 del presente documento se ilustra un ensayo ejemplar no limitante que puede usarse para determinar si un anticuerpo "inhibe las corrientes iónicas mediadas por ASIC1 inducidas por ácido". En este ejemplo, se mide el flujo de calcio activado por un pH bajo en células que expresan ASIC1 en presencia de anticuerpos anti-ASIC1 ("ensayo FLIPR"). Variando la cantidad de anticuerpo usado en este formato de ensayo, puede calcularse la cantidad de anticuerpo necesaria para bloquear un 50 % del flujo de iones inducido por un bajo pH y expresarse como un valor de Cl_{50} (véase, por ejemplo, el Ejemplo 4, Tabla 5). La presente invención incluye anticuerpos anti-ASIC1 que inhiben las corrientes iónicas mediadas por ASIC1 inducidas por ácido con un valor de Cl_{50} menor de aproximadamente 10 nM cuando se ensayan en un ensayo FLIPR a un pH de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 6,0 (por ejemplo, a pH 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9 o 6,0) como se ha descrito anteriormente, o en un ensayo sustancialmente similar. Por ejemplo, la invención incluye anticuerpos anti-ASIC1 que presentan una Cl_{50} menor de aproximadamente 9 nM, 8 nM, 7 nM, 6 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM, 1 nM, 0,9 nM, 0,8 nM, 0,7 nM, 0,6 nM, 0,5 nM, 0,4 nM, 0,3 nM, 0,2 nM, 0,1 nM o menos, cuando se ensayan en un ensayo FLIPR a pH 5,5 como se ha descrito anteriormente, o en un ensayo sustancialmente similar.

En los Ejemplos 5 y 6 del presente documento se ilustran otros formatos de ensayo ejemplares que pueden usarse para determinar si un anticuerpo "inhibe las corrientes iónicas mediadas por ASIC1 inducidas por ácido". En estos ejemplos, se usan ensayos de pinzamiento de voltaje y pinzamiento de membrana para medir y/o evaluar la inhibición del flujo de corriente en células que expresan ASIC1 a pH ácido en presencia de un anticuerpo anti-ASIC1, en

comparación con el flujo de corriente observado en circunstancias equivalentes en ausencia del anticuerpo (por ejemplo, en presencia de un anticuerpo de control negativo no específico). Se considera que un anticuerpo "inhibe las corrientes iónicas mediadas por ASIC1" si el anticuerpo, cuando se prueba en un ensayo de pinzamiento de voltaje y pinzamiento de membrana a una concentración de anticuerpo de aproximadamente 1 nM a aproximadamente 100 nM, a un pH de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 6,0 (por ejemplo, a pH 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9 o 6,0), causa al menos una inhibición de corriente del 10 % (por ejemplo, una inhibición del flujo de corriente de al menos aproximadamente el 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o mayor; véase, por ejemplo, el Ejemplo 5, Tabla 6). En algunos casos, los anticuerpos de la invención inhiben completamente el flujo de corriente (inhibición del 100 %) a una concentración 10 nM o superior (por ejemplo, 100 nM), cuando se ensayan en un formato de ensayo de pinzamiento de membrana como se ha descrito anteriormente o en un ensayo sustancialmente similar.

La presente invención también incluye anticuerpos que inhiben o reducen la respuesta o respuestas de dolor en diversos modelos animales de dolor. En los Ejemplos 7-9 del presente documento se ilustran modelos animales de dolor ejemplares útiles para caracterizar los anticuerpos anti-ASIC1 de la presente invención. Por ejemplo, la presente invención incluye anticuerpos anti-ASIC1 que atenúan o inhiben las respuestas de dolor al dolor visceral inducido por ácido en un modelo de ratón. (Véase, por ejemplo, el Ejemplo 7). En particular, la presente invención incluye anticuerpos anti-ASIC1 que presentan una inhibición de al menos un 20 % de las respuestas de dolor visceral (por ejemplo, constricciones abdominales en respuesta a una inyección intraperitoneal de ácido acético al 0,6 %) cuando se administran a una dosis de aproximadamente 1 o 10 mg/kg a un modelo de ratón como el mostrado en el Ejemplo 7, o a un modelo sustancialmente similar. En ciertos casos, el porcentaje de inhibición de respuestas de dolor debida a la administración de un anticuerpo de la presente invención puede ser de hasta aproximadamente un 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 % o superior cuando se ensaya en el modelo animal de ratón de dolor del Ejemplo 7, o en un modelo sustancialmente similar. Otros modelos animales de dolor que pueden usarse para caracterizar los anticuerpos anti-ASIC de la presente invención incluyen, por ejemplo, los modelos de respuesta de dolor de nocicepción mecánica del Ejemplo 8, los modelos de dolor muscular del Ejemplo 9 y otros modelos animales similares disponibles en la técnica. Por lo tanto, la presente invención incluye anticuerpos anti-ASIC1 capaces de atenuar o inhibir las respuestas de dolor a estímulos mecánicos nocivos (véase, por ejemplo, el Ejemplo 8); y/o hiperalgesia muscular inducida por solución salina ácida o por carragenina (véase, por ejemplo, el Ejemplo 9), como se demuestra en modelos animales apropiados ejemplificados en el presente documento.

Mapeo de epítomos y tecnologías relacionadas

La presente divulgación incluye anticuerpos anti-ASIC1 que interactúan con uno o más aminoácidos encontrados dentro del dominio extracelular de ASIC1 humano (aminoácidos 63 a 424 de la SEQ ID NO:401). El epítomo al que se unen los anticuerpos puede consistir en una sola secuencia contigua de 3 o más (por ejemplo, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más) aminoácidos ubicados dentro del dominio extracelular de ASIC1. Como alternativa, el epítomo puede consistir en una pluralidad de aminoácidos no contiguos (o secuencias de aminoácidos) ubicados dentro del dominio extracelular de ASIC1.

Pueden usarse diversas técnicas conocidas para los expertos en la materia para determinar si un anticuerpo "interacciona con uno o más aminoácidos" dentro de un polipéptido o proteína. Las técnicas ejemplares incluyen, por ejemplo, ensayo de bloqueo cruzado rutinario tal como el descrito en Antibodies, Harlow y Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY), análisis mutacional de barrido con alanina, análisis de transferencias de péptidos (Reineke, 2004, *Methods Mol Biol* 248:443-463), y análisis de escisión de péptidos. 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 el que interacciona un anticuerpo es el intercambio de hidrógeno/deuterio detectado por espectrometría de masas. En términos generales, el método de intercambio hidrógeno/deuterio implica el marcaje con deuterio de 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 para permitir que tenga lugar el intercambio de hidrógeno-deuterio en todos los restos excepto los restos protegidos por el anticuerpo (que permanecen marcados con deuterio). Después de la disociación del anticuerpo, la proteína diana se somete a escisión por proteasa y análisis de espectrometría de masas, revelando de esta manera los restos marcados con deuterio que corresponden a los aminoácidos específicos con los que interacciona el anticuerpo. Véase, por ejemplo, Ehring (1999) *Analytical Biochemistry* 267(2):252-259; Engen y Smith (2001) *Anal. Chem.* 73:256A-265A.

La presente divulgación incluye además anticuerpos anti-ASIC1 que se unen al mismo epítomo que, o compiten por la unión a ASIC1 o ASIC1 expresado en la superficie celular con, cualquiera de los anticuerpos ejemplares específicos descritos en el presente documento (por ejemplo, H1M6712N, H1M6716N, H1M6718N, H1M7101N, H2M7103N, H3M6713N, H3M6715N, H3M6720N, H3M6721N, H3M6721N2, H3M6726N, H3M6760N, H3M7102N, H3M7118N, H4H6362P, H4H6363P, H4H6364P, H4H6366P, H4H6372P, H4H6374P, H4H6375P, H4H6379P, H4H6380P, H4H6381P, H4H6383P, etc.). La presente invención incluye anticuerpos anti-ASIC1 que compiten por la unión a ASIC1 o a ASIC1 expresado en la superficie celular con el anticuerpo ejemplar específico H1M6718N.

Se puede determinar fácilmente si un anticuerpo se une al mismo epítomo que, o compite por la unión con, un

anticuerpo anti-ASIC1 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-ASIC1 de referencia de la invención, se permite que el anticuerpo de referencia se una a una proteína o péptido ASIC1 (por ejemplo, ASIC1 expresado en la superficie celular). A continuación, se evalúa la capacidad de un anticuerpo de ensayo de unirse a la molécula de ASIC1. Si el anticuerpo de ensayo puede unirse a ASIC1 después de la unión por saturación con el anticuerpo anti-ASIC1 de referencia, puede concluirse que el anticuerpo de ensayo se une a un epítipo diferente del anticuerpo anti-ASIC1 de referencia. Por otro lado, si el anticuerpo de ensayo no puede unirse a la molécula de ASIC1 después de la unión por saturación con el anticuerpo anti-ASIC1 de referencia, entonces el anticuerpo de ensayo puede unirse al mismo epítipo al que se une el anticuerpo anti-ASIC1 de referencia de la invención. 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, Biacore, citometría de flujo o cualquier otro ensayo cuantitativo o cualitativo de unión de anticuerpos disponible en la técnica. De acuerdo con determinadas realizaciones de la presente invención, dos anticuerpos se unen al mismo epítipo (o a epítopos solapantes) si, por ejemplo, un exceso en un factor de 1, 5, 10, 20 o 100 de un anticuerpo inhibe la unión del otro en al menos un 50 %, pero preferentemente en un 75 %, 90 % o incluso un 99 %, medida en un ensayo de unión competitiva (véase, por ejemplo, Junghans et al., Cancer Res. 1990:50:1495-1502). Como alternativa, se considera que dos anticuerpos se unen al 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. Se considera que dos anticuerpos tienen "epítopos solapantes" si únicamente un subconjunto de las mutaciones de aminoácido que reducen o eliminan la unión de un anticuerpo reducen o eliminan la unión del otro.

Para determinar si un anticuerpo compite por la unión con un anticuerpo anti-ASIC1 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 de ASIC1 (por ejemplo, ASIC1 expresado en la superficie celular) en condiciones de saturación seguido de la evaluación de la unión del anticuerpo de ensayo a la molécula de ASIC1. En una segunda orientación, se permite que el anticuerpo de ensayo se una a una molécula de ASIC1 en condiciones de saturación seguido de la evaluación de la unión del anticuerpo de referencia a la molécula de ASIC1. Si, en ambas orientaciones, únicamente el primer anticuerpo (de saturación) puede unirse a la molécula de ASIC1, entonces se concluye que el anticuerpo de ensayo y el anticuerpo de referencia compiten por la unión a ASIC1. Como apreciará un experto en la materia, es posible que un anticuerpo que compite por la unión con un anticuerpo de referencia no se una necesariamente al mismo epítipo que el anticuerpo de referencia, sino que puede bloquear estéricamente la unión del anticuerpo de referencia mediante la unión a un epítipo solapante o adyacente.

Preparación de anticuerpos humanos

En la técnica se conocen métodos para generar anticuerpos monoclonales, incluyendo anticuerpos monoclonales completamente humanos. Cualquiera de dichos métodos conocidos puede usarse en el contexto de la presente invención para preparar anticuerpos humanos que se unan específicamente a ASIC1 humano.

Usando la tecnología VELOCIMMUNE™ o cualquier otro método conocido para generar anticuerpos monoclonales, inicialmente se aíslan anticuerpos quiméricos de alta afinidad contra ASIC1 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, entre las que se incluyen la afinidad, selectividad, epítipo, etc. Las regiones constantes de ratón se reemplazan con 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 a antígeno de alta afinidad y especificidad de diana residen en la región variable.

Bioequivalentes

Los anticuerpos anti-ASIC1 y fragmentos de anticuerpos de la presente invención abarcan proteínas que tienen secuencias de aminoácidos que varían de las de los anticuerpos descritos, pero que conservan la capacidad de unirse a ASIC1 humano. 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-ASIC1 de la presente invención abarcan secuencias que comprenden una o más adiciones, eliminaciones o sustituciones de nucleótidos en comparación con la secuencia divulgada, pero que codifican un anticuerpo anti-ASIC1 o fragmento de anticuerpo que es esencialmente bioequivalente a un anticuerpo anti-ASIC1 o fragmento de anticuerpo de la invención. Anteriormente se han analizado ejemplos de dichas secuencias variantes de aminoácido y ADN.

Dos proteínas de unión a 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, 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, el uso crónico, y se consideran médicamente insignificantes para el producto farmacológico particular estudiado.

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

10 En una realización, dos proteínas de unión a 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 la terapia continuada sin dicho cambio.

15 En una realización, dos proteínas de unión a 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.

20 La bioequivalencia puede demostrarse por métodos *in vivo* e *in vitro*. Las medidas de bioequivalencia incluyen, por ejemplo, (a) un ensayo *in vivo* en seres humanos u otros mamíferos, en los que se mide la concentración del anticuerpo o sus metabolitos en sangre, plasma, suero u otro líquido biológico como una 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) como una función del tiempo; y (d) en un ensayo clínico bien controlado que establece la seguridad, eficacia o biodisponibilidad o bioequivalencia de un anticuerpo.

25 Las variantes bioequivalentes de anticuerpos anti-ASIC1 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, pueden eliminarse restos de cisteína no esenciales para la actividad biológica, 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 anticuerpo anti-ASIC1 que comprenden cambios de aminoácido que modifican las características de glucosilación de los anticuerpos, por ejemplo, mutaciones que eliminan o retiran la glucosilación.

35 **Selectividad de especie y reactividad cruzada de especie**

De acuerdo con ciertas realizaciones de la invención, los anticuerpos anti-ASIC1 se unen a ASIC1 humano, pero no a ASIC1 de otras especies. La presente invención también incluye anticuerpos anti-ASIC1 que se unen a ASIC1 humano y a ASIC1 de una o más especies no humanas. Por ejemplo, los anticuerpos anti-ASIC1 de la invención pueden unirse a ASIC1 humano y pueden unirse o no, según sea el caso, a uno o más ASIC1 de ratón, rata, cobaya, hámster, jerbo, cerdo, gato, perro, conejo, cabra, oveja, vaca, caballo, camello, macaco cangrejero, tití, macaco de la India o chimpancé. La presente invención también incluye anticuerpos anti-ASIC1 que bloquean selectivamente las corrientes iónicas inducidas por ácido a través de canales ASIC1 humanos (pero no a través de canales ASIC1 no humanos). Como alternativa, de acuerdo con determinadas realizaciones, se proporcionan anticuerpos anti-ASIC1 que bloquean corrientes iónicas inducidas por ácido a través de canales ASIC1 humanos así como a través de canales ASIC1 no humanos (por ejemplo, de ratón, rata, etc.) (Véase, por ejemplo, el Ejemplo 5 del presente documento).

45 **Inmunoconjugados**

La invención abarca anticuerpos monoclonales anti-ASIC1 humanos conjugados con un resto terapéutico ("inmunoconjugado"), tal como una citotoxina, un fármaco quimioterapéutico, un inmunodepresor o un radioisótopo. Los agentes citotóxicos incluyen cualquier agente que sea perjudicial para las células. En la técnica se conocen ejemplos de agentes citotóxicos y agentes quimioterapéuticos adecuados para formar inmunoconjugados, (véase, por ejemplo, el documento WO 05/103081).

55 **Anticuerpos multiespecíficos**

Los anticuerpos de la presente invención pueden ser monoespecíficos, biespecíficos o multiespecíficos. Los anticuerpos multiespecíficos pueden ser específicos para diferentes epítopos de un polipéptido diana o pueden contener dominios de unión a antígeno específicos para 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-ASIC1 de la presente invención pueden unirse a o coexpresarse con otra molécula funcional, por ejemplo, otro péptido o proteína. Por ejemplo, un anticuerpo o fragmento del mismo puede unirse de forma funcional (por ejemplo, por acoplamiento químico, fusión genética, asociación no covalente o de 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 para ASIC1 humano o un fragmento del mismo, y el otro brazo de la

inmunoglobulina es específico para una segunda diana terapéutica o está conjugado con un resto terapéutico.

Un formato de anticuerpo biespecífico ejemplar 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 está unido 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). Otras 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. Dentro del alcance de la presente invención se contemplan variaciones en el formato de anticuerpo biespecífico descrito anteriormente.

Formulación terapéutica y administración

La invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden los anticuerpos anti-ASIC1 o fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la presente invención. Las composiciones farmacéuticas de la invención se formulan con vehículos, excipientes y otros agentes adecuados que proporcionan una transferencia, administración, 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, vesículas que contienen lípidos (catiónicos o aniónicos) (tales como LIPOFECTIN™), Life Technologies, Carlsbad, CA), conjugados de ADN, pastas de absorción anhidras, emulsiones de aceite en agua y agua en aceite, emulsiones de Carbowax (polietilenglicoles de diversos pesos moleculares), geles semisólidos y mezclas semisólidas que contienen 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 administrada a un paciente puede variar dependiendo de la edad y las dimensiones del paciente, la enfermedad diana, las condiciones, la vía de administración y similares. La dosis preferida se calcula típicamente de acuerdo con el peso corporal o el área superficial del cuerpo. Cuando un anticuerpo de la presente invención se usa para tratar una afección o enfermedad asociada con la actividad ASIC1 en un paciente adulto, puede ser ventajoso administrar por vía intravenosa el anticuerpo de la presente invención, normalmente en una única 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, pueden ajustarse la frecuencia y la duración del tratamiento. Las dosificaciones eficaces y posologías para administrar anticuerpos anti-ASIC1 pueden determinarse empíricamente; por ejemplo, puede controlarse el progreso del paciente por evaluación periódica, y ajustarse la dosis en consecuencia. Por otra parte, pueden realizarse aumentos de escala de las dosificaciones entre especies usando métodos bien conocidos en la técnica (por ejemplo, Mordenti et al., 1991, Pharmaceut. Res. 8:1351).

Se conocen diversos sistemas de administración 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 no de forma limitativa, intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural y otras vías. La composición puede administrarse por cualquier vía conveniente, por ejemplo, por infusión o inyección en embolada, por absorción a través de revestimientos epiteliales 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.

Una composición farmacéutica de la presente invención puede suministrarse por vía subcutánea o intravenosa con una aguja y una jeringa convencionales. Además, con respecto a la administración subcutánea, un dispositivo de administración de pluma preparado tiene aplicaciones en la administración de una composición farmacéutica de la presente invención. Dicho dispositivo de administración de pluma puede ser reutilizable o desechable. Un dispositivo de administración 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 administración de pluma entonces puede reutilizarse. En un dispositivo de administración de pluma desechable, no hay un cartucho reemplazable. En su lugar, el dispositivo de administración 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 administración de pluma y autoinyector reutilizables tienen aplicaciones en la

administración subcutánea de una composición farmacéutica de la presente invención. Los ejemplos incluyen, aunque sin limitación, AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, RU), DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Suiza), pluma HUMALOG MIX 75/25™, pluma HUMALOG™, pluma HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly y Co., Indianápolis, IN), NOVOPEN™ I, II y III (Novo Nordisk, Copenhagen, Dinamarca), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Dinamarca), pluma 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 administración de pluma desechables que tienen aplicaciones en la administración subcutánea de una composición farmacéutica de la presente invención incluyen, aunque sin limitación, la pluma SOLOSTAR™ (sanofi-aventis), el FLEXPEN™ (Novo Nordisk) y el KWIKPEN™ (Eli Lilly), el autoinyector SURECLICK™ (Amgen, Thousand Oaks, CA), el PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Alemania), el EPIPEN (Dey, L.P.), y la pluma HUMIRA™ (Abbott Labs, Abbott Park IL), por nombrar solo algunos.

En determinadas situaciones, la composición farmacéutica puede suministrarse en un sistema de liberación controlada. En una realización, puede usarse una bomba (véase Langer, anteriormente citado; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201). En otra realización, pueden usarse materiales poliméricos; véase, Medical Applications of Controlled Release, Langer y Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida. En otra realización más, un sistema de liberación controlada puede ubicarse en las proximidades de la diana de la composición, requiriendo por tanto solo una fracción de la dosis sistémica (véase, por ejemplo, Goodson, 1984, en Medical Applications of Controlled Release, citado anteriormente, vol. 2, págs. 115-138). En la revisión de Langer, 1990, Science 249:1527-1533, se mencionan otros sistemas de liberación controlada.

Las preparaciones inyectables pueden incluir formas farmacéuticas para inyecciones intravenosas, subcutáneas, intracutáneas e intramusculares, infusiones por goteo, etc. Estas preparaciones inyectables pueden prepararse por métodos conocidos para el público. Por ejemplo, las preparaciones 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 introduce preferentemente en una ampolla apropiada.

Ventajosamente, las composiciones farmacéuticas para uso oral o parenteral descritas anteriormente se preparan en formas farmacéuticas en una dosis unitaria adecuada para ajustarse a una dosis de los principios activos. Dichas formas farmacéuticas 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 farmacéuticas.

Usos terapéuticos de los anticuerpos

Los anticuerpos de la invención son útiles, *entre otras cosas*, para el tratamiento, prevención y/o mejora de cualquier enfermedad o trastorno asociado con o mediado por la actividad de ASIC1 o tratable mediante el bloqueo o atenuación de las corrientes iónicas mediadas por ASIC1 inducidas por ácido en células neuronales de un individuo. Las enfermedades y trastornos ejemplares que pueden tratarse con los anticuerpos anti-ASIC1 de la presente invención incluyen afecciones relacionadas con el dolor tales como dolor nociceptivo y dolor visceral (por ejemplo, dolor por enfermedad inflamatoria del intestino/síndrome de intestino irritable, cistitis intersticial, pancreatitis, endometriosis, síndrome de dolor pélvico crónico, etc.), así como el dolor asociado con la inflamación (por ejemplo, dolor muscular inflamatorio), polimiositis, incisión postoperatoria (por ejemplo, dolor postquirúrgico), neuropatía (por ejemplo, neuropatía diabética), ciática, neuralgia posherpética, síndromes de dolor miofascial (por ejemplo, dolor miofascial crónico), artritis, células falciformes, isquemia nerviosa entérica, dolor de claudicación, fractura ósea, quemaduras, fractura osteoporótica, gota, dolor de cabeza de tipo migraña, fibromialgia, síndrome de dolor regional complejo, dolor herpético agudo, etc. También se desvela en el presente documento el uso de los anticuerpos de la invención para tratar, prevenir y/o mejorar afecciones tales como, por ejemplo, enfermedades neurodegenerativas (por ejemplo, enfermedades desmielinizantes tales como esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica, etc.), lesión cerebral (por ejemplo, ictus, lesión traumática cerebral, acidosis cerebral), trastornos neurológicos (por ejemplo, ataques, trastornos convulsivos) y enfermedades psiquiátricas (por ejemplo, depresión, trastornos de ansiedad, trastorno de estrés posttraumático, trastorno de pánico, etc.).

Los anticuerpos anti-ASIC1 de la presente invención también son útiles para tratar o prevenir el dolor oncológico. "Dolor oncológico" incluye, por ejemplo, dolor oncológico óseo, incluyendo el dolor de un cáncer que ha metastatizado a hueso (por ejemplo, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, sarcoma, cáncer de riñón, mieloma múltiple, etc.). El "dolor oncológico" también incluye el dolor asociado de forma más general 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 ovario, cáncer microcítico de pulmón, cáncer no microcítico de pulmón, sarcoma sinovial, cáncer de tiroides o melanoma. Los anticuerpos anti-ASIC1 de la presente invención también son útiles para tratar o prevenir el dolor causado por o asociado con una terapia para el cáncer o tratamientos médicos anticancerosos, por ejemplo, el 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.

Terapias de combinación

La presente invención incluye regímenes de administración terapéutica que comprenden administrar un anticuerpo anti-ASIC1 de la presente invención en combinación con al menos un componente terapéuticamente activo adicional. Los ejemplos no limitantes de estos componentes terapéuticamente activos adicionales incluyen otros inhibidores de ASIC tales como, por ejemplo, un segundo anticuerpo anti-ASIC1, un anticuerpo dirigido contra un componente de ASIC diferente (por ejemplo, anticuerpo anti-ASIC2, anticuerpo anti-ASIC3, anticuerpo anti-ASIC4, etc.), un inhibidor de péptido ASIC (por ejemplo, psalmotoxina-1 [PcTx1], APETx2, etc.) y/o un inhibidor de ASIC de molécula pequeña (por ejemplo, amilorida, A-317567, etc.).

Otros agentes que pueden administrarse de manera beneficiosa en combinación con los anticuerpos anti-ASIC1 de la invención incluyen inhibidores de citocinas (entre los que se incluyen inhibidores de citocinas de molécula pequeña y anticuerpos que se unen a citocinas tales como IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13, IL-17, IL-18, o a sus receptores respectivos), antivíricos, antibióticos, analgésicos, corticosteroides y/o AINE.

El componente o componentes terapéuticamente activos adicionales pueden administrarse antes de, simultáneamente con o después de la administración de un anticuerpo anti-ASIC1 de la presente invención; (para los fines de la presente divulgación, dichos regímenes de administración se consideran la administración de un anticuerpo anti-ASIC1" en combinación con" un componente terapéuticamente activo adicional).

Usos de diagnóstico de los anticuerpos

Los anticuerpos anti-ASIC1 de la presente invención también pueden usarse para detectar y/o medir ASIC1, o células que expresan ASIC1, en una muestra, por ejemplo, con fines de diagnóstico. Por ejemplo, un anticuerpo anti-ASIC1, o fragmento del mismo, puede usarse para diagnosticar una afección o enfermedad caracterizada por la expresión aberrante (por ejemplo, sobreexpresión, subexpresión, ausencia de expresión, etc.) de ASIC1. Los ensayos de diagnóstico ejemplares para ASIC1 pueden comprender, por ejemplo, poner en contacto una muestra, obtenida de un paciente, con un anticuerpo anti-ASIC1 de la invención, en donde el anticuerpo anti-ASIC1 está marcado con un marcador detectable o molécula indicadora. Como alternativa, puede usarse un anticuerpo anti-ASIC1 no marcado en aplicaciones de diagnóstico en combinación con un anticuerpo secundario que está marcado de forma detectable por sí mismo. El marcador detectable o molécula indicadora puede ser un radioisótopo, tal como ³H, ¹⁴C, ³²P, ³⁵S o ¹²⁵I; un resto fluorescente o quimioluminiscente tal como isotiocianato de fluoresceína o rodamina; o una enzima tal como una fosfatasa alcalina, beta-galactosidasa, peroxidasa de rábano rústico o luciferasa. Los ensayos ejemplares específicos que pueden usarse para detectar o medir ASIC1 en una muestra incluyen ensayo de inmunoadsorción enzimática (ELISA), radioinmunoensayo (RIA) y clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS).

Las muestras que pueden usarse en el diagnóstico de ASIC1 como se describe en el presente documento incluyen cualquier muestra de tejido o de fluido que pueda obtenerse a partir de un paciente que contenga cantidades detectables de proteína ASIC1, o fragmentos de la misma, en condiciones normales o patológicas. En general, se medirán los niveles de ASIC1 en una muestra particular obtenida de un paciente sano (por ejemplo, un paciente no afectado por una enfermedad o afección asociada con niveles o actividad de ASIC1 anómalos) para establecer un valor de referencia, o patrón, de ASIC1. Este nivel de referencia de ASIC1 después puede compararse con los niveles de ASIC1 medidos en muestras obtenidas de individuos de los que se sospecha que tienen un trastorno o afección relacionado con ASIC1.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos se presentan para proporcionar a los expertos en la materia una divulgación y descripción completa de cómo preparar y usar los métodos y composiciones de la invención, y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran su invención. Se ha intentado garantizar la exactitud 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 otra cosa, las partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular promedio, la temperatura está en grados centígrados y la presión es o está cerca de la atmosférica.

10 Ejemplo 1. Generación de anticuerpos humanos contra ASIC1 humano

Para generar anticuerpos anti-ASIC1 humano, se usó un procedimiento de inmunización con ADN en el que se inyectaron por vía intradérmica un plásmido de ADN que codificaba ASIC1 humano de longitud completa, junto con un plásmido distinto que codificaba un adyuvante, en un ratón VELOCIMMUNE® (Regeneron Pharmaceuticals, Inc., Tarrytown, NY). El sitio de inyección después se sometió a electroporación para inducir la transfección de la célula hospedadora con los plásmidos. Los ratones VELOCIMMUNE® usados para la inmunización comprenden ADN que codifica regiones variables de cadena ligera kappa y pesada de inmunoglobulina humana y carece del gen *asic1a* endógeno de ratón. La respuesta inmunitaria de anticuerpos se supervisó mediante un ensayo de unión a células usando células modificadas genéticamente para expresar ASIC1 humano. Cuando se consiguió una respuesta inmunitaria deseada, se recogieron los esplenocitos y se fusionaron con células de mieloma de ratón para conservar su viabilidad y formar líneas celulares de hibridoma. Las líneas celulares de hibridoma se cribaron y seleccionaron para identificar líneas celulares que producían anticuerpos específicos para ASIC1. Usando esta técnica, se obtuvieron varios anticuerpos quiméricos anti-ASIC1 (es decir, anticuerpos que poseen dominios variables humanos y dominios constantes de ratón); los anticuerpos ejemplares generados de esta manera se denominaron del siguiente modo: H1M6712N, H1M6716N, H1M6718N, H1M7101N, H2M7103N, H3M6713N, H3M6715N, H3M6720N, H3M6721N, H3M6721N2, H3M6726N, H3M6760N, H3M7102N y H3M7118N.

También se aislaron anticuerpos anti-ASIC1 directamente de linfocitos B positivos a antígeno sin fusión a células de mieloma, como se describe en el documento US 2007/0280945A1. Usando este método, se obtuvieron varios anticuerpos anti-ASIC1 completamente humanos (es decir, anticuerpos que poseían dominios variables humanos y dominios constantes humanos); denominándose los anticuerpos generados de esta manera como se indica a continuación: H4H6362P, H4H6363P, H4H6364P, H4H6366P, H4H6372P, H4H6374P, H4H6375P, H4H6379P, H4H6380P, H4H6381P, and H4H6383P.

Determinadas propiedades biológicas de los anticuerpos anti-ASIC1 ejemplares generados de acuerdo con los métodos de este 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-ASIC1 seleccionados y sus identificadores de anticuerpo correspondientes.

Tabla 1

Denominación de anticuerpo	SEQ ID NO:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
6712N	2	4	6	8	10	12	14	16
6716N	18	20	22	24	26	28	30	32
6718N	34	36	38	40	42	44	46	48
7101N	50	52	54	56	58	60	62	64
7103N	66	68	70	72	74	76	78	80
6713N	82	84	86	88	90	92	94	96
6715N	98	100	102	104	106	108	110	112
6720N	114	116	118	120	122	124	126	128
6721N	130	132	134	136	138	140	142	144
6721N2	146	148	150	152	154	156	158	160
6726N	162	164	166	168	170	172	174	176

Denominación de anticuerpo	SEQ ID NO:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
6760N	178	180	182	184	186	188	190	192
7102N	194	196	198	200	202	204	206	208
7118N	210	212	214	216	218	220	222	224
6362P	226	228	230	232	234	236	238	240
6363P	242	244	246	248	250	252	254	256
6364P	258	260	262	264	266	268	270	272
6366P	274	276	278	280	282	284	286	288
6372P	290	292	294	296	298	300	302	304
6374P	306	308	310	312	314	316	318	320
6375P	322	324	326	328	330	332	334	336
6379P	338	340	342	344	346	348	350	352
6380P	354	356	358	360	362	364	366	368
6381P	370	372	374	376	378	380	382	384
6383P	386	388	390	392	394	396	398	400

Los anticuerpos se denominan típicamente en este documento de acuerdo con la siguiente nomenclatura: prefijo Fc (por ejemplo, "H4H", "H1M", "H2M"), seguido por un identificador numérico (por ejemplo, "6712" o "6362" como se muestra en la Tabla 1), seguido por un sufijo "P" o "N". Por lo tanto, de acuerdo con esta nomenclatura, un anticuerpo puede denominarse en el presente documento, por ejemplo, "H1M6712N" o "H4H6362P". Los prefijos H4H, H1M y H3M en las denominaciones de anticuerpo usadas en el presente documento indican la región Fc particular del anticuerpo. Por ejemplo, un anticuerpo "H1M" tiene una Fc de IgG1 de ratón, mientras que un anticuerpo "H4H" tiene una Fc de IgG4 humana. Como apreciará un experto en la materia, un anticuerpo H1M o H3M puede convertirse en un anticuerpo H4H, y viceversa, pero en cualquier caso, los dominios variables (incluyendo las CDR) - que se indican por los identificadores numéricos mostrados en la Tabla 1 - permanecerán iguales.

Ejemplo 3. Unión de anticuerpos a células que expresan ASIC1 humano o de ratón de longitud completa

Para caracterizar adicionalmente los anticuerpos anti-ASIC1, se determinó por citometría de flujo (FACS) su capacidad de unirse a (a) una línea celular 3T3 de fibroblastos de ratón transfectada de manera estable para sobreexpresar ASIC1 humano de longitud completa (3T3/hASIC1; aminoácidos 1-528 del número de acceso del NCBI NP_001086.2 [SEQ ID NO: 401]), (b) una línea celular 3T3 transfectada de manera estable para sobreexpresar ASIC1a de ratón de longitud completa (3T3/mASIC1a; aminoácidos 1-526 del número de acceso del NCBI NP_033727) o (c) una línea celular ND7 (ECACC, n.º 92090903) que es una línea celular de fusión de neuroblastoma de ratón y ganglio de raíz dorsal de rata que expresa de manera endógena ASIC1 de rata. Las células ND7 se diferenciaron reemplazando el medio de cultivo por medio de bajo contenido de suero (0,5 % de FBS) que contenía dibutilil-AMPc 1 mM (n.º de Cat. sc-201567A, Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA). Se ensayó la unión mediante FACS para algunos anticuerpos tanto en células ND7 no diferenciadas como en células ND7 diferenciadas.

Para realizar los experimentos de unión mediante FACS, se recogieron células adherentes usando EDTA 1 mM en PBS, después se lavaron y se resuspendieron en PBS frío que contenía un 5 % de FBS. Para cada experimento de unión, se añadió cada anticuerpo anti-ASIC1 (a concentraciones finales de 10 nM de anticuerpos purificados o de 3,3 nM en el caso de sobrenadantes de anticuerpos para la unión a células 3T3/hASIC1 y de 5 nM para la unión a células 3T3/mASIC1a o ND7) a 250.000 células en 500 µl de PBS con un 5 % de FBS. Después de la incubación durante 20 minutos a temperatura ambiente, se añadió a la mezcla de células un anticuerpo secundario que reconocía Fc humana (n.º de Cat. 109-136-098, Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., West Grove, PA) o Fc de ratón (n.º de Cat. 550826, BD Biosciences, San Jose, CA) y que estaba conjugado con alofococianina, a una concentración final de 13,3 nM. Después de incubar durante 20 minutos en hielo, las células se lavaron y se resuspendieron en PBS que contenía un 5 % de FBS, después se clasificaron y se analizaron en un citómetro de flujo (FACSCalibur, BD Biosciences, San Jose, CA) para determinar la unión relativa por los anticuerpos candidatos a las líneas celulares ensayadas. Se compararon los histogramas de células teñidas con anticuerpos anti-ASIC1 con los de células teñidas únicamente con anticuerpo secundario. Se calculó el porcentaje de ASIC1 con respecto al anticuerpo secundario solo usando el programa informático FlowJo (Tree Star, Ashland, OR). Las muestras teñidas con anticuerpos anti-ASIC1 se registraron como positivas en el FACS cuando se aplicó una puerta (gate) mayor del 10 %.

Las muestras teñidas con anticuerpos anti-ASIC1 se registraron como negativas en el FACS cuando se aplicó una puerta (gate) menor del 1 %. Las muestras teñidas con anticuerpos anti-ASIC1 se registraron como débiles cuando se aplicó una puerta (gate) entre el 1 % y el 10 %. Las especificidades de unión de los anticuerpos anti-ASIC1 a células 3T3/hASIC1, células 3T3/mASIC1a y células ND7 se resumen en la Tabla 2 (ND = no determinado).

5

Tabla 2: Especificidad de unión de anticuerpos anti-ASIC1 determinada por FACS

Anticuerpo	Unión FACS a 3T3/hASIC1	Unión FACS a 3T3/mASIC1a	Unión FACS a células ND7 no diferenciadas	Unión FACS a células ND7 diferenciadas
H1M6712N	Positiva	ND	ND	ND
H3M6721N	Positiva	Positiva	Negativa	ND
H1M6718N	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
H4H6372P	Negativa	ND	ND	ND
H4H6374P	Negativa	ND	ND	ND
H4H6375P	Negativa	ND	ND	ND
H4H6379P	Negativa	ND	ND	ND
H4H6380P	Negativa	ND	ND	ND
H4H6381P	Negativa	ND	ND	ND
H4H6383P	Negativa	ND	ND	ND
H4H6362P	Negativa	ND	ND	ND
H4H6363P	Positiva	ND	ND	ND
H4H6364P	Positiva	ND	ND	ND
H1M7101N	Positiva	Positiva	Positiva	ND
H1M6716N	Positiva	ND	ND	ND
H3M6726N	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
H3M6720N	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa
H3M6713N	Positiva	ND	ND	ND
H3M7102N	Positiva	Positiva	Positiva	ND
H3M6760N	Positiva	ND	ND	ND
H2M7103N	Positiva	Positiva	Negativa	Negativa
H3M6715N	Positiva	ND	ND	ND
H3M7118N	Positiva	Débil	Débil	Positiva
H4H6366P	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
H4H6721N2	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva

También se examinó la afinidad de unión de anticuerpos seleccionados a células 3T3/hASIC1 por FACS usando múltiples concentraciones de anticuerpo (67 nM, 6,7 nM, 0,67 nM, 67 pM y 6,7 pM) a partir de la cual se calcularon los valores de CE₅₀ aproximados. A la señal de intensidad media de fluorescencia (MFI) observada para los anticuerpos anti-ASIC1 se le restó la señal de fondo (anticuerpo secundario solo) y se representó como una función de la concentración de anticuerpo para determinar los valores de CE₅₀ usando GraphPad Prism (Tabla 3).

10

Tabla 3: Valores de CE₅₀ para la unión de anticuerpos anti-ASIC1 seleccionados a células 3T3/hASIC1

Anticuerpo	CE ₅₀
H1M6712N	< 100 pM
H3M6721N	85 pM
H1M6718N	550 pM
H4H6363P	836 pM
H3M6713N	215 pM
H3M6715N	72 pM
H1M6716N	23 pM
H3M6720N	1,1 nM
H3M6726N	2,6 nM
H3M6760N	853 pM
H1M7101N	720 pM
H3M7102N	5,4 nM
H3M7118N	> 67 nM
H2M7103N	1,7 nM
H4H6364P	1,5 nM
H4H6366P	1,0 nM
H4H6721N2	1,7 nM

Como se muestra en la Tabla 2, diecisiete de los 25 anticuerpos ensayados demostraron unión específica a la línea celular 3T3/hASIC1; ocho de 10 anticuerpos ensayados demostraron unión positiva a las células 3T3/mASIC1a; seis de 10 anticuerpos ensayados demostraron unión positiva a la línea celular ND7 no diferenciada; y cinco de 7 anticuerpos ensayados demostraron unión positiva a la línea celular ND7 diferenciada. De forma destacable, un anticuerpo (H3M7118N) demostró una unión débil a las líneas celulares tanto 3T3/mASIC1a como ND7 no diferenciada pero positiva a las células 3T3/hASIC1. Como se muestra en la Tabla 3, los anticuerpos anti-ASIC1 ensayados a múltiples concentraciones de anticuerpo demostraron unión por FACS de alta afinidad con valores aproximados de CE₅₀ de tan solo 23 pM para la unión a las células 3T3/hASIC1.

Ejemplo 4. Los anticuerpos anti-ASIC1 bloquean la señalización celular mediada por ácido en un ensayo celular de flujo de calcio

Para caracterizar el bloqueo funcional de la señalización celular mediada por ácido por anticuerpos anti-ASIC1, se puso en práctica un ensayo que mide el flujo de calcio celular, usando una línea celular HEK293 CL:1F10 (1F10), que se transfeció de manera transitoria para expresar ASIC1 humano (aminoácidos 1-528 del número de acceso del NCBI NP_0010862.2 [SEQ ID NO: 401]). Esta línea celular se creó a partir de la línea parental HEK293/D9 que se transfeció de manera estable para expresar Par2 humano. Se incubaron células transfectadas a 37 °C, con 5 % de CO₂ durante 2 días, antes de volver a cultivar en una placa de ensayo de 96 pocillos de fondo transparente a una concentración de 100.000 células por pocillo. Se dejó que las células se adhirieran a la placa a temperatura ambiente durante 20 minutos y después se incubaron durante una noche a 37 °C, con un 5 % de CO₂.

Se usó el kit de ensayo de calcio Fluo-4 NW (Invitrogen, n.º F36206) para determinar el nivel de flujo de calcio intracelular dentro de células activado por tampones de bajo pH. Se preparó tampón de ensayo de acuerdo con las especificaciones del fabricante. Se añadieron cincuenta µl de probenecid (77 µg/ul) a 5 ml de tampón C (HBSS 2x), que después se añadió al componente A (colorante Fluo-4). Se diluyeron anticuerpos anti-ASIC1 en el colorante Fluo-4 a una concentración de 250 nM para el ensayo de bloqueo de un solo punto. Los anticuerpos que bloqueaban el flujo de calcio estimulado por tampones de bajo pH se caracterizaron adicionalmente en este ensayo usando múltiples concentraciones de anticuerpo. Se diluyeron anticuerpos anti-ASIC1 a una concentración de 250 nM en el colorante y se usó una serie de dilución 1:3 de 8 puntos (que varaba de 250 a 0,1 nM) para determinar la CI₅₀ de bloqueo de cada anticuerpo. Se retiró el medio de cultivo celular de la placa de ensayo que contenía células y después se añadieron 50 µl del colorante Fluo-4 que contenía anticuerpo anti-ASIC1. Las placas se incubaron a 37 °C, con un 5 % de CO₂ durante 1 hora antes de la lectura por FLIPR Tetra (Molecular Devices).

35

El pH del tampón C se ajustó a pH 5,0 o pH 5,5 y se añadió a una placa de depósito antes de la adición a las células. En el FLIPR Tetra después se añadieron 50 µl del tampón de bajo pH desde la placa de depósito a las células en la placa de ensayo a una velocidad de 50 µl por segundo. La señal de calcio producida por cada pocillo durante 10 segundos antes de la adición de tampón (prelectura) y durante 100 segundos después de la adición de tampón se midió por FLIPR Tetra usando una configuración de longitud de onda de excitación de 470-490 nm y una configuración de longitud de onda de emisión de 515-575 nm. Se calculó la diferencia entre el valor máximo observado obtenido después de la adición del tampón y el valor mínimo durante el ensayo entero incluyendo tanto la prelectura como la lectura después de la adición del tampón y se representó en un gráfico usando GraphPad Prism. Los resultados se muestran en las tablas 4 y 5.

5

10

Tabla 4: Bloqueo de flujo de calcio celular mediado por ácido por 250 nM de anticuerpos anti-ASIC1 a pH 5,5 y 5,0

FLIPR		
	Un solo punto 250 nM	
Anticuerpo	pH 5,5	pH 5,0
H1M6712N	Débil	Neg
H3M6721N	Pos	Pos
H1M6718N	Pos	Pos
H1M7101N	Neg	Neg
H1M6716N	Débil	Débil
H3M6726N	Neg	Neg
H3M6720N	Neg	Neg
H3M6713N	Débil	Débil
H3M7102N	Neg	Neg
H3M6760N	Pos	Débil
H2M7103N	Neg	Neg
H3M6715N	Débil	Débil
H3M7118N	Neg	Neg
H4H6372P	Débil	Neg
H4H6374P	Débil	Neg
H4H6375P	Débil	Débil
H4H6379P	Neg	Neg
H4H6380P	Débil	Neg
H4H6381P	Débil	Neg
H4H6383P	Neg	Neg
H4H6362P	Neg	Neg
H4H6363P	Neg	Neg
H4H6364P	Neg	Neg
H4H6366P	Neg	Neg

Tabla 5: Bloqueo dependiente de la dosis del flujo de calcio celular mediado por ácido por anticuerpos anti-ASIC1 a pH 5,5 y 5,0

Anticuerpo	Curva de dosis de FLIPR			
	% de Bloqueo a pH 5,5	CI ₅₀ nM a pH 5,5	% de Bloqueo a pH 5,0	CI ₅₀ nM a pH 5,0
H1M6712N	64 %	6 nM	10 %, No dep. de la dosis	No dep. de la dosis
H3M6721N	44 %	0,3 nM	25 %	CI*
H1M6718N	78 %	0,6 nM	48 %	CI*
H3M6713N	63 %	0,2 nM	23 %, No dep. de la dosis	No dep. de la dosis
H3M6715N	39 %	0,1 nM	10 %, No dep. de la dosis	No dep. de la dosis
H1M6716N	37 %	1,1 nM	25 %, No dep. de la dosis	No dep. de la dosis
H3M6760N	71 %	0,9 nM	56 %	1 nM
H4H6375P	27 %	0,1 nM	10 %, No dep. de la dosis	No dep. de la dosis
H4H6380P	Neg	Neg	Neg	Neg
H4H6381P	Neg	Neg	Neg	Neg

Como se muestra en la Tabla 4, dos de los 24 anticuerpos, H3M6721N y H1M6718N, mostraron un bloqueo mayor del 30 % del flujo de calcio (Pos) a una sola concentración de 250 nM tanto a pH 5,5 como a pH 5,0, y un anticuerpo (H3M6760N) mostró un bloqueo mayor del 30 % solo a pH 5,5. Doce de los 24 anticuerpos a pH 5,5 y 17 de los 24 anticuerpos a pH 5,0 ensayados a una sola concentración de 250 nM no mostraron bloqueo medible (Neg). Nueve de los 24 anticuerpos a pH 5,5 y 5 de los 24 anticuerpos a pH 5,0, ensayados a una sola concentración de 250 nM, mostraron una reducción en el flujo de calcio entre el 10 y el 30 % (Débil).

Como se muestra en la Tabla 5, ocho de los 10 anticuerpos ensayados con respecto al bloqueo dependiente de la dosis a pH 5,5 mostraron un porcentaje de bloqueo del flujo de calcio que variaba del 27 % al 78 % y valores de CI₅₀ que variaban de 0,1 nM a 6 nM. Dos de los anticuerpos ensayados con respecto al bloqueo del flujo de calcio dependiente de la dosis a pH 5,5, H4H6380P y H4H6381P, no mostraron un bloqueo medible. Dos de los 10 anticuerpos ensayados con respecto al bloqueo dependiente de la dosis a pH 5,0, H3M6721N y H1M6718N, mostraron un bloqueo del 25 % y del 48 % del flujo de calcio, respectivamente, pero no pudieron determinarse valores de CI₅₀ (CI*) a pesar de demostrar dependencia de la dosis. Uno de los 10 anticuerpos ensayados con respecto al bloqueo dependiente de la dosis a pH 5,0, H3M6760N, mostró un bloqueo del 56 % del flujo de calcio y un valor de CI₅₀ de 1 nM. Cinco de los 10 anticuerpos ensayados con respecto al bloqueo del flujo de calcio dependiente de la dosis a pH 5,0 no mostraron un bloqueo dependiente de la dosis, pero bloquearon entre el 10 % y el 25 % del flujo de calcio a cada una de las concentraciones de anticuerpo ensayadas. Dos de los 10 anticuerpos ensayados con respecto al bloqueo dependiente de la dosis a pH 5,0, H4H6380P y H4H6381P, no mostraron un bloqueo medible.

Ejemplo 5. Los anticuerpos anti-ASIC1 bloquean las corrientes iónicas de ASIC1 inducidas por ácido en un ensayo automático de pinzamiento de voltaje y pinzamiento de membrana [Q-Patch]

Se usó el Q-Patch (Sophion Bioscience, Inc., Ballerup, Dinamarca), un sistema automático de pinzamiento de membrana basado en microchip, para determinar la capacidad de los anticuerpos anti-ASIC1 para inhibir la corriente a través de ASIC1 humano en una línea celular HEK293 transfectada de manera estable que expresa el canal ASIC1 humano de longitud completa (HEK/hASIC1; aminoácidos 1-528 del número de acceso del NCBI NP_001086.2) o una corriente a través de ASIC1 de ratón en una línea celular 3T3 transfectada de manera estable que expresa el canal ASIC1a de ratón de longitud completa (3T3/mASIC1a; aminoácidos 1-526 del número de acceso del NCBI NP_033727).

Se cultivaron células HEK/hASIC1 en medio DMEM de alto contenido de glucosa, 10 % de suero fetal bovino (FBS), 1 % de aminoácidos no esenciales y 500 µg/ml de Geneticin® (Invitrogen, n.º 10131). Se cultivaron células 3T3/mASIC1a en medio DMEM de alto contenido de glucosa, 10 % de FBS, 1 % de penicilina / estreptomina / glutamina (Invitrogen, n.º 10378-016) y 400 µg/ml de Geneticin®. El día de los registros, se recogieron las células con solución de separación de células Detachin (Genlantis, San Diego, CA, n.º T100100), se centrifugaron y se resuspendieron en 1,4 ml de solución sin suero [medio CHO-SFM-II (Invitrogen, n.º 31033), HEPES 25 mM y 100 unidades/ml de penicilina/estreptomina]. Después, la suspensión celular se incubó en un agitador durante 40 minutos a temperatura ambiente (TA). En un experimento se procesaron en paralelo dos o tres anticuerpos anti-ASIC1 y un anticuerpo de control. Por lo tanto, al final de la incubación, la suspensión celular se distribuyó en 4 tubos

(aproximadamente 5×10^5 células en 300 μ l/tubo) y los anticuerpos se diluyeron a una concentración final de 100 nM directamente en los tubos para experimentos de un solo punto, o a un intervalo de concentraciones para experimentos de respuesta a la dosis y después se incubaron en un agitador durante 20 minutos a TA. Al final de la incubación, las células se cargaron en el Q-Patch.

5 Las células primero se perfundieron con un tampón a pH 7,4 (NaCl 140 mM, KCl 4 mM, MgCl₂ 1 mM, CaCl₂ 2 mM, glucosa 5 mM y HEPES 10 mM) que contenía un 0,2 % (p/v) de albúmina de suero bovino (tampón extracelular) y se añadió el anticuerpo de interés a una concentración final de 100 nM para experimentos de un solo punto, o a un intervalo de concentraciones para los experimentos de respuesta a la dosis, y se dejó incubar durante aproximadamente 3 minutos. Después, se indujo la corriente a través de ASIC1 humano durante un segundo mediante la adición del tampón extracelular ajustado a pH 6,0 mientras que las células se mantenían a un potencial de retención de -80 mV. Se añadió amilorida treinta μ M después de cada registro en el Q-Patch para demostrar que las células respondían a lo largo de la duración del ensayo. La composición de la solución de registro intracelular era CsCl 140 mM, MgCl₂ 4 mM, EGTA 10 mM y HEPES 10 mM; ajustada a pH 7,3 con CsOH.

15 Todos los anticuerpos anti-ASIC1 se ensayaron por cuadruplicado en paralelo con el anticuerpo de control irrelevante. Se midió el bloqueo del canal como un porcentaje de inhibición del flujo de corriente en presencia de anticuerpo anti-ASIC1 con respecto al flujo de corriente en presencia del anticuerpo de control irrelevante, promediado de múltiples experimentos de bloqueo. Los resultados se resumen en la Tabla 6.

20 **Tabla 6: Porcentaje de inhibición de corrientes a través de ASIC1 humano inducidas por ácido mediante anticuerpos anti-ASIC1 a 100 nM**

Anticuerpo	Número de pocillos ensayados	Concentración de anticuerpo (nM)	Inhibición de la corriente (%)
H1M6712N	10	100	0
H3M6715N	7	100	30
H3M6720N	7	100	82
H3M6726N	3	100	85
H3M6721N	14	100	100
H1M6718N	8	100	100
H4H6372P	4	100	0
H4H6374P	8	100	0
H4H6375P	5	100	0
H4H6379P	4	100	30
H4H6380P	5	100	0
H4H6381P	6	100	25
H4H6383P	4	100	15
H4H6362P	4	100	29
H4H6363P	4	100	0
H4H6364P	2	100	0
H4H6366P	8	100	72
H3M7099N	4	100	25
H1M7101N	4	100	97
H3M7102N	3	100	100
H2bM7103N	7	100	92
H3M7104N	7	100	35
H1M7117N	4	100	30

25 Como se muestra en la Tabla 6, diecisiete de los 23 anticuerpos ensayados a 100 nM en el Q-Patch demostraron inhibición funcional de la corriente a través de ASIC1 humano, mostrando 9 de los 17 anticuerpos un bloqueo mayor

5 del 70 %. Once anticuerpos (H1M6718N, H3M6720N, H3M6721N, H3M6726N, H4H6366P, H1M7101N, H3M7102N, H2bM7103N, H3M7118N, H4H6718N y H4H6721N2) se ensayaron adicionalmente con respecto a su capacidad de inhibir la corriente a través de ASIC1 humano a diferentes concentraciones en el Q-Patch, y nueve anticuerpos (H4H6718N, H3M6720N, H3M6721N, H1M7101N, H3M7102N, H2bM7103N, H3M6726N, H4H6366P y H3M7118N) se ensayaron con respecto a su capacidad de inhibir la corriente a través de ASIC1 de ratón. El porcentaje de bloqueo observado para estos anticuerpos se resume en la Tabla 7 (ASIC1 humano) y en la Tabla 8 (ASIC1 de ratón).

Tabla 7: Porcentaje de inhibición de corrientes a través de ASIC1 humano inducidas por ácido a diversas concentraciones de anticuerpo

Anticuerpo	Número de pocillos ensayados	Concentración de anticuerpo (nM)	% Inhibición de corriente \pm SEM
H1M6718N	4	100	100 \pm 0
	18	10	99 \pm 1
	13	1	63 \pm 13
	8	0,1	0 \pm 0
H3M6720N	13	100	83 \pm 9
	8	50	88 \pm 6
	3	10	70
	4	1	0
H3M6721N	14	100	100
	8	50	100
	11	10	75 \pm 10
	6	1	30
H3M6726N	14	100	77 \pm 3
	12	10	30 \pm 11
	7	1	15 \pm 15
H4H6366P	7	100	76 \pm 6
	6	10	53 \pm 8
	7	1	38 \pm 15
H1M7101N	4	100	97
	10	10	99 \pm 0,7
	4	5	96
H3M7102N	10	1	57 \pm 18
	4	0,1	7
	4	100	99
H2bM7103N	8	10	96 \pm 1
	3	5	35
	10	1	0 \pm 0
H3M7118N	7	100	96 \pm 3
	3	50	96
	5	10	61 \pm 15
H4H6718N	4	1	0
	2	100	99

Anticuerpo	Número de pocillos ensayados	Concentración de anticuerpo (nM)	% Inhibición de corriente ± SEM
	2	10	89
H3M7118N	2	1	30
	7	10	100
	6	5	98 ± 2
	3	1	97
	8	0,6	66 ± 6
	4	0,3	54
H4H6718N	4	0,1	12
	7	10	95 ± 2
	13	5	93 ± 1
	7	1	59 ± 10
	8	0,6	32,7 ± 0,1
	3	0,3	40
H4H6721N2	4	0,1	1

Tabla 8: Porcentaje de inhibición de corrientes de ASIC1a de ratón inducidas por ácido a diversas concentraciones de anticuerpo a través de ASIC1 a de ratón inducidas por ácido a diversas concentraciones de anticuerpo

Anticuerpo	Número de pocillos ensayados	Concentración de anticuerpo (nM)	% Inhibición de corriente ± SEM
	10	10	90
	4	5	98
	3	2	96
	3	1	71
	9	0,3	36 ± 3
H4H6718N	2	0,1	20
	4	100	83
H3M6720N	4	50	83
	3	10	46
	4	5	19
	10	1	12 ± 3
	6	0,1	21 ± 8
	4	100	91
	3	10	57
H3M6721N	4	1	0
	8	25	99 ± 1
H4H6721N2	7	10	62
H1M7101N	4	100	90
H3M7102N	4	100	100

Anticuerpo	Número de pocillos ensayados	Concentración de anticuerpo (nM)	% Inhibición de corriente \pm SEM
H2bM7103N	8	100	67 \pm 2
	3	50	77
	3	10	30
	2	5	32
	10	1	33 \pm 5
	7	0,1	3 \pm 1
H3M6726N	4	100	51
	3	50	38
	3	5	23
	4	1	3
H4H6366P	1	100	46
	4	10	30
	3	5	28
	4	1	10
H3M7118N	7	100	92 \pm 3
	3	50	87
	8	10	36 \pm 23
	4	5	12
	6	1	6 \pm 6

Como se muestra en la Tabla 7, un anticuerpo, H3M6726N, bloqueó la corriente a través de ASIC1 humano con una CI_{50} aparente mayor de 10 nM, mientras que seis anticuerpos (H3M6720N, H3M6721N, H4H6366P, H3M7102N, H2bM7103N y H3M7118N) bloquearon la corriente a través de ASIC1 humano con una CI_{50} aparente de 10 nM o menor. Cuatro de los anticuerpos, H1M6718N, H1M7101N, H4H6718N y H4H6721N2, bloquearon la corriente a través de ASIC1 humano con una CI_{50} aparente menor de 1 nM.

Como se muestra en la Tabla 8, seis de los 10 anticuerpos anti-ASIC1 (H4H6718N, H3M6721N, H4H6721N2, H1M7101N, H3M7102N y H3M7118N) ensayados en células que expresaban ASIC1 de ratón inhibieron del 90 al 100 % de la corriente a través de ASIC1 de ratón a la máxima concentración de anticuerpo ensayada, mientras que cuatro anticuerpos (H3M6720N, H3M6726N, H4H6366P y H2bM7103N) solo inhibieron la corriente aproximadamente en un 80 % o menos. H3M7118N, H2bM7103N, H3M6720N y H3M6721N bloquearon la corriente a través de ASIC1 de ratón con una CI_{50} aparente menor de 25 nM. H4H6718N bloqueó la corriente a través de ASIC1 humano con una CI_{50} aparente menor de 1 nM.

El Q-Patch también se usó para determinar la capacidad del anticuerpo anti-ASIC1 H4H6718N para inhibir la corriente de ASIC1 en la línea celular ND7/23 (ECACC, n.º 92090903), que es una línea celular de fusión de neuroblastoma de ratón y ganglio de raíz dorsal de rata que expresa de manera endógena ASIC1 de rata.

Se cultivaron células ND7/23 en medio DMEM de alto contenido de glucosa que contenía un 10 % de FBS, glutamina 2 mM y un 1 % de penicilina-estreptomicina (Invitrogen, n.º 10378-016). El día después de la siembra, las células ND7/23 se diferenciaron reemplazando el medio de cultivo por medio de bajo contenido de suero (0,5 % de FBS) que contenía dibutiril-AMPc 1 mM (Santa Cruz, # sc-201567A). El día de los registros, las células se recogieron usando reactivo de disociación de células StemPro Accutase (Invitrogen, n.º A11105-01), se centrifugaron y se resuspendieron en 1 ml de solución de tampón extracelular. La suspensión celular después se cargó en el Q-Patch.

Las células primero se perfundieron con una solución tampón extracelular a pH 7,4 (NaCl 140 mM, KCl 4 mM, MgCl₂ 1 mM, CaCl₂ 2 mM, glucosa 5 mM y HEPES 10 mM, ajustada a pH 7,4 con NaOH) que contenía un 0,2 % (p/v) de albúmina de suero bovino durante 6 minutos para estabilizar el parche. Después se indujo la corriente a través de ASIC1 de rata durante un segundo mediante la adición del tampón extracelular, que se ajustó a pH 6,0, mientras las células se mantenían a un potencial de retención de -80 mV. La corriente a través de ASIC1 de rata se indujo 2 veces

en tampón extracelular a pH 6 y después 2 veces más en el mismo tampón extracelular que contenía 10 nM de un anticuerpo de control de isotipo o 10 nM del anticuerpo anti-ASIC1 (H4H6718N, H3M6720N, H2bM7103N, H3M6726N, H4H6366P y H3M7118N). Después de los registros de anticuerpo anti-ASIC1, se añadió una concentración 10 nM del antagonista selectivo de ASIC1 PcTx1 (Alomone Labs, n.º STP-200) a las células para evaluar la contribución de corrientes específicas de ASIC1 a la corriente inducida por tampón extracelular a pH 6. La composición de la solución de registro intracelular era CsF 120 mM, NaCl 15 mM, EGTA 10 mM y HEPES 10 mM; ajustada a pH 7,3 con CsOH.

El bloqueo de los canales se midió como el porcentaje de inhibición del flujo de corriente en presencia de anticuerpo anti-ASIC1 con respecto al flujo de corriente medido antes de la aplicación del anticuerpo y se comparó con el porcentaje de inhibición del flujo de corriente en presencia de PcTx1, que se usó para definir el máximo bloqueo de corriente específico de ASIC1. Los resultados se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9: Porcentaje de inhibición de corrientes a través de ASIC1a de rata inducidas por ácido en células ND7 por anticuerpos anti-ASIC1

Anticuerpo	Número de pocillos ensayados	Concentración de anticuerpo (nM)	Porcentaje de inhibición de corriente ± SEM
H4H6718N	9	10	100
H3M6720N	4	10	43 ± 15
H2bM7103N	5	10	26 ± 14
H3M6726N	5	10	7 ± 6
H4H6366P	3	10	36 ± 20
H3M7118N	10	10	65 ± 11
Control de Isotipo	21	10	15 ± 3

Como se muestra en la Tabla 9, H4H6718N demostró una inhibición del 100 % de las corrientes a través de ASIC1 de rata en células ND7/23 diferenciadas a una concentración de 10 nM (n = 9) mientras que H3M6720N y H3M7118N inhibieron la corriente aproximadamente en un 43 % y 65 %, respectivamente. Tres anticuerpos (H2bM7103N, H3M6726N y H4H6366P) no demostraron una inhibición significativa de las corrientes a través de ASIC1 de rata a 10 nM en estos experimentos.

Ejemplo 6. Un anticuerpo anti-ASIC1 bloquea las corrientes iónicas de ASIC1 inducidas por ácido en un ensayo automático de pinzamiento de voltaje y pinzamiento de membrana [Port-A-Patch]

Se usó el Port-a-Patch (Nanion Technologies Inc., North Brunswick, NJ), un sistema automático de pinzamiento de membrana basado en microchip, para determinar la concentración inhibitoria semimáxima (CI₅₀) del anticuerpo anti-ASIC1 H1M6718N necesaria para inhibir la corriente a través de ASIC1 humano en una línea celular HEK293 transfectada de manera estable que expresa el canal ASIC1 humano de longitud completa (HEK/hASIC1; aminoácidos 1-528 del número de acceso del NCBI NP_001086.2).

Se cultivaron células HEK/hASIC1 en medio DMEM de alto contenido de glucosa, 10% de suero fetal bovino, 1 % de aminoácidos no esenciales y 500 µg/ml de Geneticin® (Invitrogen, n.º 10131). El día de los registros, se recogieron las células con solución de separación de células Detachin (Genlantis, San Diego, CA, n.º T100100), se centrifugaron y se resuspendieron en 500 µl de solución de tampón extracelular (NaCl 140 mM, KCl 4 mM, MgCl₂ 1 mM, CaCl₂ 2 mM, glucosa 5 mM y HEPES 10 mM, pH 7,4 con NaOH). La suspensión celular después se cargó en el Port-a-Patch.

Las células primero se perfundieron con tampón extracelular a pH 7,4 que contenía un 0,1 % (p/v) de albúmina de suero bovino durante aproximadamente 5 minutos para estabilizar el parche. Después, se indujo la corriente a través de ASIC1 humano durante tres segundos mediante la adición del tampón extracelular ajustado a pH 6,0 mientras que las células se mantenían a un potencial de retención de -80 mV. La corriente a través de ASIC1 humano se indujo 3 veces (separadas por 2 minutos) en tampón extracelular a pH 6,0 y 3 veces en tampón extracelular a pH 6,0 que contenía 100 nM de un anticuerpo de control de isotipo o 10, 3, 1, 0,8 o 0,6 nM del anticuerpo anti-ASIC1 H1M6718N. Se añadió amilorida treinta µM en tampón extracelular a pH 6 después de finalizar las mediciones estimuladas por el pH para demostrar que las células respondían a lo largo de la duración del ensayo. La composición de la solución de registro intracelular era CsF 120 mM, NaCl₂ 15 mM, EGTA 10 mM y HEPES 10 mM; ajustada a pH 7,3 con CsOH.

Se midió el bloqueo del canal como un porcentaje de inhibición del flujo de corriente en presencia de anticuerpo anti-ASIC1 con respecto al flujo de corriente antes de la aplicación del anticuerpo. Esto se promedió a partir de múltiples experimentos de bloqueo.

El porcentaje de bloqueo de la corriente a través de ASIC1 humano por concentraciones 10, 3, 1, 0,8 y 0,6 nM de

H1M6718N se resume en la Tabla 10.

Tabla 10: Porcentaje de inhibición de corriente a través de ASIC1 humano por un anticuerpo anti-ASIC1 a diversas concentraciones

Anticuerpo	Número de pocillos ensayados	Concentración de anticuerpo (nM)	% Inhibición de corriente \pm SEM
H1M6718N	3	10	94 \pm 1
	3	3	86 \pm 7
	4	1	76 \pm 6
	3	0,8	33 \pm 6
	4	0,6	17 \pm 9
Control de isotipo	3	100	0

5 H1M6718N mostró una inhibición dependiente de la dosis de la corriente a través de ASIC1 humano con una CI_{50} calculada de 860 pM, mientras que el anticuerpo de control de isotipo no mostró inhibición de la corriente a una concentración de 100 nM.

10 **Ejemplo 7. Un anticuerpo anti-ASIC1 reduce las respuestas de dolor visceral en un modelo de ratón**

En este ejemplo, se evaluó la capacidad del anticuerpo anti-ASIC1 H1M6718N para atenuar el dolor visceral en un modelo de constricciones abdominales inducidas por ácido acético. En este experimento se usaron ratones C57BL/6 de tipo silvestre de Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME). Cohortes separadas de ratones (n=10) recibieron 10 mg/kg (s.c.) de un mAAb de control de isotipo o 1 o 10 mg/kg (s.c.) de H1M6718N. Veinticuatro horas después de dosificar el anticuerpo, todas las cohortes recibieron una inyección intraperitoneal de ácido acético al 0,6 %, que produjo comportamientos estereotipados de estiramiento abdominal (por ejemplo, constricciones) que se contaron por un observador desconocedor de los tratamientos durante hasta 30 minutos después de la inyección. Los resultados de este experimento, expresados en términos del porcentaje de cambio en el número total de constricciones abdominales, se muestran en la Tabla 11 (todos los datos se representan como media \pm SEM).

Tabla 11: Efecto de anticuerpo anti-ASIC1 sobre constricciones abdominales inducidas por inyección de ácido acético

Dosis de H1M6718N	Porcentaje de cambio en constricciones abdominales con respecto al control
1	-32,06 \pm 15,8
10	-46,57 \pm 19,3

25 Este ejemplo demuestra que el anticuerpo anti-ASIC1 (H1M6718N) que, según se mostró, bloqueaba de manera potente las corrientes iónicas de ASIC1 inducidas por ácido (véanse los Ejemplos 4 a 6), era eficaz en el alivio de las respuestas de dolor visceral inducidas por ácido en un modelo de ratón.

30 **Ejemplo 8. Un anticuerpo anti-ASIC1 produce analgesia ante un estímulo mecánico nocivo en un modelo de ratón**

En este ejemplo, se evaluó la capacidad de un anticuerpo anti-ASIC1 (H1M6718N) para producir analgesia en respuesta a estímulos nocivos de pellizco/presión.

35 En este experimento se usaron ratones C57BL/6 de tipo silvestre de Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME). Cohortes separadas de ratones recibieron 1, 10 o 40 mg/kg (s.c.) de H1M6718N, o 10 mg/kg (s.c.) de un anticuerpo de control de isotipo. Veinticuatro horas después de la dosificación de anticuerpo, se ensayaron en cohortes separadas (n=10) sus umbrales de nocicepción mecánica, que se midieron por el umbral de retirada ante un pellizco del músculo gastrocnemio o de la cola (Modelo n.º 2455, IITC Life Science, Woodland Hills, CA). La nocicepción mecánica en la cola se midió en ratones tratados con 1 mg/kg y 10 mg/kg de H1M6718N además de los tratados con un control de isotipo. La nocicepción mecánica en el músculo gastrocnemio se midió en ratones tratados con 10 mg/kg y 40 mg/kg de H1M6718N además de los tratados con un control de isotipo. Los resultados de estos experimentos, expresados como umbral de retirada ante el pellizco en gramos (media \pm SEM para cada cohorte de ratones), se muestran en la Figura 1, paneles A y B.

45 En ambos experimentos, el tratamiento con H1M6718N produjo un aumento significativo en el umbral de retirada a la máxima dosis de anticuerpo ensayada (10 mg/kg en el experimento de la cola [Figura 1, panel A] y 40 mg/kg en el

experimento del músculo gastrocnemio [Figura 1, panel B]) en comparación con el control de isotipo, según se determina por ANOVA ($p=0,0015$ en el caso de la cola $0,0228$ en el caso del músculo gastrocnemio) y por la prueba post-hoc de Bonferonni ($* = p<0,05$).

5 **Ejemplo 9. Un anticuerpo anti-ASIC1 atenúa el dolor muscular en modelos de ratón**

En este ejemplo se evaluó la capacidad de anticuerpos anti-ASIC1 H1M6718N y H4H6721N2 para atenuar el dolor muscular debido a la inyección de solución salina ácida (pH 5,5) o carragenina al 3 %. En estos experimentos se usaron ratones C57BL/6 de tipo silvestre de Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME).

10 En un primer experimento, cohortes separadas de ratones recibieron 10 mg/kg (s.c.) de un anticuerpo de control de isotipo o 10 mg/kg (s.c.) de H1M6718N. Veinticuatro horas después de la dosificación de los anticuerpos, todos los ratones recibieron una inyección intramuscular de solución salina ácida (pH 5,5) en el músculo gastrocnemio, que produjo una fuerte hiperalgesia mecánica primaria de varios días, según se midió por el umbral de retirada ante un pellizco del músculo (Modelo n.º 2455, IITC Life Science, Woodland Hills, CA). Los resultados se muestran en la Figura 2.

20 En un segundo experimento, cohortes separadas de ratones recibieron 10 mg/kg (s.c.) de un mAb de control de isotipo; 10 o 40 mg/kg (s.c.) de H1M6718N; o 10 o 30 mg/kg (s.c.) de H4H6721N2. Veinticuatro horas después de la dosificación de los anticuerpos, todos los ratones recibieron una inyección intramuscular de carragenina al 3 % (p/v) en el músculo gastrocnemio, que produjo una fuerte hiperalgesia mecánica primaria de varios días, según se midió por el umbral de retirada ante un pellizco del músculo (Modelo n.º 2455, IITC Life Science, Woodland Hills, CA). Los resultados se muestran en las Figuras 3A (10 y 40 mg/kg de H1M6718N) y 3B (10 y 30 mg/kg de H4H6721N2).

25 Los resultados de estos experimentos, como se muestra en las Figuras 2 y 3, se expresan en términos del porcentaje de cambio en el umbral de retirada desde el punto de referencia (todos los datos se representan como media \pm SEM). En ambos experimentos, se observó un efecto principal significativo del tratamiento con H1M6718N mediante ANOVA con medidas repetidas ($p=0,0363$ para solución salina ácida y $0,0193$ para carragenina). Para el segundo experimento, se observó un efecto principal significativo del tratamiento con H1M6721 N2 mediante ANOVA con medidas repetidas ($p = 0,0018$). $* = p<0,05$ y $** = p <0,01$ por la prueba post-hoc de Bonferonni para el punto de tiempo dado. Por lo tanto, los dos anticuerpos demuestran una eficacia sustancial en el alivio del dolor muscular en los sistemas experimentales usados en el presente documento.

35 **Ejemplo 10. Eficacia de anticuerpo anti-ASIC1 en un modelo de dolor de tipo neuropático inducido por quimioterapia**

40 En este ejemplo se evaluó la capacidad del anticuerpo anti-ASIC1 H4M6718N para atenuar el dolor de tipo neuropático resultante de la exposición sistémica al agente quimioterapéutico taxol. En estos experimentos se usaron ratones C57BL/6 de tipo silvestre de Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME). Después del ensayo de comportamiento inicial, todos los ratones recibieron un régimen de taxol (4 mg/kg, un día sí y otro no durante un total de 4 dosis) antes de iniciar la dosificación terapéutica. Cohortes separadas de ratones recibieron 30 mg/kg (s.c.) de un mAb de control de isotipo, 30 mg/kg (s.c.) de H1M6718N o 100 mg/kg (s.c.) de gabapentina. Los anticuerpos se administraron 24 horas antes de cada ensayo de comportamiento semanal y se administró gabapentina 2 horas antes de cada ensayo de comportamiento semanal. Se midió la alodinia táctil en todas las cohortes usando filamentos de von Frey (n.º 58011, Stoelting Co., Wood Dale, IL) de acuerdo con el método «up-down» de Dixon (Chaplan et al., J Neurosci Methods. 53(1):55-63). Los resultados de este experimento se muestran en la Figura 4 (todos los datos se representan como media \pm SEM).

50 Tal y como se ilustra en la figura 4, se observó un efecto principal significativo tanto del tratamiento con H1M6718N como del tratamiento con gabapentina en comparación con la cohorte de control de isotipo mediante ANOVA con medidas repetidas ($p=0,0003$ para H4H6718N, $p<0,00001$ para gabapentina). Por lo tanto, este ejemplo sugiere que los anticuerpos anti-ASIC1 de la presente invención son muy eficaces en el alivio de las respuestas de dolor inducidas por quimioterapia.

55 En conjunto, los resultados de los ejemplos anteriores confirman el uso de anticuerpos bloqueantes anti-ASIC1 para el tratamiento de una diversidad de afecciones dolorosas.

60 El alcance de la presente invención no debe limitarse a las realizaciones específicas descritas en el presente documento. De hecho, a partir de la descripción anterior y de las figuras adjuntas, diversas modificaciones de la invención, además de las descritas en este documento, serán obvias para los expertos en la técnica. Se pretende incluir dichas modificaciones dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

LISTADO DE SECUENCIAS

65 <110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.

<120> ANTICUERPOS ANTI-ASIC1 Y USOS DE LOS MISMOS

<130> 7250A-WO

5 <140> Por asignar
<141> Presentado en este documento

<150> 61/592.837
<151> 31-01-2012

10 <150> 61/644.038
<151> 08-05-2012

15 <150> 61/692.925
<151> 24-08-2012

<160> 401

20 <170> FastSEQ para Windows Versión 4.0

<210> 1
<211> 348
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

25 <220>
<223> Sintético

30 <400> 1

```

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgaa gtgaagaagc ctggggcctc aatgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggata caccttcacc atttatgata tcaactgggt gcgccaggcc 120
actggacaag ggcttgagtg gatgggggtg atgaacccta ggagtggtag cacaggctat 180
tcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accaggaaca cctccataaa cacagccttc 240
atggaactga gtagcctcag gtctgatgac acggccgtgt attactgtgt gagagggcaa 300
ctcgtcctgg gctactgggg ccaggggaacc ctggtcaccg tctcctca 348
    
```

35 <210> 2
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223> Sintético

<400> 2

ES 2 707 599 T3

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

Val	Arg	Gly	Gln	Leu	Val	Leu	Gly	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
			100					105					110		
Thr	Val	Ser	Ser												
			115												

5 <210> 3
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 3
 ggatacacct tcaccattta tgat 24

15 <210> 4
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 4

Gly Tyr Thr Phe Thr Ile Tyr Asp
 1 5

25 <210> 5
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 5
 atgaacccta ggagtggtag caca 24

40 <210> 6
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 6

ES 2 707 599 T3

Met Asn Pro Arg Ser Gly Ser Thr
 1 5

5 <210> 7
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 7
 gtgagagggc aactcgtcct gggctac 27

15 <210> 8
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 8

Val Arg Gly Gln Leu Val Leu Gly Tyr
 1 5

25 <210> 9
 <211> 339
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

35 <400> 9

gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
 atcaactgca agtccagcca gagtgttgta tacagttcca cccctaagaa ctacttagct 120
 tggtaaccagc agaaaccagg acagcctcct aaactgctca tttactgggc atctaccgg 180
 gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc cgcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
 atcagcagcc tgcaggctga agatgtggcg gtttattact gtcagcaata tttttctact 300
 ccgtacactt ttggccaggg gaccaagctg gagatcaaa 339

40 <210> 10
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético

<400> 10

ES 2 707 599 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	Val	Tyr	Ser
			20					25					30		
Ser	Thr	Pro	Lys	Asn	Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln
		35					40					45			
Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Trp	Ala	Ser	Thr	Arg	Glu	Ser	Gly	Val
		50				55					60				
Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Arg	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	Phe	Ser	Thr	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile
			100					105					110		

Lys

5 <210> 11
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 11
 cagagtgtg tatacagttc caccctaag aactac 36

15 <210> 12
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 12

Gln	Ser	Val	Val	Tyr	Ser	Ser	Thr	Pro	Lys	Asn	Tyr
1				5					10		

25 <210> 13
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 13
 tgggcatct 9

40 <210> 14
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 14

ES 2 707 599 T3

Trp Ala Ser
1

5 <210> 15
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 15
cagcaatatt tttctactcc gtacact 27

15 <210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 16

Gln Gln Tyr Phe Ser Thr Pro Tyr Thr
1 5

25 <210> 17
<211> 348
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

35 <400> 17

```

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcttgcaagg cttctggata caccttcacc atttatgata tcaactgggt gcgccaggcc 120
actggacaag ggcttgagtg gatgggggtg atgaacccta ggagtggtag cacaggctat 180
tcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accaggaaca cctccataaa cacagccttc 240
atggagctga gtagcctcag atctgaggac acggccgtct attactgtgt gagagggcaa 300
ctogtctctgg gctactgggg ccaggggaacc ctggtcaccg totctca 348
    
```

40 <210> 18
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

45 <400> 18

ES 2 707 599 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	Ile	Tyr
			20					25					30		
Asp	Ile	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Thr	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
		35					40					45			
Gly	Trp	Met	Asn	Pro	Arg	Ser	Gly	Ser	Thr	Gly	Tyr	Ser	Gln	Lys	Phe
	50					55					60				
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asn	Thr	Ser	Ile	Asn	Thr	Ala	Phe
65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Val	Arg	Gly	Gln	Leu	Val	Leu	Gly	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
			100					105						110	
Thr	Val	Ser	Ser												
			115												

5 <210> 19
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 19
 ggatacacct tcaccattta tgat 24

15 <210> 20
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 20

Gly Tyr Thr Phe Thr Ile Tyr Asp
 1 5

25 <210> 21
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 21
 atgaacccta ggagtggtag caca 24

40 <210> 22
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 22

ES 2 707 599 T3

Met Asn Pro Arg Ser Gly Ser Thr
 1 5

5 <210> 23
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 23
 gtgagagggc aactcgtcct ggctac 27

15 <210> 24
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 24

Val Arg Gly Gln Leu Val Leu Gly Tyr
 1 5

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

<220>
 <223> Sintético

35 <400> 25

```

gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctggggcga gagggccacc 60
atcaactgca agtccagcca gagtgttgta tacagttcca aactaagaa ctacttagct 120
tggtagcagc agaaaccagg acagcctcct aacctgetca tttactgggc atctaccgg 180
gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc cgcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
atcagcagcc tgcaggctga agatgtggcg gtttattact gtcagcaata tttttctact 300
ccgtacactt ttggccaggg gaccaagctg gagatcaaa 339
  
```

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

45 <220>
 <223> Sintético

<400> 26

ES 2 707 599 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 Val Tyr Ser
 20 25 30
 Ser Asn Thr Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Pro Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Arg 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 Phe Ser Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110
 Lys

5 <210> 27
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 27
 cagagtgtg tatacagtc caacactaag aactac 36

15 <210> 28
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 28

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

25 <210> 29
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 29
 tggcatct 9

40 <210> 30
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 30

ES 2 707 599 T3

Trp Ala Ser
1

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

10 <220>
<223> Sintético

<400> 31
cagcaatatt ttctactcc gtacact 27

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

20 <220>
<223> Sintético

<400> 32

Gln Gln Tyr Phe Ser Thr Pro Tyr Thr
1 5

25 <210> 33
<211> 348
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 33

gaggtgcagc	tgttggagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggc	cctgagactc	60
tctgtgcag	cctctggatt	caccttagc	agctttgcca	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccaggaagg	gactggagt	ggtctcaggt	attagtggta	gtggtggtgg	cacacactac	180
gcagactccg	tgaaggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attogaagaa	catggtgtat	240
ctgcaaatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgcat	attactgtgc	gaaagaggcc	300
tataaatggc	agccctgggg	ccaggaacc	ctggtcaccg	tctctca		348

40 <210> 34
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 34

ES 2 707 599 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 Phe
 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 Ser Gly Gly Gly Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Met Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Glu Ala Tyr Lys Trp Gln Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

5 <210> 35
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 35
 ggattcacct ttagcagctt tgcc 24

15 <210> 36
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 36

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Ala
 1 5

25 <210> 37
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 37
 attagtggta gtggtggtgg caca 24

40 <210> 38
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 38

ES 2 707 599 T3

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr
 1 5

5 <210> 39
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 39
 gcgaaagagg cctataaatg gcagccc 27

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

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 40

Ala Lys Glu Ala Tyr Lys Trp Gln Pro
 1 5

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

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 41

```

gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcac 60
atcaactgcc gggccagtc gaggattagt agctggttgg cctggtatca acagaaacca 120
gggaaagccc ctaacctcct gatctataag gogtctatct tagaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt attcgtacac ttttggccag 300
gggaccaaac tggagatcaa a 321
  
```

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

45 <220>
 <223> Sintético

<400> 42

ES 2 707 599 T3

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

5 <210> 43
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético
 <400> 43
 cagaggatta gtagctgg 18

15 <210> 44
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético
 <400> 44

Gln Arg Ile Ser Ser Trp
 1 5

25 <210> 45
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 45
 aaggcgtct 9

40 <210> 46
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 46

ES 2 707 599 T3

Lys Ala Ser
1

5 <210> 47
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 47
caacagtata atagttattc gtacact 27

15 <210> 48
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 48

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Tyr Thr
1 5

25 <210> 49
<211> 348
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 49

```

gaggtgcagc tgttggcgtc tgggggaggc ttggtacaga ctgggggggc cctgagaactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt agctttgccca tgagctgggt ccgccagggt 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcaggt attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggccgcat attattgtgc gaaagaggcc 300
tataaatggc agccctgggg ccaggggaatc cgggtcacog tctcctca 348
    
```

40 <210> 50
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 50

ES 2 707 599 T3

Glu Val Gln Leu Leu Ala Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
 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 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 Ala Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Glu Ala Tyr Lys Trp Gln Pro Trp Gly Gln Gly Ile Arg Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

5 <210> 51
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 51
 ggattcacct ttagtagctt tgcc 24

15 <210> 52
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 52

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Ala
 1 5

25 <210> 53
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 53
 attagtggta gtggtgtag caca 24

40 <210> 54
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 54

ES 2 707 599 T3

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
1 5

5 <210> 55
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 55
gcgaaagagg cctataaatg gcagccc 27

15 <210> 56
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 56

Ala Lys Glu Ala Tyr Lys Trp Gln Pro
1 5

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

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 57

```

gacatccaga tgaccagtc tcctccacc ctgtctgctt ctgtgggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggccagtca gagtattagt agctggttgg cctggatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaacctcct gatctataag acgtctaatt tagaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cotgcagcct 240
gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt attogtacac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321
    
```

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

45 <220>
<223> Sintético

<400> 58

ES 2 707 599 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	Ser	Trp
			20					25					30		
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Asn	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Lys	Thr	Ser	Asn	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	Gln	Tyr	Asn	Ser	Tyr	Ser	Tyr
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys					
			100					105							

5 <210> 59
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 59
 cagagtatta gtagctgg 18

15 <210> 60
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 60

Gln Ser Ile Ser Ser Trp
 1 5

25 <210> 61
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 61
 aagacgtct 9

40 <210> 62
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 62

ES 2 707 599 T3

Lys Thr Ser
1

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

10 <220>
<223> Sintético

<400> 63
caacagtata atagttattc gtacact 27

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

20 <220>
<223> Sintético

<400> 64

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Tyr Thr
1 5

25 <210> 65
<211> 366
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 65

```

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctgaaactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt agcttttggg tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtggccaat ataaagcaaa atggaagtga gacatactat 180
gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acaccaagaa ctcactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctatat attactgtgc gagagggggg 300
cggatacagc tatgggtctag ctggtttcgac ccctggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360
tcctca 366
    
```

40 <210> 66
<211> 122
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 66

ES 2 707 599 T3

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

5 <210> 67
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 67
 ggattcacct ttagtagctt ttgg 24

15 <210> 68
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 68

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Trp
 1 5

25 <210> 69
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 69
 ataaagcaaa atggaagtga gaca 24

40 <210> 70
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 70

ES 2 707 599 T3

Ile Lys Gln Asn Gly Ser Glu Thr
 1 5

5 <210> 71
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 71
 gcgagagggg ggcggataca gctatggtct agctgggtcg acccc 45

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

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 72

Ala Arg Gly Gly Arg Ile Gln Leu Trp Ser Ser Trp Phe Asp Pro
 1 5 10 15

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

<220>
 <223> Sintético

35 <400> 73

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtcagcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattaaa aactatthaa attggtatca gcagaaatca 120
 gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 agggtcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaccct 240

gaagattttg cagcttacta ctgtcaacag agtttcagtg ccccgctcac tttcggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

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

45 <220>
 <223> Sintético

<400> 74

ES 2 707 599 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 Lys Asn Tyr
      20      25      30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
      35      40      45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Val Ser Gly
      50      55      60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu His Pro
65      70      75      80
Glu Asp Phe Ala Ala Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Phe Ser Ala Pro Leu
      85      90      95
Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
      100      105

```

5 <210> 75
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético
 <400> 75
 cagagcatta aaaactat 18

15 <210> 76
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético
 <400> 76

```

Gln Ser Ile Lys Asn Tyr
1      5

```

25 <210> 77
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético
 <400> 77
 gctgcatcc 9

40 <210> 78
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético
 <400> 78

ES 2 707 599 T3

Ala Ala Ser
1

5 <210> 79
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 79
caacagagtt tcagtgcccc gctcact 27

15 <210> 80
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 80

Gln Gln Ser Phe Ser Ala Pro Leu Thr
1 5

25 <210> 81
<211> 363
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 81

```

gaggagctag tgttgggaatc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt catgtttagc acctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcactt attagtggtc gtgacggtag cacatactat 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca tttccaggaa cacgctctat 240
ctacacttga acagcctgcg agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagataca 300
gctgtggttc ctggctacgg tttggacgtc tggggccaag ggaccacggt caccgctctc 360
tca 363
    
```

40 <210> 82
<211> 121
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 82

ES 2 707 599 T3

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

5 <210> 83
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 83
 ggattcatgt ttagcaccta tgcc 24

15 <210> 84
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 84

Gly Phe Met Phe Ser Thr Tyr Ala
 1 5

25 <210> 85
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 85
 attagtggtc gtagcgtag caca 24

40 <210> 86
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 86

ES 2 707 599 T3

Ile Ser Gly Arg Asp Gly Ser Thr

1

5

5
 <210> 87
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10
 <220>
 <223> Sintético

<400> 87
 gcgaaagata cagctgtggt tctctggctac ggtttggacg tc 42

15
 <210> 88
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20
 <220>
 <223> Sintético

<400> 88

Ala Lys Asp Thr Ala Val Val Pro Gly Tyr Gly Leu Asp Val
 1 5 10

25
 <210> 89
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30
 <220>
 <223> Sintético

35
 <400> 89

```

gacatccaga tgacccagtc tcttgcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggccagtca gactattagt aactggttgg cctggtatca gcagagacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctagtt tagaaactgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactetca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caagttatta ctgccaacag tataatagtt attogtggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321
  
```

40
 <210> 90
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45
 <220>
 <223> Sintético

<400> 90

ES 2 707 599 T3

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

5 <210> 91
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético
 <400> 91
 cagactatta gtaactgg 18

15 <210> 92
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético
 <400> 92

Gln Thr Ile Ser Asn Trp
 1 5

25 <210> 93
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 93
 aaggcgtct 9

40 <210> 94
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 94

ES 2 707 599 T3

Lys Ala Ser
1

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

10 <220>
<223> Sintético

<400> 95
caacagtata atagttattc gtggacg 27

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

20 <220>
<223> Sintético

<400> 96

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Trp Thr
1 5

25 <210> 97
<211> 363
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 97

```

gaggagctag tgttggaaac tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tctgtgcag cctctggatt catgtttagc acctatgcca tgagctgggt cggccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcactt attagtggtc gtgacggtaa cacatactat 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaggaa cacgctctat 240
ctacaattga acagcctgcg agccgaggac acggccttat attactgtgc gaaagataca 300
gctgtggttc ctggctacgg tatggacgtc tggggccaag ggaccaaggc caccgtctcc 360
tca 363
    
```

40 <210> 98
<211> 121
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 98

ES 2 707 599 T3

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

5 <210> 99
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 99
 ggattcatgt ttagcaccta tgcc 24

15 <210> 100
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 100

Gly Phe Met Phe Ser Thr Tyr Ala
 1 5

25 <210> 101
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 101
 attagtggtc gtgacggtaa caca 24

40 <210> 102
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 102

ES 2 707 599 T3

Ile Ser Gly Arg Asp Gly Asn Thr
 1 5

5 <210> 103
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 103
 gcgaaagata cagctgtggt tcttggtac ggtatggacg tc 42

15 <210> 104
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 104

Ala Lys Asp Thr Ala Val Val Pro Gly Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10

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

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 105

```

gacatccaga tgaccagtc tctgccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggccagtca gactattagt aactggttgg cctggtatca gcagagacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctagtt tagaaactgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tggacagaa ttcaacttca ccatacagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caagttatta ctgccaacag tataatagtt attcgtggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321
  
```

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

45 <220>
 <223> Sintético

<400> 106

ES 2 707 599 T3

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

5 <210> 107
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 107
 cagactatta gtaactgg 18

15 <210> 108
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 108

Gln Thr Ile Ser Asn Trp
 1 5

25 <210> 109
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 109
 aaggcgctc 9

40 <210> 110
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 110

ES 2 707 599 T3

Lys Ala Ser
1

5 <210> 111
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 111
caacagtata atagttattc gtggacg 27

15 <210> 112
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 112

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Trp Thr
1 5

25 <210> 113
<211> 366
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 113

```

gaggtgcagc tggaggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgaaactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt agcttttggg tgagctgggt cggccaggct 120
ccaggaagg ggctggagt ggtggccaat ataaagcaaa atggaagtga gacatactat 180
gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acaccaagaa ctcactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac aoggotatat attactgtgc gagagggggg 300
cggatacagc tatggtctag ctggttcgac ccctggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 366
tcctca
    
```

40 <210> 114
<211> 122
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 114

ES 2 707 599 T3

```

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

```

5 <210> 115
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 115
 ggattcacct tttagctt ttgg 24

15 <210> 116
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 116

```

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Trp
 1          5

```

25 <210> 117
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 117
 ataaagcaaa atggaagtga gaca 24

40 <210> 118
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 118

ES 2 707 599 T3

Ile Lys Gln Asn Gly Ser Glu Thr
 1 5

5 <210> 119
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 119
 gcgagagggg ggcggataca gctatggtct agctgggtcg acccc 45

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

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 120

Ala Arg Gly Gly Arg Ile Gln Leu Trp Ser Ser Trp Phe Asp Pro
 1 5 10 15

25 <210> 121
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 121

gccatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 attacttgcc gggcaagtca gggcattagc aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaaaactcct gatctatggt gcatccagtt tacaaaactgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtgatc tggcacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatthtg caacttatta ctgtctacaa gatttcaatt acccgtacac ttttgccag 300
 gggaccaaac tggagatcaa a 321

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

45 <220>
 <223> Sintético

<400> 122

ES 2 707 599 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	Gly	Ile	Ser	Asn	Asp
			20					25					30		
Leu	Gly	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Gly	Ala	Ser	Ser	Leu	Gln	Thr	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	Leu	Gln	Asp	Phe	Asn	Tyr	Pro	Tyr
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys					
			100					105							

5 <210> 123
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético
 <400> 123
 cagggcatta gcaatgat 18

15 <210> 124
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético
 <400> 124

Gln Gly Ile Ser Asn Asp
 1 5

25 <210> 125
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético
 <400> 125
 ggtgcatcc 9

40 <210> 126
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético
 <400> 126

ES 2 707 599 T3

Gly Ala Ser
1

5 <210> 127
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 127
ctacaagatt tcaattaccg gtacact 27

15 <210> 128
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 128

Leu Gln Asp Phe Asn Tyr Pro Tyr Thr
1 5

25 <210> 129
<211> 348
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 129

```

gagggtgcagc tgttggcgtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttagt agctttgcc tggagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaggt attagtggta gtggtgtag cacatactac 180
gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgcat attattgtgc gaaagaggcc 300
tataaatggc agccctggg ccagggaatc cgggtcaccg tctctca 348
    
```

40 <210> 130
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 130

ES 2 707 599 T3

```

Glu Val Gln Leu Leu Ala 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 Phe
 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 Ser Gly Val 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 Ala Tyr Tyr Cys
          85          90          95
Ala Lys Glu Ala Tyr Lys Trp Gln Pro Trp Gly Gln Gly Ile Arg Val
          100          105          110
Thr Val Ser Ser
          115

```

5 <210> 131
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 131
 ggattcacct ttagtagctt tgcc 24

15 <210> 132
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 132

```

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Ala
 1          5

```

25 <210> 133
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 133
 attagtgga gtggtgtag caca 24

40 <210> 134
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

ES 2 707 599 T3

<400> 134

Ile Ser Gly Ser Gly Val Ser Thr
1 5

5 <210> 135
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 135
gcgaaagagg cctataaatg gcagccc 27

15 <210> 136
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

25 <400> 136

Ala Lys Glu Ala Tyr Lys Trp Gln Pro
1 5

30 <210> 137
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Sintético

<400> 137

```

gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggccagtca gagtattagt agctggttgg cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct aatctataag gcgtctaatt tagaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt attcgtacac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321
    
```

40 <210> 138
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 138

ES 2 707 599 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	Ser	Trp
			20					25					30		
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Lys	Ala	Ser	Asn	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	Gln	Tyr	Asn	Ser	Tyr	Ser	Tyr
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys					
			100					105							

5 <210> 139
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético
 <400> 139
 cagagtatta gtagctgg 18

15 <210> 140
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético
 <400> 140

Gln Ser Ile Ser Ser Trp
 1 5

25 <210> 141
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético
 <400> 141
 aaggcgtct 9

40 <210> 142
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético
 <400> 142

ES 2 707 599 T3

Lys Ala Ser
1

5 <210> 143
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 143
caacagtata atagttattc gtacact 27

15 <210> 144
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 144

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Tyr Thr
1 5

25 <210> 145
<211> 348
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 145

```

gaggtgcagc tgttggcgtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt agctttgcc tggagctgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg ggtcggagtg ggtctcaggt attagtggta gtggtgttag cacatactac 180
gcagactcgg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgcat attattgtgc gaaagaggcc 300
tataaatggc agccctgggg ccaggaacc ctggtcaccg tctcctca 348
    
```

40 <210> 146
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 146

ES 2 707 599 T3

Glu Val Gln Leu Leu Ala 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 Phe
 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 Ser Gly Val 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 Ala Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Glu Ala Tyr Lys Trp Gln Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

5 <210> 147
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 147
 ggattcacct ttagtagctt tgcc 24

15 <210> 148
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 148

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Ala
 1 5

25 <210> 149
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 149
 attagtggta gtggtgttag caca 24

40 <210> 150
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 150

ES 2 707 599 T3

Ile Ser Gly Ser Gly Val Ser Thr
 1 5

5 <210> 151
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 151
 gcgaaagagg cctataaatg gcagccc 27

15 <210> 152
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 152

Ala Lys Glu Ala Tyr Lys Trp Gln Pro
 1 5

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

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 153

```

gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggccagtca gagtattagt agctggttgg cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct aatctataag gogtotaatt tagaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt attcgtacac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321
  
```

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

45 <220>
 <223> Sintético

<400> 154

ES 2 707 599 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 Ser Trp
20     25     30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35     40     45
Tyr Lys Ala Ser Asn 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 Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Tyr
85     90     95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100    105

```

5 <210> 155
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético
 <400> 155
 cagagtatta gtagctgg 18

15 <210> 156
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético
 <400> 156

```

Gln Ser Ile Ser Ser Trp
1      5

```

25 <210> 157
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético
 <400> 157
 aaggcgtct 9

40 <210> 158
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético
 <400> 158

```

Lys Ala Ser
1

```

ES 2 707 599 T3

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

<220>
 <223> Sintético

10 <400> 159
 caacagtata atagttattc gtacact 27

15 <210> 160
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

20 <400> 160

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Tyr Thr
 1 5

25 <210> 161
 <211> 363
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

<400> 161

35 gaggtgcagc tgttggagtc tggggggggtc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caattttaac aactatgaca tgagctgggt cggccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagtc attagtgcaa gtggtcgtaa cacatactac 180
 gcagactcgg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagat cagtctgtat 240
 ctgcaaatac acagcctgag acccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcac 300
 ctogtccact actactacgg tatggacgtc tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc 360
 tct 363

40 <210> 162
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 162

ES 2 707 599 T3

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

5 <210> 163
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 163
 ggattcaatt ttaacaacta tgac 24

15 <210> 164
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 164

Gly Phe Asn Phe Asn Asn Tyr Asp
 1 5

25 <210> 165
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 165
 attagtcaa gtggcgtaa caca 24

40 <210> 166
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 166

ES 2 707 599 T3

Ile Ser Ala Ser Gly Arg Asn Thr
 1 5

5 <210> 167
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 167
 gcgaaagatc acctcgtcca ctactactac ggtatggacg tc 42

15 <210> 168
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 168

Ala Lys Asp His Leu Val His Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10

25 <210> 169
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 169

```

gatattatga tgactcagtc tccaactctcc ctgtccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg catagtaatg gatacaacta tttggattgg 120
tacctccaga agtcaggaca gtctccacac ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgggtggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 300
cggacgttcg gcccaaggac caaggtgga atcaaa 336
  
```

40 <210> 170
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético

<400> 170

ES 2 707 599 T3

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

5 <210> 171
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 171
 cagagcctcc tgcataagaa tggatacaac tat 33

15 <210> 172
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 172

Gln	Ser	Leu	Leu	His	Ser	Asn	Gly	Tyr	Asn	Tyr
1				5						10

25 <210> 173
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 173
 ttgggttct 9

40 <210> 174
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 174

ES 2 707 599 T3

Leu Gly Ser
1

5 <210> 175
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 175
atgcaagctc tacaaactcc tcggacg 27

15 <210> 176
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 176

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Arg Thr
1 5

25 <210> 177
<211> 363
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 177

```

gaggaccgag tgttgaatc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tctgtgcag cctctggatt catgtttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg ggctggagtg ggtctcaactt attagtggtc gtgacggtaa cacatactat 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaggaa cacgctctat 240
ctacaattga acagcctgcg agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagataca 300
gctgtggttc ctggctacgg tatggacgtc tggggccaag ggaccacggg caccgtctcc 360
tca 363
    
```

40 <210> 178
<211> 121
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 178

ES 2 707 599 T3

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

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

5 <210> 179
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 179
 ggattcatgt ttagcagcta tgcc 24

15 <210> 180
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 180

Gly Phe Met Phe Ser Ser Tyr Ala
 1 5

25 <210> 181
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 181
 attagtggtc gtagcggtaa caca 24

40 <210> 182
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 182

ES 2 707 599 T3

Ile Ser Gly Arg Asp Gly Asn Thr
 1 5

5 <210> 183
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 183
 gcgaaagata cagctgtggt tcttggtac ggtatggacg tc 42

15 <210> 184
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 184

Ala Lys Asp Thr Ala Val Val Pro Gly Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10

25 <210> 185
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 185

gacatccaga tgaccagtc tcttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggccagtca gagtattagt aactggttg cctggtatca gcagagacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcaactetca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gatgattttg caagttatta ctgccaacag tataatagtt attcgtggac gttcggccaa 300
 gggaccaagg tggaaatcaa a 321

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

45 <220>
 <223> Sintético

<400> 186

ES 2 707 599 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 Asn Trp
           20           25           30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg 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 Trp
           85           90           95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
           100           105

```

5 <210> 187
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 187
 cagagtatta gtaactgg 18

15 <210> 188
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 188

```

Gln Ser Ile Ser Asn Trp
 1           5

```

25 <210> 189
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 189
 aaggcgtct 9

40 <210> 190
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 190

ES 2 707 599 T3

Lys Ala Ser
1

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

10 <220>
<223> Sintético

<400> 191
caacagtata atagttattc gtggacg 27

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

20 <220>
<223> Sintético

<400> 192

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Trp Thr
1 5

25 <210> 193
<211> 348
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 193

gaggtgcagc	tgttggcgtc	tgggggagge	ttggtacagc	ctgggggggc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctctggatt	cacotttagc	agctttgcca	tgagctgggt	cggccaggct	120
ccaggaagg	ggctggagtg	ggtctcaggt	attagtggta	gtggtggtag	cacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaaaa	cacgctgtat	240
ctgcaaatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgcac	attactgtgc	gaaagaggcc	300
tataaatggc	agccctgggg	ccaggaatc	ogggtcaccg	tctcctca		348

40 <210> 194
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 194

ES 2 707 599 T3

Glu Val Gln Leu Leu Ala 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 Phe
 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 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 Ala Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Glu Ala Tyr Lys Trp Gln Pro Trp Gly Gln Gly Ile Arg Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

5 <210> 195
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 195
 ggattcacct tttagcagctt tgcc 24

15 <210> 196
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 196

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Ala
 1 5

25 <210> 197
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 197
 attagtggta gtggtgtag caca 24

40 <210> 198
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 198

ES 2 707 599 T3

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
1 5

5 <210> 199
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 199
gcgaaagagg cctataaatg gcagccc 27

15 <210> 200
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 200

Ala Lys Glu Ala Tyr Lys Trp Gln Pro
1 5

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

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 201

gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtctcc 60
atcacttgcc gggccagtc gagtattagt agctggttgg cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gogtctaatt tagacagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactetca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt attcgtacac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321

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

45 <220>
<223> Sintético

<400> 202

ES 2 707 599 T3

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

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

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 203
 cagagtatta gtagctgg 18

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

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 204

Gln Ser Ile Ser Ser Trp
 1 5

25 <210> 205
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 205
 aaggctct 9

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

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 206

ES 2 707 599 T3

Lys Ala Ser
1

5 <210> 207
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 207
caacagtata atagtattc gtacact 27

15 <210> 208
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 208

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Tyr Thr
1 5

25 <210> 209
<211> 387
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 209

```

gagggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc cggggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttaga aactatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggaaagg ggctggagtg ggtctcagct attaatggtg gtggtgatag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa tacgctgtat 240
ctgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagaggag 300
ggagactgga actacgtggg atatggttac tactactact acggtatgga cgtctggggc 360
caagggacca cggtcaccgt ctctca 387
    
```

40 <210> 210
<211> 129
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 210

ES 2 707 599 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 Arg 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 Ala Ile Asn Gly Gly Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Glu Glu Gly Asp Trp Asn Tyr Val Gly Tyr Gly Tyr Tyr Tyr
 100 105 110
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

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

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 211
 ggattcacct ttgaaacta tgcc 24

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

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 212

Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr Ala
 1 5

25 <210> 213
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 213
 attaatggtg gtggtgatag caca 24

40 <210> 214
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 214

ES 2 707 599 T3

Ile Asn Gly Gly Gly Asp Ser Thr
 1 5

5 <210> 215
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético
 <400> 215

gcgaaagagg agggagactg gaactacgtg ggatatggtt actactacta ctacgggatg 60
 gacgtc 66

15 <210> 216
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético
 <400> 216

Ala Lys Glu Glu Gly Asp Trp Asn Tyr Val Gly Tyr Gly Tyr Tyr Tyr
 1 5 10 15
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 20

25 <210> 217
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético
 35 <400> 217

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc atgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtc gggatttagc agctggtag cctgggatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcaggag cctgcagcct 240
 gaagatcttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgtacac ttttggccag 300
 gggaccaagc tggagatcaa a 321

40 <210> 218
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético
 <400> 218

ES 2 707 599 T3

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

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

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 219
 cagggtatta gcagctgg 18

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

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 220

Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 1 5

25 <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

ES 2 707 599 T3

Ala Ala Ser
1

5 <210> 223
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 223
caacaggcta acagttccc gtacact 27

15 <210> 224
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 224

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Tyr Thr
1 5

25 <210> 225
<211> 369
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 225

caggtgcagc	tggtggagtc	tgggggaggc	gtggtccagc	ctgggaggtc	cctgagactc	60
tctctgtgaag	cctctggttt	caccttcgga	agctatggca	tgcactgggt	ccgccagget	120
ccaggcaagg	ggctggagtg	gatggcagtt	atatcatatg	atggaaatag	tagatactct	180
gcagactccg	tgaagggccg	attcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	tacgctgtat	240
ctgcagatga	acagcctgag	agctgaggac	acggctctgt	attactgtgc	gaaagaaaat	300
catatagcag	ctcgtcgtcc	cggaggtctg	gacgtctggg	gccaaaggac	cacggtcacc	360
gtctcctca						369

40 <210> 226
<211> 123
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 226

ES 2 707 599 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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Ser Arg 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 Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Glu Asn His Ile Ala Ala Arg Arg Pro Gly Gly Leu Asp Val
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

5 <210> 227
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 227
 ggtttcacct tcggaagcta tggc 24

15 <210> 228
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 228

Gly Phe Thr Phe Gly Ser Tyr Gly
 1 5

25 <210> 229
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 229
 atatcatatg atggaaatag taga 24

40 <210> 230
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 230

ES 2 707 599 T3

Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Ser Arg
 1 5

5 <210> 231
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 231
 gcgaaagaaa atcatatagc agctcgtcgt cccggaggtc tggacgct 48

15 <210> 232
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 232

Ala Lys Glu Asn His Ile Ala Ala Arg Arg Pro Gly Gly Leu Asp Val
 1 5 10 15

25 <210> 233
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 233

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcgagtc gggcattagc atttatttag cctggtatca acagaaacca 120
 gggaaagtcc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaatcagg ggtcccatct 180
 cggttcagtg gcagtgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatgttg caacttattt ctgtcaaac tataacattg ccccgaggac gctcggccaa 300
 gggaccaagg tggaaatcaa a 321

40 <210> 234
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético

<400> 234

ES 2 707 599 T3

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ile 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 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 Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Asn Tyr Asn Ile Ala Pro Trp
           85           90           95
Thr Leu 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
 cagggcatta gcattat 18

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

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 236

Gln Gly Ile Ser Ile Tyr
 1 5

25 <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

ES 2 707 599 T3

Ala Ala Ser
1

5 <210> 239
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 239
caaaactata acattgcccc gtgg 24

15 <210> 240
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 240

Gln Asn Tyr Asn Ile Ala Pro Trp
1 5

25 <210> 241
<211> 384
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 241

```

gagggtgcagc tgttggagtc tgggggagggc ttgggtgcagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt catctttacc aattatgcca tgacctggct ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct cttagtggtt ctggtgtgtac cacatactac 180
gcagactcog tgaagggccg gttcaccacc tocagagaca attccaagaa cactctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtct attactgtgc gaaagatccc 300
cattactatg ggtcggggaa tgattacttc tactactacg gtttggacgt ctggggccga 360
gggaccacgg tcaccgtctc ctca 384
    
```

40 <210> 242
<211> 128
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 242

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

<210> 243

<211> 24

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

10

<400> 243

ggattcatct ttaccaatta tgcc

24

<210> 244

<211> 8

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

20

<400> 244

Gly Phe Ile Phe Thr Asn Tyr Ala

25

1

5

<210> 245

<211> 24

30 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

35

<400> 245

cttagtggtt ctggtgttac caca

24

<210> 246

<211> 8

40 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintético

45

ES 2 707 599 T3

<400> 246

Leu Ser Gly Ser Gly Gly Thr Thr
1 5

5 <210> 247
<211> 63
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 247

gogaaagatc cccattacta tgggtcgggg aatgattact tctactacta cggtttggac 60
gtc 63

15 <210> 248
<211> 21
<212> PRT
20 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

25 <400> 248

Ala Lys Asp Pro His Tyr Tyr Gly Ser Gly Asn Asp Tyr Phe Tyr Tyr
1 5 10 15
Tyr Gly Leu Asp Val
20

30 <210> 249
<211> 336
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Sintético

<400> 249

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgccogtca ccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca ggcctcctg catagtaatg gatacaacta tttggattgg 120
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaggctct acaaaactccg 300
tacacttttg gccagggggac caagctggag atcaaa 336

40 <210> 250
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 250

ES 2 707 599 T3

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

5 <210> 251
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 251
 cagagcctcc tgcatagtaa tggatacaac tat 33

15 <210> 252
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 252

Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr
 1 5 10

25 <210> 253
 <211> 9
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

35 <400> 253
 ttgggttct 9

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

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 254

ES 2 707 599 T3

Leu Gly Ser
1

5 <210> 255
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 255
atgcaggctc tacaaactcc gtacact 27

15 <210> 256
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 256

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Thr
1 5

25 <210> 257
<211> 357
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 257

```

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggt ttggtccagt ctgggggggc cctgagactc 60
tcttgtgcag cctctggatt cacctttagt agatattgga tgagctgggt cgcaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtggccaac ataaaacaag atggaagtga gaaagattat 180
gtggactctg tgaagggccg attcaccatt tccagagaca acaccaagag ctactgttt 240
ctgcaaatga atagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaggagaga 300
tggaaactgga acttctttga ctactggggc cagggaaacc tggctcaactgt ctctca 357
    
```

40 <210> 258
<211> 119
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 258

ES 2 707 599 T3

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

5 <210> 259
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 259
 ggattcacct ttagtagata ttgg 24

15 <210> 260
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 260

Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Trp
 1 5

25 <210> 261
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 261
 ataaaacaag atggaagtga gaaa 24

40 <210> 262
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 262

ES 2 707 599 T3

Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys
 1 5

5 <210> 263
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 263
 gcgaaggaga gatggaactg gaactcttt gactac 36

15 <210> 264
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 264

Ala Lys Glu Arg Trp Asn Trp Asn Phe Phe Asp Tyr
 1 5 10

25 <210> 265
 <211> 318
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 265

```

gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggccagtca gagtattagt agctggttgg cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcatctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatacagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttatta ctgccagcag tttaatagtt attccacttt tggccagggg 300
accaagctgg agatcaaa 318
  
```

40 <210> 266
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético

<400> 266

ES 2 707 599 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 Ser Trp
      20      25      30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
      35      40      45
Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
      50      55      60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65      70      75      80
Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Ser Thr
      85      90      95
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
      100      105

```

5 <210> 267
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 267
 cagagtatta gtagctgg 18

15 <210> 268
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 268

Gln Ser Ile Ser Ser Trp
 1 5

25 <210> 269
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

35 <400> 269
 aaggcatct 9

40 <210> 270
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45

ES 2 707 599 T3

<400> 270

Lys Ala Ser
1

5 <210> 271
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 271
cagcagttta atagttattc cact 24

15 <210> 272
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

25 <400> 272

Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Ser Thr
1 5

30 <210> 273
<211> 369
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Sintético

<400> 273

```

gaggtgcagc tggaggagtc tgggggagac ttaatacagc cgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtatag cctctggatt cacctttaga ggctatgcca tgagttgggt ccgccaggct 120
ccaggggagg ggctggactg ggtctcaggt attagttctg gtggcgggaa cacatattac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ttgcaaatga acagtctgag agtcgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagacaga 300
gggggtgtaa gggactttta ctacggtttg gacgtctggg gccaggggac cacggtcacc 360
gtctcctca 369
    
```

40 <210> 274
<211> 123
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 274

ES 2 707 599 T3

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

5 <210> 275
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 275
 ggattcacct ttagaggcta tgcc 24

15 <210> 276
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 276

Gly Phe Thr Phe Arg Gly Tyr Ala
 1 5

25 <210> 277
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 277
 attagtctg gtggcgggaa caca 24

40 <210> 278
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 278

ES 2 707 599 T3

Ile Ser Ser Gly Gly Gly Asn Thr
 1 5

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

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 279
 gcgaaagaca gagggggtg aagggacttt tactacggtt tggacgtc 48

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

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 280

Ala Lys Asp Arg Gly Gly Val Arg Asp Phe Tyr Tyr Gly Leu Asp Val
 1 5 10 15

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

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 281

gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcaattgcc gggccagtc gagtatttat agttggttg cctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaaaactcct gatctataag gogtctagtt tagaaagtgg ggtccogtca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gatgatttta caacttatta ctgccaaca tctcttagtt attctcggac gttcggccaa 300
 gggaccaagg tggaaatcaa a 321

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

45 <220>
 <223> Sintético

<400> 282

ES 2 707 599 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	Tyr	Ser	Trp
			20					25					30		
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Lys	Ala	Ser	Ser	Leu	Glu	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
Asp	Asp	Phe	Thr	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Leu	Ser	Tyr	Ser	Arg
				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
 cagagtatt atagttgg 18

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

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 284

Gln Ser Ile Tyr Ser Trp
 1 5

25 <210> 285
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 285
 aaggctct 9

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

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 286

ES 2 707 599 T3

Lys Ala Ser
1

5 <210> 287
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 287
caacaatc ttagttatc tcggacg 27

15 <210> 288
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 288

Gln Gln Tyr Leu Ser Tyr Ser Arg Thr
1 5

25 <210> 289
<211> 378
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 289

```

gagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctttgcag ootctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt coggcaagct 120
ccaggaagg gcoctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag cataggctat 180
gocgactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtgc aaaagcccgt 300
ggatacagct atggttacgg ggagtactac tacggtatgg acgtctgggg ccaagggacc 360
acggtcaccg tctctctca 378
    
```

40 <210> 290
<211> 126
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 290

ES 2 707 599 T3

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Phe	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asp	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	Ser	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	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Lys	Ala	Arg	Gly	Tyr	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Gly	Glu	Tyr	Tyr	Tyr	Gly
			100					105						110	
Met	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser		
		115					120						125		

5 <210> 291
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 291
 ggattcacct ttgatgatta tgcc 24

15 <210> 292
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 292

Gly	Phe	Thr	Phe	Asp	Asp	Tyr	Ala
1				5			

25 <210> 293
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 293
 attagttgga atagtggtag cata 24

40 <210> 294
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 294

ES 2 707 599 T3

Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile
 1 5

5 <210> 295
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 295
 gcaaaagccc gtggatacag ctatggttac ggggagtact actacgggat ggacgtc57

15 <210> 296
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 296

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

25 <210> 297
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 297

gacatccaga tgaccocagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactetca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccccgtaac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa a 321

40 <210> 298
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético

<400> 298

ES 2 707 599 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 Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr
           85           90           95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
           100           105

```

5 <210> 299
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 299
 cagagcatta gcagctat 18

15 <210> 300
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 300

```

--- ---
Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 1           5

```

25 <210> 301
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 301
 gctgcatcc 9

40 <210> 302
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 302

ES 2 707 599 T3

Ala Ala Ser
1

5 <210> 303
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 303
caacagagtt acagtacccc gtacact 27

15 <210> 304
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 304

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr
1 5

25 <210> 305
<211> 351
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 305

caggtgcagc	tggtggagtc	tgggggaggc	gtggtccagc	ctgggaggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cgtctggatt	caccttcagt	aactatggca	tgcactgggt	ccgccaggct	120
ccaggcaagg	ggctggagtg	ggtggcagtt	atattgtatg	atggaagtaa	taaatactat	180
acagactccg	tgaagggccg	attcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcaaatga	acagcctgag	agccgaggac	acggctgtgt	attactgtgc	gagagataac	300
tggaactcct	ttgactactg	gggccagggg	accctggtca	ccgtctcctc	a	351

40 <210> 306
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 306

ES 2 707 599 T3

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

5 <210> 307
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 307
 ggattcacct tcagtaacta tggc 24

15 <210> 308
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 308

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly
 1 5

25 <210> 309
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 309
 atattgtatg atggaagtaa taaa 24

40 <210> 310
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 310

ES 2 707 599 T3

Ile Leu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
 1 5

5 <210> 311
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 311
 gcgagagata actggaactc tttgactac 30

15 <210> 312
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 312

Ala Arg Asp Asn Trp Asn Ser Phe Asp Tyr
 1 5 10

25 <210> 313
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 313

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatact gcatccagtt taaaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagatthttg caacttacta ctgtcaacag agttacacta cccattcac tttcggccct 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321
  
```

40 <210> 314
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético

<400> 314

ES 2 707 599 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 Thr Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100

105

5 <210> 315
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 315
 cagagcatta gcagctat 18

15 <210> 316
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 316

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 1 5

25 <210> 317
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 317
 actgcatcc 9

40 <210> 318
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 318

Thr Ala Ser
1

5 <210> 319
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 319
caacagagtt aactacccc attcact 27

15 <210> 320
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 320

Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Phe Thr
1 5

25
30 <210> 321
<211> 375
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

35 <400> 321

```

gagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt agctattgga tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtggccaac ataaagcaag atggaagtga gaaatactat 180
gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctactgtat 240
ctgcaaatac acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagagagg 300
gtagtagtac cagctgctat accccactgg tacttcgata tctggggccg tggcaccctg 360
gtcaccgtct cctca 375
    
```

40 <210> 322
<211> 125
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 322

ES 2 707 599 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		
Trp	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ala	Asn	Ile	Lys	Gln	Asp	Gly	Ser	Glu	Lys	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ser	Val
	50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr
65					70					75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Glu	Arg	Val	Val	Val	Pro	Ala	Ala	Ile	Pro	His	Trp	Tyr	Phe
				100				105					110		
Asp	Leu	Trp	Gly	Arg	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser			
		115					120					125			

5 <210> 323
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 323
 ggattcacct ttagtagcta ttgg 24

15 <210> 324
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 324

Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	Trp
1				5			

25 <210> 325
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 325
 ataaagcaag atggaagtga gaaa 24

40 <210> 326
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 326

ES 2 707 599 T3

Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys
 1 5

5 <210> 327
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 327
 gcgagagaga ggtagtagt accagctgct atacccact ggtacttoga tctc 54

15 <210> 328
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 328

Ala Arg Glu Arg Val Val Val Pro Ala Ala Ile Pro His Trp Tyr Phe
 1 5 10 15

Asp Leu

25 <210> 329
 <211> 339
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 329

gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
 atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagctcca acaataagaa ctacttagct 120
 tggtagcagc agaaaccagg acagcctcct aagctgctca tttactgggc atctaccggg 180
 gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
 atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatagtact 300
 cctcggacgt tcggccaagg gaccaaggtg gaaatcaaa 339

40 <210> 330
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético

<400> 330

ES 2 707 599 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
Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35      40      45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50      55      60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65      70      75      80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85      90      95
Tyr Tyr Ser Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100      105      110
Lys

```

5 <210> 331
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 331
 cagagtgtt tatacagctc caacaataag aactac 36

15 <210> 332
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 332

```

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

```

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

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 333
 tgggcatct 9

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

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 334

ES 2 707 599 T3

Trp Ala Ser
1

5 <210> 335
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 335
cagcaatatt atagtactcc tcggacg 27

15 <210> 336
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 336

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Arg Thr
1 5

25 <210> 337
<211> 375
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 337

```

caggttcagc tggcgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg ctctcggta cacctttacc agctatggta tcagctgggt ggcacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180
gcacagaagc tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggcctgtg attactgtgc gagagcgtat 300
tacgatattt tgactggta ttactactac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg 360
gtcaccgtct cctca 375
    
```

40 <210> 338
<211> 125
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 338

ES 2 707 599 T3

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

5 <210> 339
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 339
 gggttacacct ttaccagcta tggg 24

15 <210> 340
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 340

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly
 1 5

25 <210> 341
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 341
 atcagcgctt acaatggtaa caca 24

40 <210> 342
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 342

ES 2 707 599 T3

Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr
 1 5

5 <210> 343
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 343
 gcgagagcgt attacgatatttgactggt tattactact acggtatgga cgct 54

15 <210> 344
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 344

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

25 <210> 345
 <211> 333
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 345

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcaacttgcc aggcgagtcaggacattagc aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctaogat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgataatc tccctccggg gggttcattc 300
 actttcggcc ctgggaccaa agtggatatac aaa 333

40 <210> 346
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético

<400> 346

ES 2 707 599 T3

```

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

```

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

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 347
 caggacatta gcaactat 18

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

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 348

```

Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 1           5

```

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

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 349
 gatgcatcc 9

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

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 350

ES 2 707 599 T3

Asp Ala Ser
1

5 <210> 351
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 351
caacagtatg ataatctccc tccggggggt tcattcact 39

15 <210> 352
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 352

Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Pro Gly Gly Ser Phe Thr
1 5 10

25 <210> 353
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 353

```
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggaatg ggtctcaggt cttagtggtg gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccggtat attattgtgc gaaagagaaa 300
tataattgga aatttcactt tgactactgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctcctca 360
```

40 <210> 354
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 354

ES 2 707 599 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 Gly Leu 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 Glu Lys Tyr Asn Trp Lys Phe His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

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

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 355
 ggattcacct ttagcagtta tgcc 24

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

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 356

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
 1 5

25 <210> 357
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 357
 cttagtggta gtggtgtag caca 24

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

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 358

ES 2 707 599 T3

Leu Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
 1 5

5 <210> 359
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 359
 gcgaaagaga aatataattg gaaatttcac ttgactac 39

15 <210> 360
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 360

Ala Lys Glu Lys Tyr Asn Trp Lys Phe His Phe Asp Tyr
 1 5 10

25 <210> 361
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 361

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggcgagtc ggacattagc aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctacgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180
aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgataatc tcccgtcac tttcggcggg 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321
  
```

40 <210> 362
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético

<400> 362

ES 2 707 599 T3

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
           20           25           30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
           35           40           45
Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu
           85           90           95
Thr Phe Gly Gly 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
 caggacatta gcaactat 18

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

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 364

```

Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 1           5

```

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

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 365
 gatgcatcc 9

40 <210> 366
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 366

Asp Ala Ser
1

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

10 <220>
<223> Sintético

<400> 367
caacagtatg ataatctccc gctcact 27

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

20 <220>
<223> Sintético

<400> 368

Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu Thr
1 5

25
30 <210> 369
<211> 354
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

35 <400> 369

```

caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctgggta cacctttacc agctatggta tcagctgggt ggcacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180
gcacagaagc tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagatggg 300
agctactcct ggttcagacc ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354
    
```

40 <210> 370
<211> 118
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 370

ES 2 707 599 T3

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

5 <210> 371
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 371
 ggttacacct ttaccagcta tggt 24

15 <210> 372
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 372

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly
 1 5

25 <210> 373
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 373
 atcagcgctt acaatggtaa caca 24

40 <210> 374
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 374

ES 2 707 599 T3

Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr
1 5

5 <210> 375
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 375
gcgagagatg ggagctactc ctggttcgac ccc 33

15 <210> 376
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 376

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

25 <210> 377
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 377

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca ggcatttagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcaactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

40 <210> 378
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 378

ES 2 707 599 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 Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
 85           90           95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100           105

```

5 <210> 379
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético
 <400> 379
 cagagcatta gcagctat 18

15 <210> 380
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético
 <400> 380

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

25 1 5
 <210> 381
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético
 <400> 381
 gctgcatcc 9

40 <210> 382
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético
 <400> 382

ES 2 707 599 T3

Ala Ala Ser
1

5 <210> 383
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 383
caacagagtt acagtacccc gctcact 27

15 <210> 384
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 384

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
1 5

25 <210> 385
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 385

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agttactact ggagctggat ccggcagccc 120
ccagggaaag gactggagtg gattgggtat atctattaca gtgggagcac caagtacaac 180

ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
aagctgagct ctgtgaccgc cgaagacacg gccgtgtatt actgtgggag acaaagtggg 300
agctactact actacggtat ggaogtctgg ggccaagggg ccacggtcac cgtctcctca 360

40 <210> 386
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 386

ES 2 707 599 T3

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

5 <210> 387
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 387
 ggtggctcca tcagtagtta ctac 24

15 <210> 388
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 388

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr
 1 5

25 <210> 389
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 389
 atctattaca gtgggagcac c 21

40 <210> 390
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 390

ES 2 707 599 T3

Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr
 1 5

5 <210> 391
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 391
 gggagacaaa gtgggagcta ctactactac ggtatggacg tc 42

15 <210> 392
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 392

Gly Arg Gln Ser Gly Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10

25 <210> 393
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 393

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca aagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg agtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcaactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagatthtg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccccgtaac ttttggccag 300
 gggaccaagc tggagatcaa a 321

40 <210> 394
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Sintético

<400> 394

ES 2 707 599 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	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ser	Tyr	Ser	Thr	Pro	Tyr
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys					
			100					105							

5 <210> 395
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 395
 caaagcatta gcagctat 18

15 <210> 396
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético

<400> 396

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 1 5

25 <210> 397
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Sintético

35 <400> 397
 gctgcatcc 9

40 <210> 398
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 398

ES 2 707 599 T3

Ala Ala Ser
1

5 <210> 399
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 399
caacagagtt acagtacccc gtacct 27

15 <210> 400
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 400

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr
1 5

25 <210> 401
<211> 528
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

30 <400> 401

ES 2 707 599 T3

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

ES 2 707 599 T3

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

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a ASIC1 expresado en la superficie celular (SEQ ID NO:401), en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR) 1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 36, una HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 38, una HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40, una región determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR) 1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 44, una LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 46 y una LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 48.
- 10 2. El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región variable de cadena pesada (HCVR) que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 34 y una región variable de cadena ligera (LCVR) que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 42.
- 15 3. Un anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo que compite por la unión a ASIC1 expresado en la superficie celular con un anticuerpo de referencia que comprende una HCVR que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 34 y una LCVR que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 42.
- 20 4. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a ASIC1 expresado en la superficie celular (SEQ ID NO:401), en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende las CDR de cadena pesada y ligera de un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR que tiene la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 34 y 42.
- 25 5. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 30 6. El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o la composición farmacéutica de la reivindicación 5, para uso en un método para tratar o atenuar el dolor.
- 35 7. El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno o la composición farmacéutica para uso de la reivindicación 6, en donde el dolor es
- (a) dolor asociado con el cáncer o dolor inducido por quimioterapia; o
- (b) dolor nociceptivo o dolor visceral, opcionalmente asociado con una afección seleccionada del grupo que consiste en inflamación, incisión postoperatoria, neuropatía, fractura ósea, quemaduras, fractura osteoporótica, cáncer de hueso, gota, dolor de cabeza de tipo migraña y fibromialgia.

40

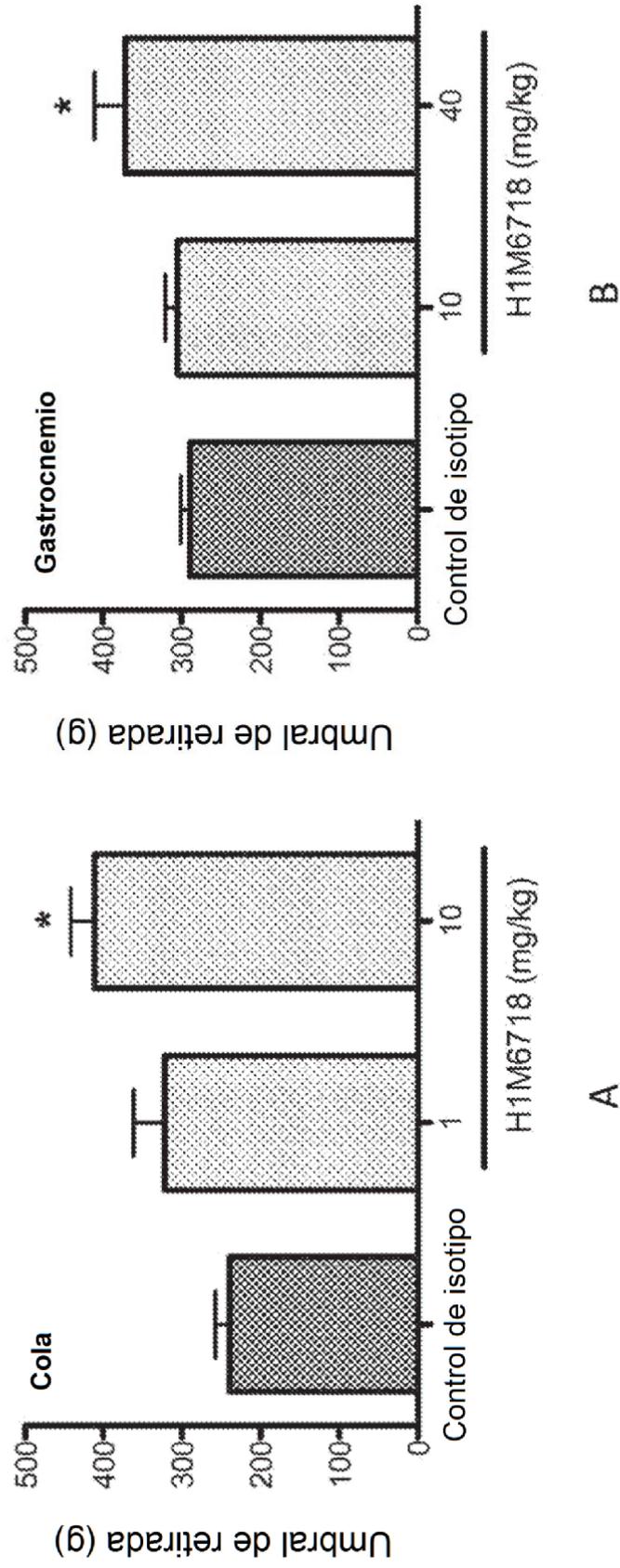


Figura 1

Hiperalgnesia Muscular Inducida por Solución Salina Ácida (pH 5,5)

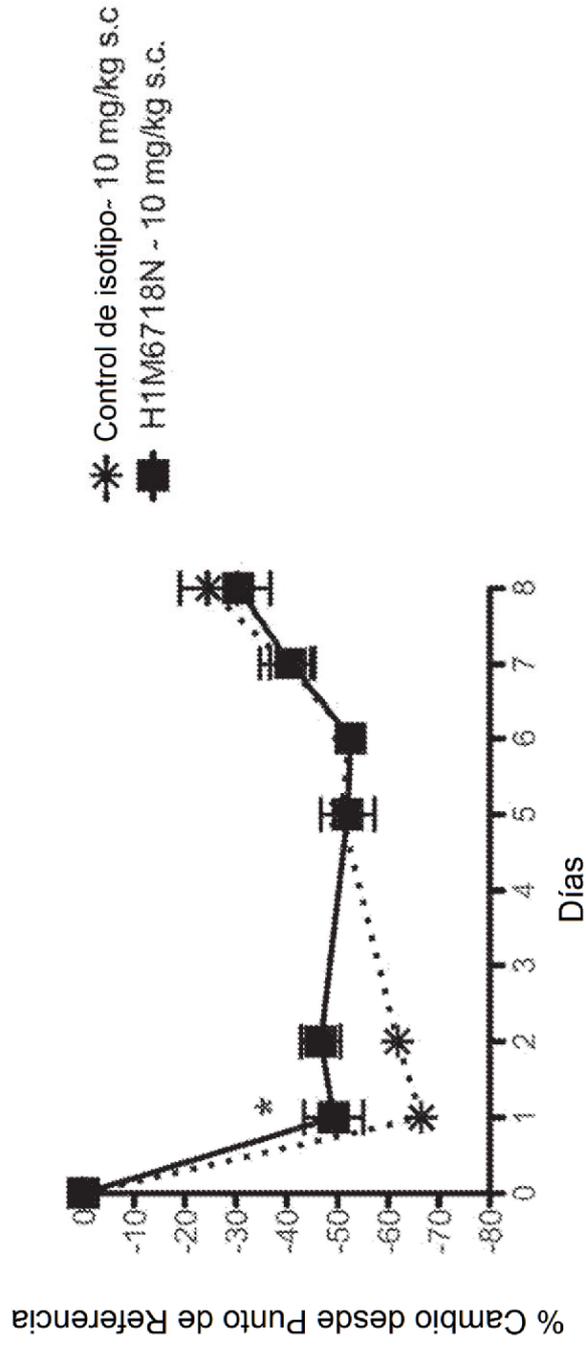


Figura 2

Hiperalgnesia Muscular Inducida por Carragenina

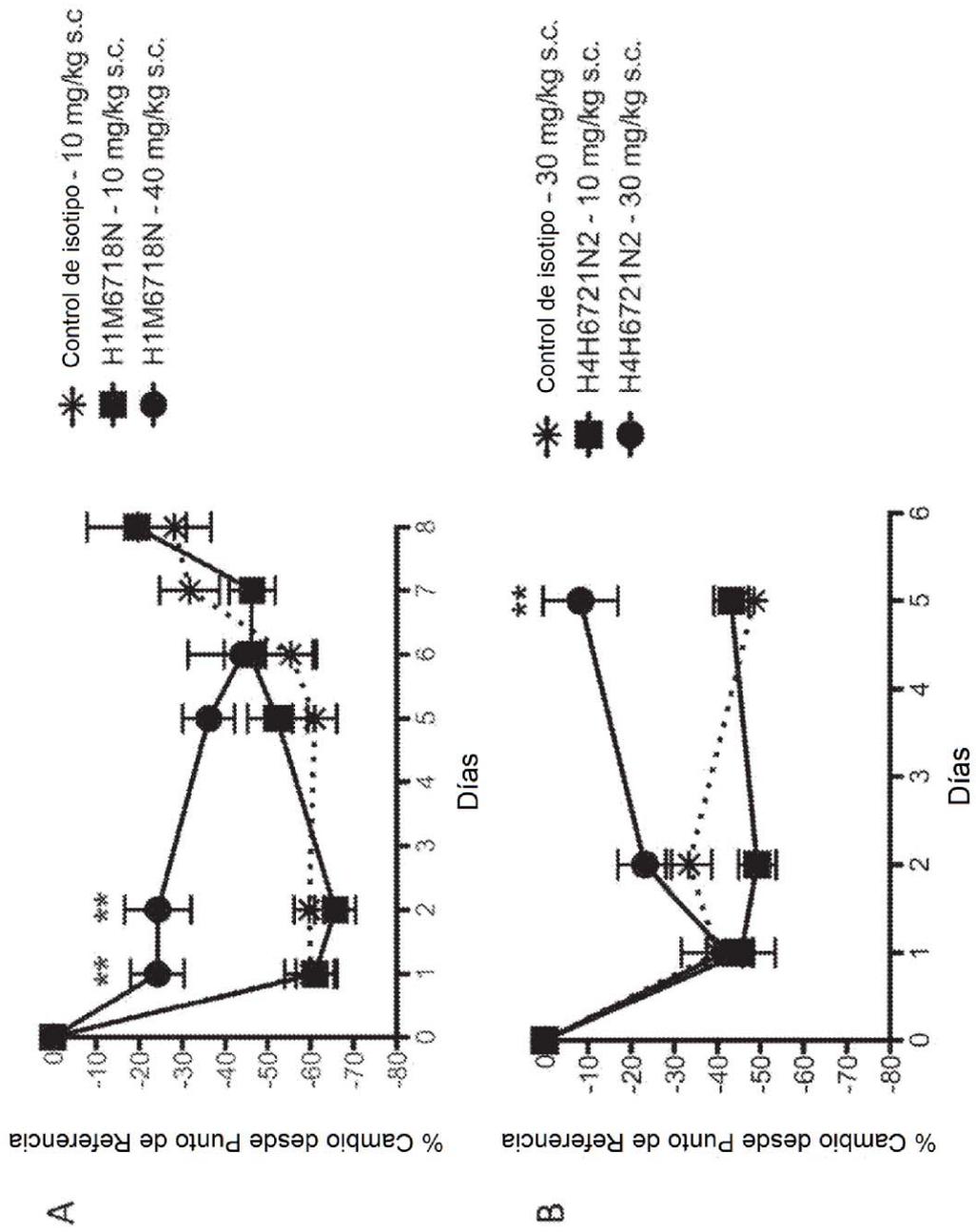


Figura 3

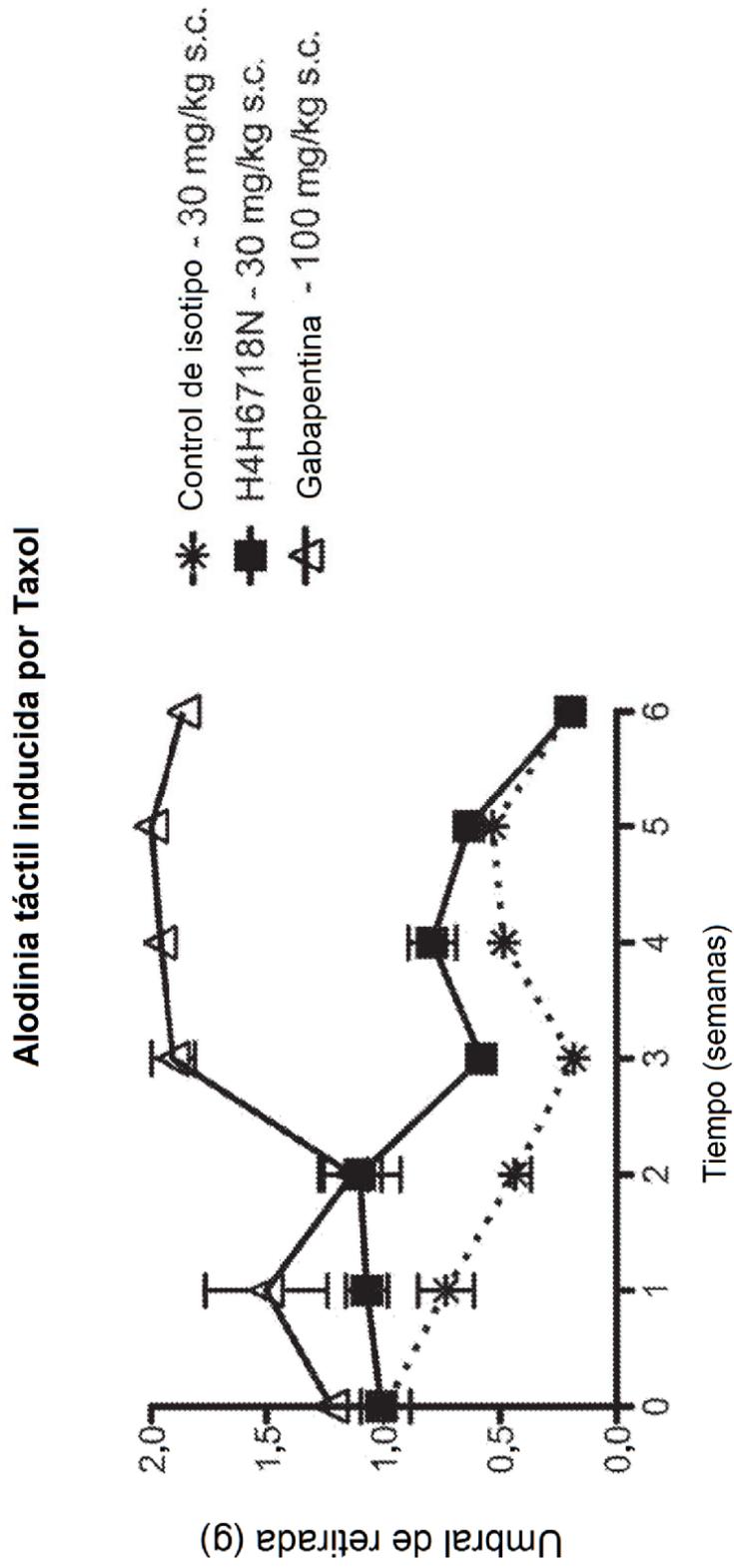


Figura 4