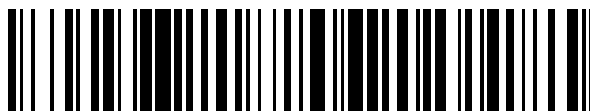


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 805 852**

51 Int. Cl.:

G01N 33/68

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.12.2014 PCT/EP2014/076778**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.06.2015 WO15082706**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.12.2014 E 14809826 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.05.2020 EP 3077826**

54 Título: **Procedimiento y medio para el diagnóstico no invasivo de diabetes mellitus tipo II**

30 Prioridad:

05.12.2013 DE 102013224978

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

15.02.2021

73 Titular/es:

UNIVERSITÄT LEIPZIG (50.0%)

Ritterstrasse 26

04109 Leipzig, DE y

OHIO UNIVERSITY (50.0%)

72 Inventor/es:

HOFFMANN, RALF;

FROLOV, ANDREJ;

SPILLER, SANDRO;

LI, YICHAO y

WELCH, LONNIE R.

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 805 852 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

Procedimiento y medio para el diagnóstico no invasivo de diabetes *mellitus* tipo II

- 5 La invención se refiere a un procedimiento y medio para el diagnóstico no invasivo de diabetes *mellitus* tipo II.

La diabetes *mellitus* tipo II (T2DM) es un trastorno donde la insulina está presente en su destino, las membranas celulares, pero no puede actuar correctamente (resistencia a la insulina). En los primeros años de enfermedad, el páncreas puede compensar esto produciendo altas cantidades de insulina. Sin embargo, en algún momento, el páncreas no puede seguir manteniendo la producción excesiva de insulina. La cantidad de insulina producida es insuficiente para controlar la glucemia y se manifiesta la diabetes *mellitus* tipo 2. Debido a una alta resistencia a la insulina, la glucemia sigue aumentando. Más tarde, debido a una deficiencia relativa, hay una deficiencia absoluta de insulina en algunos casos.

- 15 A diferencia de la diabetes tipo 1, la diabetes tipo 2 rara vez se asocia con pérdida de peso, pero sí lo hace con glucemia excesivamente elevada, aumento de la micción y sensación de sed. A menudo hay síntomas inespecíficos al principio, como fatiga, debilidad, trastornos visuales y tendencia a infecciones como, p. ej., cistitis frecuente. Dado que estos síntomas son muy inespecíficos, el diagnóstico a menudo se realiza por casualidad solo después de años. En este momento, sin embargo, el daño irreversible a la salud ya puede haber ocurrido.

- 20 Por lo tanto, el diagnóstico temprano es esencial para prevenir la manifestación de diabetes tipo II mediante medidas terapéuticas adecuadas.

- 25 El aumento de la glucemia conduce a una reacción no enzimática de azúcares con lípidos y proteínas y a la formación de productos de Amadori a través de la reorganización de Amadori (glicosilación). La glicosilación endógena también ocurre en el cuerpo, especialmente en el torrente sanguíneo. Esencialmente, la glucosa, la fructosa y la galactosa reaccionan de manera incontrolada con las proteínas del cuerpo sin la participación de enzimas. El problema aquí es la acumulación de este efecto a lo largo del tiempo, en particular en el caso de un aumento de la glucemia donde los tejidos o las células pueden dañarse. Por lo tanto, la glicosilación de HbA_{1c} se usa para llevar a cabo una monitorización a largo plazo de la glucemia en diabéticos. La HbA_{1c}, también llamada glicohemoglobina (GHb), es un pigmento rojo de la sangre (hemoglobina) que la glucosa altera químicamente.

- 35 El documento DE 69835268 T2 ya describe un procedimiento para medir una proteína glicosilada, mientras una proteasa y un FAOD actúan sobre la proteína glicosilada contenida en una muestra, donde se utiliza una proteasa del género *Aspergillus*. De este modo, una proteína glicosilada en un componente de un organismo vivo puede medirse con alta sensibilidad y precisión utilizando una proteasa adecuada que presente una acción enzimática útil en combinación con un FAOD que se use adecuadamente para medir la albúmina glicosilada. Sin embargo, solo se determina la glicosilación general de la albúmina, pero no la glicosilación específica para el diagnóstico de diabetes *mellitus* tipo II.

- 40 El documento EP 0 623 216 B1 describe un anticuerpo que reacciona específicamente a proteínas glicosiladas, donde también se menciona la seroalbúmina humana como tal proteína.

- 45 El documento EP 0 230 934 A2 describe un procedimiento donde los residuos de lisina glicosilada sirven como epítipo para anticuerpos. Esto permite detectar proteínas glicosiladas, como la seroalbúmina humana.

El documento WO 2013/159025 A1 describe un procedimiento para diagnosticar diabetes, donde se examina el patrón de N-glicosilación de diversas proteínas plasmáticas y se usan cambios en este patrón para el diagnóstico.

- 50 Además, el documento US 2004/0147033 A1 describe el uso de glicoproteínas para el diagnóstico de distintas enfermedades.

- El documento WO 2007/117794 A2 describe un procedimiento para la monitorización de la glucemia y el estado glucémico de los pacientes mediante la determinación de la concentración de péptidos glicosilados en la sangre. Se usan anticuerpos o fragmentos contra péptidos glicosilados seleccionados, donde según la Tabla 1 la secuencia 21 (DC) describe un péptido glicosilado de haptoglobina (KQLVEIEK) con dos residuos de lisina.

- 60 El documento US 2011/0136160 A1 describe el análisis de puntos de glicosilación de proteínas plasmáticas humanas. Para simular un alto nivel de glucosa correspondiente a estados glucotóxicos, se incubaron muestras con una concentración de glucosa de 30 mM y luego se examinó la glicosilación de proteínas plasmáticas comunes. La haptoglobina se identificó como proteína glicosilada y las posiciones K270 y K151 se determinaron como posiciones glicosiladas de haptoglobina.

- 65 Los procedimientos de diagnóstico descritos anteriormente son adecuados para la detección de proteínas glicosiladas, como la seroalbúmina humana, pero no permiten un diagnóstico fiable de diabetes tipo II.

Por lo tanto, el objeto de la presente invención es proporcionar un procedimiento para el diagnóstico no invasivo de diabetes *mellitus* tipo II, que permita un diagnóstico seguro y simple en una etapa temprana.

El objeto se logra mediante un procedimiento según la reivindicación 1. Se especifican mejoras ventajosas en las reivindicaciones dependientes.

Según la invención, se especifica un procedimiento para el diagnóstico no invasivo de diabetes, en particular diabetes *mellitus* tipo II, donde al menos la determinación de la glicosilación en la posición de glicosilación Lys 141 de la haptoglobina humana (P00738; SEQ ID No. 38) se lleva a cabo en una muestra aislada de sangre o plasma y se determina el nivel de HbA_{1c}, donde la glicosilación en las posiciones de glicosilación se correlaciona a continuación con el nivel de HbA_{1c}.

El número P detrás del nombre de la proteína es el Identificador UniProt (número de acceso). Las posiciones de secuencia se refieren a las secuencias que se almacenan en la lista de secuencias adjunta bajo la SEQ ID entre paréntesis. La posición en la seroalbúmina humana se refiere a la proteína madura sin el péptido de señal especificado en la entrada UniProt y sin propéptido.

HbA_{1c} se define como el producto estable de un acoplamiento de glucosa a la valina N-terminal de la cadena β de la hemoglobina A1 (Federación Internacional de Química Clínica y Medicina de Laboratorio). Todavía se usa una indicación en porcentaje (%). La unidad internacional introducida según la recomendación de la IFCC es la hemoglobina mmol/mol, es decir, un valor por mil. Este valor también se puede denominar HbA_{1c}M para distinguirlo mejor de la indicación en %. La fórmula de conversión es:

$$\text{HbA}_{1c} [\text{mmol/mol Hb}] = (\text{HbA}_{1c} [\%] - 2,15) \times 10,929.$$

La HbA_{1c} se determina a partir de sangre entera mediante un inmunoensayo enzimático.

Las siguientes fórmulas se utilizan para convertir el valor promedio de glucemia al valor de HbA_{1c}:

$$\text{HbA}_{1c} [\%] = (\text{glucemia media} [\text{mg/dl}] + 86) / 33,3$$

$$\text{HbA}_{1c} [\%] = (\text{glucemia media(plasma)} [\text{mg/dl}] + 77,3) / 35,6$$

La glicosilación de las proteínas plasmáticas humanas se determina preferentemente en al menos una posición de glicosilación adicional seleccionada de entre

- Lys 174 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 414 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 574 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 163 en la cadena β de fibrinógeno humano (P02675, SEQ ID No. 33),
- Lys 50 en la región C de la cadena λ de Ig humana (P01842; SEQ ID No. 36),

La glicosilación se selecciona preferentemente en al menos una secuencia de entre la SEQ ID No. 1 a 30 determinada. La glicosilación se determina preferentemente en dos a cinco, en particular preferentemente en tres a cinco, más preferentemente en todas las SEQ ID No. 1 a 30, donde al menos una determinación de la glicosilación se lleva a cabo en la SEQ ID No. 27.

Las secuencias de las posiciones de glicosilación de las proteínas plasmáticas humanas según la invención se muestran en la Tabla 1 a continuación:

Tabla 1

SEQ ID No.	Secuencia	Proteína	Posición de glicosilación
1	TC*VADESAENC*DK*SLHTLFGDK	Seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31)	K64
2	SLHTLFGDK*LC*TVATLR	Seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31)	K73
3	ETYGEMADC*C*AK*QEPER	Seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31)	K93

SEQ ID No.	Secuencia	Proteína	Posición de glicosilación
4	ETYGEM _{ox} ADC*C*AK*QEPER	Seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31)	K93
*5	AAFTEC*C*QAADK*AAC*LLPK	Seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31)	K174
6	AAC*LLPK*LDELRLDEGK	Seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31)	K181
7	AEFAEVSK*LVTDLTK	Seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31)	K233
8	ADLAK*YIC*ENQDSISSK	Seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31)	K262
9	TYETTLEK*C*C*AAADPHEC*YAK	Seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31)	K359
10	VFDEFK*PLVEEPQNLIK	Seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31)	K378
11	K*VPQVSTPTL VEVSR	Seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31)	K414
12	K*QTALVELVK	Seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31)	K525
13	EQLK*AVMDDFAAFVEK	Seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31)	K545
14	K*LVAASQAALGL	Seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31)	K574
15	VQWK*VDNALQSGNSQESVTEQDS K	Región C de la cadena λ de Ig humana (P01834, SEQ ID No. 32)	K41
16	DSTYLSSTLTLSK*ADYEK	Región C de la cadena λ de Ig humana (P01834, SEQ ID No. 32)	K75
17	VYAC*EVTHQGLSSPVTK*SFNR	Región C de la cadena λ de Ig humana (P01834, SEQ ID No. 32)	K99
18	QVK*DNENVVNEYSSELEK	cadena β de fibrinógeno humano (P02675, SEQ ID No. 33)	K163
19	IQK*LESDVSAQM _{ox} EYC*R	cadena β de fibrinógeno humano (P02675, SEQ ID No. 33)	K211
20	K*WDPYKQGFGNVATNTDGK	cadena β de fibrinógeno humano (P02675, SEQ ID No. 33)	K295
21	SK*AIGYLNTGYQR	Macroglobulina 2 α humana (P01023, SEQ ID No. 34)	K1003
22	ALLAYAFALAGNQDK*R	Macroglobulina 2 α humana (P01023, SEQ ID No. 34)	K1162
23	K*C*STSSLLEAC*TFR	Serotransferrina humana (P02787; SEQ ID No. 35)	K683
24	ADSSPVK*AGVETTTPSK	Región C de la cadena λ de Ig humana P01842; SEQ ID No. 36)	K50
25	AKvVQPYLDDFQK	Precursor de apolipoproteína A-I humana (P02647; SEQ ID No. 37)	K120
26	K*WQEEM _{ox} ELYR	Precursor de apolipoproteína A-I humana (P02647; SEQ ID No. 37)	K131
27	AVGDK*LPEC*EAVC*GKPK	Haptoglobina humana (P00738; SEQ ID No. 38)	K141
28	SEETK*ENEGFTVTAEGK	Precursor de complemento C3 humano	K1325

SEQ ID No.	Secuencia	Proteína	Posición de glicosilación
		(P01024; SEQ ID No. 39)	
29	M _{ox} K*GLIDEVNQDFTNR	Cadena α de fibrinógeno humano (P02671; SEQ ID No. 40)	K71
30	SSSYSK*QFTSSTSYNR	Cadena α de fibrinógeno humano (P02671; SEQ ID No. 40)	K581

Las posiciones de secuencia se refieren a las secuencias que se almacenan en la lista de secuencias adjunta bajo la SEQ ID entre paréntesis. Las posiciones en la seroalbúmina humana se refieren a la proteína madura sin el péptido de señal especificado en la entrada UniProt y sin propéptido.

5 La glicosilación se lleva a cabo en la posición de los residuos de lisina (K) de las proteínas plasmáticas que figuran en la Tabla 1. Un producto de Amadori se forma preferentemente en cada caso por glicosilación en la lisina (K). Las secuencias pueden alquilarse adicionalmente en una o más cisteínas (C) como resultado del protocolo utilizado para la escisión enzimática de la muestra plasmática o sérica. Opcionalmente, el azufre en las metioninas se oxida (al sulfóxido). Así, K* = lisina modificada con fructosamina, C* = cisteína carbamidometilada y M_{ox} = sulfóxido de metionina.

10 La glicosilación se determina preferentemente en dos a quince, en particular preferentemente en cinco a diez de las posiciones de glicosilación mencionadas anteriormente, donde al menos una glicosilación se determina en la SEQ ID No. 27.

15 En una realización de la invención, una glicosilación específica de los residuos de lisina se lleva a cabo en el estado hiperglucémico en pacientes con diabetes tipo II

- 20 - Lys 174 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 414 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 574 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- 25 - Lys 163 en la cadena β de fibrinógeno humano (P02675, SEQ ID No. 33),
- Lys 50 en la región C de la cadena λ de Ig humana (P01842; SEQ ID No. 36),
- 30 - Lys 141 de haptoglobina humana (P00738; SEQ ID No. 38).

o en las posiciones de glicosilación de las secuencias según las SEQ ID No. 5, 11, 14, 18, 24 y 27. En comparación, no se pudo encontrar glicosilación en las posiciones de glicosilación de los residuos de lisina mencionados anteriormente o las secuencias SEQ ID No. 5, 11, 14, 18, 24 y 27 en un grupo de control. Según la invención, en particular, la glicosilación del residuo de lisina 141 en la SEQ ID No. 27 en combinación con el nivel de HbA_{1c} presenta una alta sensibilidad del 93,8 % y una alta selectividad del 97,9 % para el diagnóstico de diabetes tipo 2.

40 Por lo tanto, las posiciones de glicosilación son adecuadas para su uso como biomarcadores para el diagnóstico de diabetes, en particular diabetes *mellitus* tipo II y/o para la monitorización de un tratamiento contra la diabetes, en particular diabetes *mellitus* tipo II. La glicosilación de estas 6 lisinas o secuencias según SEQ ID No. 5, 11, 14, 18, 24 y 27 es un signo de inicio de diabetes.

45 En una realización adicional de la invención, una glicosilación específica de los residuos de lisina se lleva a cabo en el estado hiperglucémico en pacientes con diabetes tipo II

- Lys 93 (con y sin Met(O)) en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 181 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 233 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 378 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- 50 - Lys 525 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 545 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 120 en la apolipoproteína A-I humana (P02647, SEQ ID No. 37),

55 o en las posiciones de glicosilación de las secuencias según las SEQ ID No. 3, 6, 7, 10, 12, 23 y 25. En comparación, no se pudo encontrar glicosilación en las posiciones de glicosilación de los residuos de lisina mencionados anteriormente o las secuencias SEQ ID No. 3, 6, 7, 10, 12, 23 y 25 en un grupo de control.

Por lo tanto, las posiciones de glicosilación son adecuadas para su uso como biomarcador para la detección temprana de diabetes, en particular diabetes *mellitus* tipo II, antes de la manifestación de problemas de salud. La glicosilación de estas 7 lisinas o secuencias según SEQ ID No. 3, 6, 7, 10, 12, 23 y 25 es un signo de inicio de diabetes.

En una realización adicional, el procedimiento comprende las etapas:

- separar las proteínas plasmáticas de una muestra de sangre,
- realizar una digestión enzimática de las proteínas plasmáticas,
- determinar el estado de glicosilación de al menos uno de los siguientes residuos de lisina seleccionados de entre SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46, preferentemente seleccionados de entre

- Lys 174 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 414 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 574 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 163 en la cadena β de fibrinógeno humano (P02675, SEQ ID No. 33),
- Lys 50 en la región C de la cadena λ de Ig humana (P01842; SEQ ID No. 36),
- Lys 141 de haptoglobina humana (P00738; SEQ ID No. 38)

o un péptido seleccionado de entre la SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46, preferentemente de entre la SEQ ID No. 5, 11, 14, 18, 24 y 27, en particular preferentemente en la SEQ ID No. 27

- como también la determinación del nivel de HbA_{1c}, donde la glicosilación en la posición de glicosilación se correlaciona a continuación con el nivel de HbA_{1c}.

En una realización adicional, el procedimiento comprende las etapas:

- separar las proteínas plasmáticas de una muestra de sangre,
- preferentemente: Realizar una digestión enzimática de las proteínas plasmáticas,
- determinar el estado de glicosilación de al menos uno de los siguientes residuos de lisina seleccionados de entre SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46, preferentemente seleccionados de entre

- Lys 93 (con o sin Met(O)) en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 181 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 233 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 378 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 525 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 545 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 120 en la apolipoproteína A-I humana (P02647, SEQ ID No. 37),

o un péptido seleccionado de entre la SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46, preferentemente de entre la SEQ ID No. 3, 6, 7, 10, 12, 23 y 25

- como también la determinación del nivel de HbA_{1c}, donde la glicosilación en las posiciones de glicosilación se correlaciona a continuación con el nivel de HbA_{1c}

Las proteínas plasmáticas se separan, por ejemplo, por centrifugación. En principio, todas las proteasas que aseguran la degradación de las proteínas plasmáticas son adecuadas para la digestión enzimática. Por ejemplo, la tripsina se puede usar para la digestión.

En una variante de la invención, se realiza una cromatografía de afinidad para separar péptidos glicosilados y/o una extracción en fase sólida después de la digestión enzimática. Por ejemplo, se usa una columna o preferentemente partículas magnéticas para la cromatografía de afinidad. En una realización de la invención, la cromatografía de ácido borónico se realiza como cromatografía de afinidad.

Existe una interacción específica entre los grupos cis-diol de los residuos de azúcar en los péptidos Amadori y el ácido borónico. Por lo tanto, la cromatografía de ácido borónico es en particular adecuada para el enriquecimiento efectivo de los péptidos Amadori.

El estado de glicosilación se determina preferentemente por medio de espectrometría de masas, FRET (transferencia de energía de Förster), ELBIA (inmunoensayo de boronato ligado a enzimas) o inmunoensayo.

En una realización adicional de la invención, se especifica un procedimiento para el diagnóstico no invasivo de diabetes, en particular diabetes *mellitus* tipo II, donde la glicosilación de proteínas plasmáticas humanas en al menos una posición de glicosilación se selecciona de entre

- Lys 557 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 75 en la región C de la cadena κ de Ig humana (P01834, SEQ ID No. 32),
- Lys 131 en la apolipoproteína A-I humana (P02647, SEQ ID No. 37),

- Lys 163 en la cadena β de fibrinógeno humano (P02675, SEQ ID No. 33), y
- Lys 1162 de macroglobulina α -2 humana (P01023, SEQ ID No. 34),
- como también se lleva a cabo la determinación del nivel de HbA_{1c}, donde la glicosilación en las posiciones de glicosilación se correlaciona a continuación con el nivel de HbA_{1c}.

El número P detrás del nombre de la proteína es el Identificador UniProt. Las posiciones de secuencia se refieren a las secuencias que se almacenan en la lista de secuencias adjunta bajo la SEQ ID entre paréntesis. La posición en la seroalbúmina humana se refiere a la proteína madura sin el péptido de señal especificado en la entrada UniProt y sin propéptido.

La glicosilación se determina preferentemente en dos a cinco, en particular preferentemente en tres a cinco, más preferentemente en las cinco posiciones de glicosilación mencionadas anteriormente.

La glicosilación se selecciona preferentemente en al menos una secuencia de entre la SEQ ID No. 16, 18, 22, 26 o 44. La glicosilación se determina preferentemente en dos a cinco, en particular preferentemente en tres a cinco, más preferentemente en las cinco SEQ ID No. 16, 18, 22, 26 o 44.

Las secuencias de las posiciones de glicosilación de las proteínas plasmáticas humanas según la invención se muestran en la Tabla 2 a continuación:

Tabla 2

SEQ ID No.	Secuencia	Anotación de la proteína	Posición ^b
44	AVMDDFAAFVEK*C*C*K	Seroalbúmina humana (P02768)	K557
16	DSTYSLSSTLTLSK*ADYEK	Región C de cadena κ de Ig (P01834)	K75
26	K*WQEEMEL YR	Apolipoproteína A-I (P02647)	K131
18	QVK*DNENVVNEYSSELEK	Cadena β de fibrinógeno (P02675)	K163
22	ALLAYAFALAGNQDK*R	Macroglobulina α -2 (P01023)	K1162

La glicosilación se lleva a cabo en la posición de los residuos de lisina (K) de las proteínas plasmáticas que figuran en la Tabla 1. Un producto de Amadori se forma preferentemente en cada caso por glicosilación en la lisina (K). La secuencia con SEQ ID No. 44 puede alquilarse adicionalmente en una o más cisteínas (C*) como resultado del protocolo utilizado para la escisión enzimática de la muestra de plasma o suero. El azufre es opcional en las metioninas Met3 en la SEQ ID No. 44 y/o Met6 en la SEQ ID No 26 cada una oxidada (al sulfóxido).

Sorprendentemente, se encontró que una glicosilación específica de los residuos de lisina tiene lugar en el estado hiperglucémico en pacientes con diabetes tipo II

- Lys 557 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 75 en la región C de la cadena κ de Ig humana (P01834, SEQ ID No. 32),
- Lys 131 en la apolipoproteína A-I humana (P02647, SEQ ID No. 37),
- Lys 163 en la cadena β de fibrinógeno humano (P02675, SEQ ID No. 33), y
- Lys 1162 de macroglobulina α -2 humana (P01023, SEQ ID No. 34)

o en las posiciones de glicosilación de las secuencias según las SEQ ID No. 16, 18, 22, 26 o 44. En comparación, no se pudo encontrar glicosilación en las posiciones de glicosilación de los residuos de lisina mencionados anteriormente o las secuencias SEQ ID No. 16, 18, 22, 26 y 44 en un grupo de control. Por lo tanto, las posiciones de glicosilación son adecuadas para su uso como biomarcadores para el diagnóstico de diabetes, en particular diabetes *mellitus* tipo II y/o para la monitorización de un tratamiento contra la diabetes, en particular diabetes *mellitus* tipo II. La glicosilación de estas 5 lisinas o secuencias según SEQ ID No. 16, 18, 22, 26 o 44 es un signo de inicio de diabetes.

En una realización adicional, el procedimiento comprende las etapas:

- separar las proteínas plasmáticas de una muestra de sangre,
- preferentemente: Realizar una digestión enzimática de las proteínas plasmáticas,
- determinar el estado de glicosilación de al menos uno de los siguientes residuos de lisina seleccionados de entre:

- Lys 557 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 75 en la región C de la cadena κ de Ig humana (P01834, SEQ ID No. 32),
- Lys 131 en la apolipoproteína A-I humana (P02647, SEQ ID No. 37),

- Lys 163 en la cadena β de fibrinógeno humano (P02675, SEQ ID No. 33), y
 - Lys 1162 de macroglobulina α -2 humana (P01023, SEQ ID No. 34)
- o un péptido seleccionado de una secuencia de entre la SEQ ID No. 16, 18, 22, 26 o 44

- 5 - como también la determinación del nivel de HbA_{1c}, donde la glicosilación en las posiciones de glicosilación se correlaciona a continuación con el nivel de HbA_{1c}.

Las proteínas plasmáticas se separan, por ejemplo, por centrifugación. En principio, todas las proteasas que aseguran la degradación de las proteínas plasmáticas son adecuadas para la digestión enzimática. Por ejemplo, la tripsina se puede usar para la digestión.

En una variante de la invención, se realiza una cromatografía de afinidad para separar péptidos glicosilados y/o una extracción en fase sólida después de la digestión enzimática. Por ejemplo, se usa una columna o preferentemente partículas magnéticas para la cromatografía de afinidad. En una realización de la invención, la cromatografía de ácido borónico se realiza como cromatografía de afinidad. Existe una interacción específica entre los grupos cis-diol de los residuos de azúcar en los péptidos Amadori y el ácido borónico. Por lo tanto, la cromatografía de ácido borónico es en particular adecuada para el enriquecimiento efectivo de los péptidos Amadori.

El estado de glicosilación se determina preferentemente por medio de espectrometría de masas, FRET (transferencia de energía de Förster), ELBIA (inmunoensayo de boronato ligado a enzimas) o inmunoensayo.

El procedimiento preferentemente comprende adicionalmente determinar el estado de glicosilación de al menos uno de los residuos de lisina siguientes seleccionados de entre:

Proteína	Posición	SEQ ID No.
Seroalbúmina humana (P02768)	K359	31
Seroalbúmina humana (P02768)	K262	31

Seroalbúmina humana (P02768)	K64	31
Seroalbúmina humana (P02768)	K181	31
Seroalbúmina humana (P02768)	K174	31
Seroalbúmina humana (P02768)	K51	31
Seroalbúmina humana (P02768)	K557	31
Seroalbúmina humana (P02768)	K378	31
Seroalbúmina humana (P02768)	K233	31
Seroalbúmina humana (P02768)	K545	31
Región C de cadena κ de Ig humana (P01834)	K99	32
Región C de cadena κ de Ig humana (P01834)	K41	32
Apolipoproteína A-I humana (P02647)	K120	37
Serotransferrina humana (P02787)	K683	35
Cadena β de fibrinógeno humano (P02675)	K211	33

Las posiciones de secuencia se refieren a las secuencias que se almacenan en la lista de secuencias adjunta bajo la SEQ ID entre paréntesis. Las posiciones en la seroalbúmina humana se refieren a la proteína madura sin el péptido de señal especificado en la entrada UniProt y sin propéptido.

La glicosilación se determina preferentemente en dos a cinco, en particular preferentemente en cinco a diez posiciones de glicosilación mencionadas anteriormente.

Para este propósito, se determina preferentemente el estado de glicosilación de al menos un péptido seleccionado de entre una secuencia de las SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46 (véanse también las Tablas 1 y 2). La glicosilación tiene lugar en la posición de los residuos de lisina (K) de las proteínas plasmáticas que figuran en la Tabla 1 o 2. Un producto de Amadori se forma preferentemente en cada caso por glicosilación en la lisina (K). Las secuencias pueden alquilarse adicionalmente en una o más de las cisteínas marcadas con C* resultado del protocolo utilizado para la escisión enzimática de la muestra plasmática o sérica. Opcionalmente, el azufre en las metioninas se oxida (al sulfóxido). Se encontró que en el estado hiperglucémico de la diabetes, en particular en pacientes con diabetes

mellitus tipo II, está presente un aumento considerable de la glucosilación en las posiciones de glucosilación en las secuencias SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46. Por tanto, las secuencias SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46, preferentemente al menos la SEQ ID No. 27 sirven para apoyar el diagnóstico basado en la determinación de la glucosilación en al menos una posición de glucosilación seleccionada de entre las secuencias SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46. Las

5 secuencias de las SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46 se desprenden de las Tablas 1 y 2. El procedimiento incluye determinar la glucosilación en al menos una posición seleccionada de entre las secuencias SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46 y la comparación de la glucosilación con un valor de control, como también con el valor del nivel de HbA_{1c}, donde la glucosilación en las posiciones de glucosilación a continuación se correlaciona con el nivel de HbA_{1c}. Si se excede el valor de control, se establece la presencia de diabetes, en particular diabetes *mellitus* tipo II.

10 La glucosilación se selecciona preferentemente en al menos una secuencia de entre la SEQ ID No. 1 a 30, como también 44 a 46, preferentemente al menos la SEQ ID No. 27. La glucosilación se determina preferentemente en dos a cinco, en particular preferentemente en cinco a diez de las SEQ ID No. 1 a 30, como también 44 a 46.

15 La invención también se refiere a las secuencias SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46, como también al uso de una lisina glicosilada seleccionada de entre:

- Lys 174 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 414 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- 20 - Lys 574 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 163 en la cadena β de fibrinógeno humano (P02675, SEQ ID No. 33),
- Lys 50 en la región C de la cadena λ de Ig humana (P01842; SEQ ID No. 36),
- Lys 141 de haptoglobina humana (P00738; SEQ ID No. 38)
- Lys 93 (con o sin Met(O)) en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- 25 - Lys 181 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 233 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 378 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 525 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 545 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- 30 - Lys 120 en la apolipoproteína A-I humana (P02647, SEQ ID No. 37)

o en las posiciones de glucosilación de las secuencias según las SEQ ID No. 5, 11, 14, 18, 24, 27, 3, 6, 7, 10, 12, 23 y 25 para el diagnóstico no invasivo de diabetes, en particular diabetes *mellitus* tipo II.

35 La invención también se refiere a las secuencias SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46, como también al uso de una lisina glicosilada seleccionada de entre:

- Lys 174 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 414 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- 40 - Lys 574 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 163 en la cadena β de fibrinógeno humano (P02675, SEQ ID No. 33),
- Lys 50 en la región C de la cadena λ de Ig humana (P01842; SEQ ID No. 36),
- Lys 141 de haptoglobina humana (P00738; SEQ ID No. 38)
- Lys 93 (con o sin Met(O)) en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- 45 - Lys 181 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 233 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 378 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 525 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 545 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- 50 - Lys 120 en la apolipoproteína A-I humana (P02647, SEQ ID No. 37),

o en las posiciones de glucosilación de las secuencias según las SEQ ID No. 5, 11, 14, 18, 24, 27, 3, 6, 7, 10, 12, 23 y 25 para la monitorización del tratamiento contra la diabetes, en particular la diabetes *mellitus* tipo II,

55 - como también la determinación del nivel de HbA_{1c}, donde la glucosilación en las posiciones de glucosilación se correlaciona a continuación con el nivel de HbA_{1c}.

La invención también se refiere a un kit para el diagnóstico no invasivo de diabetes, en particular diabetes *mellitus* tipo II, que comprende al menos un reactivo que presenta afinidad por al menos un antígeno, el cual se forma por un péptido, el cual presenta la posición de glucosilación Lys 141 de la haptoglobina humana (P00738; SEQ ID No. 38).

60 El antígeno tiene preferiblemente una longitud de 7 a 25 residuos de aminoácidos. El antígeno se forma particularmente preferiblemente a partir de una secuencia seleccionada de entre las secuencias SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46, particularmente preferiblemente seleccionada de entre SEQ ID No. 5, 11, 14, 18, 24, 27, 3, 6, 7, 10, 12, 23 y 25.

Según la invención, el antígeno se detecta en el estado glicosilado.

El reactivo tiene propiedades de unión específicas para el antígeno. En una realización de la invención, el reactivo es un anticuerpo, un aptámero oligonucleotídico o un aptámero peptídico. El término anticuerpo abarca fragmentos de anticuerpos producidos de forma recombinante tales como, p. ej., fragmentos de scFV.

En una realización de la invención, el kit comprende además al menos un componente de ácido borónico inmovilizado para el enriquecimiento de proteínas y péptidos glicosilados. En un primer paso, las proteínas y péptidos glicosilados (proteínas Amadori o péptidos Amadori) pueden separarse por interacción específica del ácido borónico con los grupos cis-diol de los residuos de azúcar en las proteínas Amadori o péptidos Amadori. Las proteínas Amadori o los péptidos Amadori (en particular, SEQ ID No. 5, 11, 14, 18, 24, 27, 3, 6, 7, 10, 12, 23 y 25) se determinan utilizando anticuerpos.

El enriquecimiento no es absolutamente necesario cuando se utilizan técnicas particularmente sensibles, como la espectrometría de masas en tándem.

En una realización adicional de la invención, el kit comprende un ELBIA (inmunoensayo de boronato ligado a enzimas). En este, al menos un anticuerpo se inmoviliza primero en un recipiente de reacción (placa de 96 pocillos; microrrecipiente (1,5 ml)) contra una secuencia seleccionada de entre SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46. Luego se introduce una muestra a analizar en el recipiente de reacción, lo que resulta en una interacción específica entre el anticuerpo y el antígeno, donde el antígeno se selecciona como se describió anteriormente. Los péptidos no unidos se eliminan mediante lavado. Luego se agrega un conjugado de ácido borónico, por ejemplo, conjugado de ácido borónico-peroxidasa, y se inicia una reacción de peroxidasa mediante la adición adicional de o-fenilendiamina y H₂O₂. El curso de la reacción se puede controlar fotométricamente a 492 nm.

La invención también se refiere al uso de una lisina glicosilada seleccionada de entre SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46, preferentemente seleccionada de entre:

- Lys 174 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 414 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 574 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 163 en la cadena β de fibrinógeno humano (P02675, SEQ ID No. 373),
- Lys 50 en la región C de la cadena λ de Ig humana (P01842; SEQ ID No. 36),
- Lys 141 de haptoglobina humana (P00738; SEQ ID No. 38)
- Lys 93 (con o sin Met(O)) en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 181 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 233 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 378 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 525 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 545 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 120 en la apolipoproteína A-I humana (P02647, SEQ ID No. 37),

o en las posiciones de glicosilación de las secuencias según las SEQ ID No. 5, 11, 14, 18, 24, 27, 3, 6, 7, 10, 12, 23 y 25, preferentemente la SEQ ID No. 27 como biomarcadores para el diagnóstico de diabetes, en particular diabetes *mellitus* tipo II y/o para la monitorización de un tratamiento contra la diabetes, en particular diabetes *mellitus* tipo II.

La invención también se refiere a un biomarcador que comprende al menos una lisina glicosilada seleccionada de entre SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46, preferentemente seleccionada de entre:

- Lys 174 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 414 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 574 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 163 en la cadena β de fibrinógeno humano (P02675, SEQ ID No. 373),
- Lys 50 en la región C de la cadena λ de Ig humana (P01842; SEQ ID No. 36),
- Lys 141 de haptoglobina humana (P00738; SEQ ID No. 38)
- Lys 93 (con o sin Met(O)) en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 181 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 233 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 378 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 525 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 545 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 120 en la apolipoproteína A-I humana (P02647, SEQ ID No. 37),

o en las posiciones de glicosilación de las secuencias según las SEQ ID No. 5, 11, 14, 18, 24, 27, 3, 6, 7, 10, 12, 23 y 25, preferentemente la SEQ ID No. 27 para el diagnóstico de diabetes, en particular diabetes *mellitus* tipo II y/o para la monitorización de un tratamiento contra la diabetes, en particular diabetes *mellitus* tipo II.

La invención también se refiere a un procedimiento para diagnosticar diabetes, en particular diabetes *mellitus* tipo II, que comprende las etapas:

- 5 - separar las proteínas plasmáticas de una muestra de sangre,
- realizar una digestión enzimática de las proteínas plasmáticas,
- determinar el estado de glicosilación de al menos uno de los siguientes residuos de lisina seleccionados de
10 entre SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46, preferentemente seleccionados de entre
- Lys 174 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 414 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 574 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- 15 - Lys 163 en la cadena β de fibrinógeno humano (P02675, SEQ ID No. 373),
- Lys 50 en la región C de la cadena λ de Ig humana (P01842; SEQ ID No. 36),
- Lys 141 de haptoglobina humana (P00738; SEQ ID No. 38)
- Lys 93 (con o sin Met(O)) en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 181 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- 20 - Lys 233 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 378 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 525 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 545 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
- Lys 120 en la apolipoproteína A-I humana (P02647, SEQ ID No. 37),
- 25 o en las posiciones de glicosilación de las secuencias según las SEQ ID No. 5, 11, 14, 18, 24, 27, 3, 6, 7, 10, 12, 23 y 25, preferentemente la SEQ ID No. 27

30 Sorprendentemente, se encontró que una correlación de la determinación del valor de glicosilación en una posición de glicosilación seleccionada de entre SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46 puede lograr una alta selectividad con el nivel de HbA_{1c}. Mediante el análisis de componentes principales, se puede reconocer una estructura o un patrón en un conjunto de datos de sujetos de prueba, por lo que después de la categorización previa de los pacientes individuales, se demostró que un cierto porcentaje de pacientes diabéticos presentan un comportamiento distinto al de los otros sujetos de prueba debido a ciertos parámetros.

35 El análisis de componentes principales (PCA, del inglés Principal Component Analysis) es un procedimiento de estadísticas multivariadas. Se utiliza para estructurar, simplificar e ilustrar conjuntos de datos extensos al aproximar un gran número de variables estadísticas por medio de un número menor de combinaciones lineales significativas (los «componentes principales»). Una transformación del eje principal se realiza matemáticamente: La correlación de
40 las características multidimensionales se minimiza al transferirlas a un espacio vectorial con una nueva base. La transformación del eje principal puede especificarse mediante una matriz ortogonal, que se forma a partir de los vectores propios de la matriz de covarianza. El análisis del componente principal depende del problema, porque se debe calcular una matriz de transformación separada para cada registro de datos. La rotación del sistema de coordenadas se lleva a cabo de modo que la matriz de covarianza se diagonalice, es decir, los datos se
45 desacorrelacionan (las correlaciones son las entradas no diagonales de la matriz de covarianza). Para conjuntos de datos distribuidos normalmente, esto significa que los componentes individuales de cada conjunto de datos son estadísticamente independientes entre sí según el PCA, ya que la distribución normal se caracteriza completamente por los momentos cero (normalización), primero (promedio) y segundo (covarianzas).

50 El análisis de componentes principales (PCA) también se usa a menudo en el análisis de conglomerados y para reducir la dimensión del espacio de parámetros, especialmente si no se tiene idea (modelo) de la estructura de los datos. Esto aprovecha el hecho de que el PCA gira el sistema de coordenadas (ortogonal) de tal manera que la matriz de covarianza se diagonaliza. Además, el PCA reorganiza el orden de los ejes de coordenadas (los
55 componentes principales) para que el primer componente principal contenga la mayor parte de la dispersión total (varianza total) en el conjunto de datos, el segundo componente principal, la segunda mayor parte, y así sucesivamente. Como se ilustra en los ejemplos de la sección anterior, generalmente se pueden eliminar los componentes principales posteriores (es decir, aquellos que contengan solo una pequeña parte de la dispersión total) sin reemplazo, sin causar una pérdida significativa de información.

60 La suposición básica para usar el PCA para el análisis de conglomerados y la reducción de dimensiones es: Las direcciones con la mayor variación (varianza) contienen la mayor cantidad de información.

Posteriormente se realizó un análisis de conglomerados, donde se supuso que los diabéticos se pueden diferenciar
65 en tres subgrupos con respecto al patrón de glicosilación. Se demostró que la reducción del conjunto de datos a tres dimensiones (componentes principales) permitió que los diabéticos se dividieran en tres conglomerados, lo que está en línea con las observaciones clínicas.

Por un análisis de conglomerados (algoritmo de conglomerado, ocasionalmente también: Análisis de aglutinación) se entiende un procedimiento para descubrir estructuras de similitud en bases de datos (grandes). Los grupos de objetos «similares» encontrados de esta manera se denominan conglomerados y la asignación de grupos se denomina agregación. Los grupos de similitud encontrados pueden ser graficoteóricos, jerárquicos, particionadores u optimizadores.

Las propiedades de los objetos a examinar se interpretan matemáticamente como variables aleatorias. Generalmente se representan en forma de vectores como puntos en un espacio vectorial, cuyas dimensiones forman las características de propiedad del objeto. Las áreas en las que se acumulan puntos (nube de puntos) se denominan conglomerados. En los diagramas de dispersión, las distancias entre los puntos o la varianza dentro de un conglomerado sirven como las llamadas medidas de proximidad, que expresan la similitud o diferencia entre los objetos.

Un conglomerado también se puede definir como un grupo de objetos que tienen una suma mínima de distancias en relación con un centro de gravedad calculado. Esto requiere la selección de una dimensión de distancia. En ciertos casos, las distancias (o las similitudes, y viceversa) de los objetos entre sí se conocen directamente, por lo que no tienen que determinarse a partir de la representación en el espacio vectorial.

Para realizar el análisis de conglomerados en 50 pacientes con diabetes tipo 2, en el presente caso se utilizó el algoritmo de maximización de expectativas (algoritmo EM para abreviar). Los valores que faltan fueron reemplazados por valores medios del vector de características correspondiente. El espacio de características contiene aproximadamente edad, peso, altura, abundancia de proteínas, perfil, etc. El procedimiento incluye la suposición de que los datos están sujetos a una distribución normal multivariada. En función del conocimiento previo, se supuso un número de conglomerados de tres. Los resultados muestran una muy buena distribución de los conglomerados. Además, se realizó una prueba de estabilidad del conglomerado según el «criterio del codo», donde se pudo demostrar que el número máximo de conglomerados obtenido es tres.

La idea central del algoritmo EM es comenzar con un modelo elegido al azar y, alternativamente, mejorar la asignación de los datos a las partes individuales del modelo (etapa de expectativa) y los parámetros del modelo a la última asignación (etapa de maximización). En ambos pasos, se mejora la calidad del resultado: en el paso E, los puntos se asignan mejor, en el paso M, el modelo se cambia para que se ajuste mejor a los datos. Si no hay una mejora significativa, el procedimiento finaliza.

La agregación EM es un procedimiento para el análisis de conglomerados que representa los datos con un modelo de «mezcla de gaussianas», es decir, como una superposición de distribuciones normales. Este modelo se inicializa aleatoriamente o heurísticamente y luego se refina con el principio EM general.

Para clasificar 48 pacientes con diabetes tipo 2 y 48 sujetos de control se utilizó el algoritmo de árbol de decisión. El espacio de características se formó a partir del perfil de abundancia de 27 secuencias de péptidos glicosilados seleccionadas de entre SEQ ID No 1 a 30 y 44 a 46 y el valor de HbA_{1c}. El árbol de decisión es un algoritmo voraz gradual. Los algoritmos voraces forman una clase especial de algoritmos, caracterizados por el hecho de que seleccionan gradualmente el estado posterior que promete el mayor beneficio o el mejor resultado en el momento de la elección (por ejemplo, procedimiento de gradiente). Una función de evaluación se usa a menudo para hacer una selección de los estados posteriores. En el presente caso, se agregó una característica en cada etapa si se lograba un aumento en la precisión. Por ejemplo, se puede calcular una especificidad de 97,9 % para una combinación de HbA_{1c} y Lys-141 en haptoglobina (SEQ ID No. 27). Así, en función de HbA_{1c} (94 % de especificidad y 77 % de sensibilidad) y Lys-141 en haptoglobina (SEQ ID No. 27) (HP K141, 83 % de especificidad y 60 % de sensibilidad) mediante la combinación de ambos marcadores se puede lograr una sensibilidad significativamente mejor que 93,8 % y una especificidad aún mayor que 97,9 % para el diagnóstico de diabetes tipo 2.

Para implementar la invención, también es conveniente combinar las realizaciones descritas anteriormente. La invención se explica con más detalle a continuación con la ayuda de algunas realizaciones y figuras ejemplares, sin limitarse a las mismas.

La figura 1 muestra una representación esquemática de la cuantificación de péptidos glicosilados seleccionados,

la figura 2 muestra un análisis de correlación para la correlación de contenidos de péptidos Amadori y los valores de IMC y péptido C,

la figura 3 muestra una ilustración esquemática de un análisis de componentes principales con división en tres subgrupos,

la figura 4 muestra una representación esquemática de los valores de HbA_{1c} trazados contra el grado de glicosilación de HbA_{1c} y Lys-141 en haptoglobina (SEQ ID No. 27),

la figura 5 muestra una representación esquemática de las curvas ROC para el grado de glicosilación de Lys-141 en haptoglobina (HP K141) y HbA_{1c} y

la figura 6 muestra una representación esquemática de la determinación ejemplar de los péptidos glicosilados mediante espectrometría de masas en tándem.

En un primer ejemplo de realización, la cuantificación de péptidos glicosilados seleccionados en la digestión triptica de muestras de plasma de diabéticos tipo 2 y sujetos de control se muestra en la figura 1. Las diferencias entre los sujetos de control y los diabéticos tipo 2 fueron estadísticamente significativas ($p < 0,0001$).

En una realización ejemplar adicional, se muestra un análisis de correlación según Spearman en la figura 2. Esto da como resultado el coeficiente de correlación de Spearman (r_s) (valores numéricos indicados como puntos) para la correlación de los contenidos de péptidos Amadori y los valores de IMC (A) y péptido C (B) de los sujetos de prueba individuales.

El coeficiente de correlación de intervalo de Spearman es una medida de la fuerza de una relación monótona entre dos cantidades al menos ordinariamente escaladas. A diferencia del coeficiente de correlación de Pearson, no se asume ninguna relación lineal al calcular el coeficiente de correlación de Spearman. Los requisitos previos son que las variables a correlacionar están al menos escaladas ordinariamente, que hay pares independientes de observaciones y que la relación examinada es monótona.

Para el cálculo, los valores de ambas características se ordenan primero en orden ascendente según el tamaño y los números de intervalo correspondientes. La diferencia se calcula para cada par de valores (x_i, y_i). El coeficiente de correlación de Spearman r_s es el siguiente:

$$r_s = 1 - \frac{6 \cdot \sum_{i=1}^n d_i^2}{n \cdot (n^2 - 1)}$$

Así, N es el número de pares de observación. Si el coeficiente de correlación $r_s > 0$, hay una relación positiva; si $r_s < 0$, hay una relación negativa. No hay relación si $r_s = 0$. El coeficiente de correlación r_s toma valores entre -1 y $+1$. Cuanto más cerca de 0 esté r_s , más débil será la relación, cuanto más cerca de -1 o $+1$ esté r_s , más fuerte será la relación.

En una realización ejemplar adicional, se muestra un análisis de conglomerados en la figura 3 suponiendo que haya tres tipos de diabetes. Los conglomerados resultantes se representan como 0, 1 y 2 y cada uno presenta similitudes que existen por sí mismas.

En una realización ejemplar adicional, los valores de HbA_{1c} de diabéticos y sujetos de control se trazan en la figura 4 contra el grado de glicosilación de HbA_{1c} y Lys-141 en haptoglobina. Se verificó si la combinación de distintos parámetros de diagnóstico con el grado de glicosilación de los sitios de glicosilación individuales resultó en un aumento de la sensibilidad y la selectividad para el diagnóstico de diabetes. Por ejemplo, la combinación de HbA_{1c} y Lys-141 en haptoglobina (SEQ ID No. 27) (HP K141) mediante la combinación de ambos marcadores se puede lograr una sensibilidad significativamente mejor que 93,8 % y una especificidad aún mayor que 97,9 % para el diagnóstico de diabetes tipo 2. La figura 5 muestra curvas ROC para el grado de glicosilación de Lys-141 en haptoglobina (SEQ ID No. 27) (HP K141) 83 % de especificidad y 60 % de sensibilidad y para HbA_{1c} 94 % de especificidad y 77 % de sensibilidad. La curva de características operativas del receptor (ROC, del inglés *Receiver Operating Characteristic*) o la curva de optimización del valor límite es un procedimiento para evaluar y optimizar las estrategias de análisis. La curva ROC muestra visualmente la dependencia de la eficiencia con la tasa de error para distintos valores de parámetros. Es una aplicación de la teoría de detección de señal.

En una realización ejemplar adicional, se describe la determinación de la glicosilación en las posiciones de glicosilación de las secuencias SEQ ID No. 1 a 30. Las muestras de sangre de pacientes con diabetes *mellitus* tipo II y pacientes no diabéticos se centrifugan primero (9168 g, 30 min, 4 °C, centrífuga Allegra 21R, Beckman Coulter, Krefeld). El sobrenadante se diluye 10 veces con hidrogenocarbonato de amonio (0,1 mol/l, pH 8,0) y luego se desala mediante un filtro Vivaspin (Sartorius Stedim Biotech). La concentración de proteína obtenida se determinó usando el ensayo de Bradford. Se mezclaron alícuotas con un contenido de proteína de 25 µg con SDS (10 % en agua, agua:volumen, 2 µl) y TCEP (clorhidrato de Tris (2-carboxietil) fosfina, 50 mmol/l) y se diluyó con disolución acuosa de hidrogenocarbonato de amonio (50 mmol/l) en un volumen final de 20 µl y se incubó durante 15 minutos a 60 °C. Las muestras se enfriaron a temperatura ambiente y se alquilieron con yodoacetamida (0,1 mol/l, 2,2 µl) con exclusión de la luz (15 minutos a temperatura ambiente). Posteriormente, se realizó una digestión enzimática con tripsina (25 mg/l en 50 mmol/l de hidrogenocarbonato de amonio, 50 µl) a 37 °C durante la noche. La digestión completa se verificó examinando la banda de albúmina de suero humano usando SDS-PAGE.

Alícuotas de las muestras digeridas (20 µg) se diluyeron a un volumen de 300 µl con tampón frío (4 °C, 50 mmol/l de

acetato de magnesio; 250 mmol/l de acetato de amonio, pH 8,1). Las muestras se aplicaron a una columna de polipropileno (1 ml; Qiagen) llena de mAPBA (agarosa de ácido m-aminofenilborónico 1 ml, volumen del lecho de la columna).

- 5 Los péptidos Amadori se eluyeron en dos etapas con ácido acético (0,1 mol/l, 7 ml y 0,2 mol/l, 1 ml) a 37 °C. Los eluidos se liofilizaron.

- 10 Los liofilizados se recogieron en una mezcla de disolución acuosa de acetonitrilo (20 %, volumen/volumen, 12,5 µl) y ácido fórmico (0,1 %, volumen/volumen, 87,5 µl) y en una punta de pipeta de gel C18 para extracción en fase sólida (Thermo Fisher Scientific), que se equilibró con una disolución de acetonitrilo acuoso (2,5 %) que contenía ácido fórmico (0,1 %) (eluyente A). La punta de la pipeta de gel se lavó con 150 µl de eluyente A antes de eluir los péptidos con una disolución acuosa de acetonitrilo (60 %) que contenía ácido fórmico (0,1 %) (eluyente B).

- 15 La determinación de la glicosilación en las posiciones de glicosilación de las secuencias SEQ ID No. 1 a 30 se realizó mediante espectrometría de masas. Para este propósito, las muestras se disolvieron en disolución acuosa de acetonitrilo (3 %, volumen/volumen; 50 µl). Se aplicaron alícuotas (10 µl) en una columna de trampa nanoAcquity UPLC Symmetry (Waters GmbH) (5 µl/min, 5 min) y en una columna nano Acquity UPLC BEH130 (Waters GmbH) (30 °C) utilizando un nanoAcquity UPLC Systems (Waters GmbH) por separado. Los analitos se eluyeron con un gradiente lineal del 3 % al 50 % (45 min) y del 50 % al 80 % de eluyente B (2 min) a un caudal de 0,4 µl/min. Los eluyentes se analizaron mediante espectrometría de masas en tándem (LTQ Orbitrap XL ETD; Thermo Fisher Scientific). Para la asignación de los péptidos, se añadieron péptidos enriquecidos con ¹³C a las muestras y los péptidos glicosilados presentes de forma nativa se cuantificaron en comparación con los péptidos añadidos. Alternativamente, los péptidos se asignaron mediante una comparación con la base de datos SwissProt, y los péptidos Amadori se asignaron manualmente. Un ejemplo de tal asignación se muestra en la figura 1. La figura 5A muestra un cromatograma de la UPLC con los tiempos de retención de los analitos individuales, mientras que la figura 5B muestra una representación de los fragmentos de masa de los compuestos individuales determinados por espectrometría de masas en tándem y su asignación a una secuencia.

- 30 En una realización ejemplar adicional, se describe la determinación de la glicosilación en las posiciones de glicosilación de las secuencias SEQ ID No. 1 a 30. Primero, la concentración de proteína en muestras de plasma de pacientes con diabetes *mellitus* tipo II y pacientes no diabéticos se determina usando un ensayo de Bradford. Las alícuotas correspondientes a una cantidad de proteína de 1,2 mg se diluyeron con 1,5 ml de tampón de hidrogenocarbonato de amonio (0,1 mol/l, pH 8,0) y luego se desalaron (Vivaspin 2 PES MWCO 5kDa, Sartorius Stedim Biotech). El residuo se diluyó en 500 µl con tampón de hidrogenocarbonato de amonio (0,1 mol/l, pH 8,0). Se agregaron SDS (0,5 % en agua, agua:volumen, 20,8 µl) y TCEP (clorhidrato de Tris(2-carboxietil)fosfina, 50 mmol/l, 20,8 µl) a 166,7 µl (400 µg) de la disolución y se incubó 15 min a 60 °C. Las muestras se enfriaron a temperatura ambiente y se alquilaron con yodoacetamida (0,1 mol/l, 22,9 µl) con exclusión de la luz (15 minutos a temperatura ambiente). A continuación, se realiza una digestión enzimática con tripsina (25 mg/l en tampón de hidrogenocarbonato de amonio 50 mmol/l) a 37 °C. Primero se añadieron 800 µl y después de 5 h se añadieron otros 320 µl de disolución enzimática y se incubó durante otras 12 h. Después de la digestión, se añadieron 32 µl de la disolución estándar interna (mezcla de concentración optimizada) y la disolución se liofilizó.

- 45 Los liofilizados se recogieron en tampón frío (4 °C, acetato de magnesio 50 mmol/l; acetato de amonio 250 mmol/l, pH 8,1, CH₃CN al 20 % (volumen/volumen), 100 µl) y se diluyeron hasta un volumen de 500 µl con tampón de carga (4 °C, acetato de magnesio 50 mmol/l; acetato de amonio 250 mmol/l, pH 8,1). Las muestras se aplicaron a una columna de polipropileno (1 ml; Qiagen) llena de mAPBA (agarosa de ácido m-aminofenilborónico 1 ml, volumen del lecho de la columna). Después de una etapa de lavado (15 ml de tampón de carga), los péptidos Amadori se eluyeron en dos etapas con ácido acético (0,1 mol/l, 8 ml y 0,2 mol/l, 2 ml) a 37 °C y se liofilizaron.

- 50 Los liofilizados se recogieron con una disolución acuosa de acetonitrilo (ácido fórmico al 0,1 % (volumen/volumen), 60 % (volumen/volumen), 200 µL) y la concentración del contenido de acetonitrilo en la disolución se redujo gradualmente al 5 % (volumen/volumen) con ácido fórmico al 0,1 % (volumen/volumen). Se equilibró un cartucho Oasis HLB (30 mg, 1 cc, Waters) con metanol (1 ml) y ácido fórmico acuoso al 0,1 % (volumen/volumen) (1 ml) antes de aplicar la muestra y los péptidos se eluyeron con acetonitrilo acuoso (333 µl cada uno) en relaciones de mezcla del 40 % (volumen/volumen), 60 % (volumen/volumen) y 80 % (volumen/volumen) con una adición de ácido fórmico (0,1 % (volumen/volumen)). Los eluatos combinados se liofilizaron.

- 60 Las posiciones de glicosilación de las secuencias SEQ ID No. 1 a 30 se determinaron por espectrometría de masas. Para ello, los liofilizados se recogieron con una disolución acuosa de acetonitrilo (ácido fórmico al 0,1 % (volumen/volumen), 60 % (volumen/volumen), 10 µL) y la concentración del contenido de acetonitrilo en la disolución se redujo gradualmente al 5 % (volumen/volumen) con ácido fórmico acuoso al 0,1 % (volumen/volumen) (volumen final de la disolución: 120 µL). Se aplicaron alícuotas (84 µL) de las disoluciones a una columna C18 (AdvanceBio Peptide Map, 150 mm x 2,1 mm, tamaño de partícula de 2,7 µm; Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania) y utilizando un Waters 2695 Alliance Separation Module (Waters GmbH, Eschborn, Alemania) por separado (60 °C). El eluyente A era ácido fórmico acuoso al 0,1 % (volumen/volumen) y el eluyente B era ácido fórmico al 0,1 % (volumen/volumen) en CH₃CN. La columna se equilibró (3 % de eluyente B) y los péptidos se eluyeron 3 minutos

después de la inyección con un gradiente lineal de etapas múltiples: 3 a 10 % de eluyente B en 1 min, 10 a 20 % de eluyente B en 10 min, 20 a 95 % de eluyente B en 8 min. El caudal fue de 300 µl/min. El eluido se analizó en línea en un espectrómetro de masas QqLIT (4000 QTRAP LC-MS/MS System, AB Sciex, Darmstadt, Alemania) con una fuente de iones Turbo V en modo de iones positivos. La adquisición de datos se basó en la monitorización de reacción múltiple (MRM, del inglés *multiple reaction monitoring*) con tres intervalos específicos de Q1/Q3-m/z para cada analito. Los analitos se cuantificaron mediante la integración de los picos en el cromatograma de iones extraídos (XIC, del inglés *extracted ion chromatogram*) y la estandarización interna.

Una visión general de las posiciones de glicosilación determinadas se da en la Tabla 1. Además de las 5 posiciones de glicosilación específicas en las secuencias SEQ ID No. 5, 11, 14, 18, 24, 27, 3, 6, 7, 10, 12, 23 y 25, en la diabetes *mellitus* tipo II se pueden determinar otras posiciones de glicosilación con un aumento significativo de la glicosilación en las posiciones de glicosilación de las SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46. Estas secuencias podrían utilizarse en la detección de glicosilación en al menos una posición seleccionada de entre las secuencias SEQ ID No 5, 11, 14, 18, 24, 27, 3, 6, 7, 10, 12, 23 y 25, preferiblemente al menos la SEQ ID No 27, para apoyar el diagnóstico. Así, la determinación de la glicación en al menos una posición seleccionada de entre las secuencias SEQ ID No. 5, 11, 14, 18, 24, 27, 3, 6, 7, 10, 12, 23 y 25, preferiblemente al menos la SEQ ID No 27 arrastra un cribado ampliado para la determinación de la glicosilación en al menos una secuencia seleccionada de entre las secuencias SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46 y el diagnóstico se confirma según la invención mediante la correlación con el nivel de HbA_{1c}.

Lista de secuencias

<110> Universidad de Leipzig

<120> Procedimiento y medio para el diagnóstico no invasivo de diabetes *mellitus* tipo II

<130> 00401P0076DEWO

<160> 46

<170> Versión 3.5 de la patente

<210> 1

<211> 22

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> La cisteína puede estar alquilada

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> La cisteína puede estar alquilada

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (13)..(13)

<223> glicosilada

<400> 1

Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Glu	Asn	Cys	Asp	Lys	Ser	Leu	His
1				5					10					15	

Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys
			20		

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> glicosilada

5 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> La cisteína puede estar alquilada

10 <400> 2

	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Thr	Val	Ala	Thr	Leu
	1				5					10					15	

Arg

15 <210> 3
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> La cisteína puede estar alquilada

25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> La cisteína puede estar alquilada

30 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (12)..(12)
 <223> glicosilada

35 <400> 3

	Glu	Thr	Tyr	Gly	Glu	Met	Ala	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys	Gln	Glu	Pro	Glu
	1				5					10					15	

Arg

40 <210> 4
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

45 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> La metionina puede estar oxidada

50 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> La cisteína puede estar alquilada

55 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> La cisteína puede estar alquilada

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (12)..(12)
 <223> glicosilada
 5 <400> 4

 Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu
 1 5 10 15

 Arg
 10 <210> 5
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> La cisteína puede estar alquilada
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> La cisteína puede estar alquilada
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (12)..(12)
 <223> glicosilada
 30 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (15)..(15)
 <223> La cisteína puede estar alquilada
 35 <400> 5

 Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu
 1 5 10 15

 Leu Pro Lys
 40 <210> 6
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 45 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> La cisteína puede estar alquilada
 50 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> glicosilada
 55 <400> 6

 Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys
 1 5 10 15

 <210> 7

<211> 15
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> glicosilada

10 <400> 7

	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys
	1				5					10					15

<210> 8
 15 <211> 17
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> glicosilada

25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> La cisteína puede estar alquilada

<400> 8

30

	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser	Ser
	1				5					10					15	

Lys

<210> 9
 <211> 21
 35 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

40 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> glicosilada

45 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> La cisteína puede estar alquilada

50 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> La cisteína puede estar alquilada

55 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (18)..(18)
 <223> La cisteína puede estar alquilada

<400> 9

ES 2 805 852 T3

```

    Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His
    1          5          10          15

    Glu Cys Tyr Ala Lys
    20

<210> 10
<211> 17
5 <212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
10 <222> (6)..(6)
<223> glicosilada

<400> 10

    Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile
    1          5          10          15

15      Lys

<210> 11
<211> 15
<212> PRT
20 <213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
25 <223> glicosilada

<400> 11

    Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg
    1          5          10          15

30 <210> 12
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

35 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> glicosilada

40 <400> 12

    Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys
    1          5          10

45 <210> 13
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

50 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> glicosilada

55 <400> 13

```

ES 2 805 852 T3

Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
 1 5 10 15

<210> 14
 <211> 12
 5 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 10 <222> (1)..(1)
 <223> glicosilada

<400> 14

Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 1 5 10

15 <210> 15
 <211> 24
 <212> PRT
 20 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 25 <223> glicosilada

<400> 15

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 1 5 10 15

30 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys
 20

<210> 16
 <211> 19
 35 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 40 <222> (14)..(14)
 <223> glicosilada

<400> 16

Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp
 1 5 10 15

45 Tyr Glu Lys

<210> 17
 <211> 21
 <212> PRT
 50 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 55 <223> La cisteína puede estar alquilada

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (17)..(17)

<223> glicosilada

<400> 17

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

Lys Ser Phe Asn Arg
20

5

<210> 18

<211> 18

<212> PRT

10 <213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

15 <223> glicosilada

<400> 18

Gln Val Lys Asp Asn Glu Asn Val Val Asn Glu Tyr Ser Ser Glu Leu
1 5 10 15

Glu Lys

20

<210> 19

<211> 16

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

25

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> glicosilada

30

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (12)..(12)

<223> La metionina puede estar oxidada

35

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (15)..(15)

<223> La cisteína puede estar alquilada

40

<400> 19

Ile Gln Lys Leu Glu Ser Asp Val Ser Ala Gln Met Glu Tyr Cys Arg
1 5 10 15

45

<210> 20

<211> 19

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

50

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> glicosilada

55

<400> 20

ES 2 805 852 T3

Lys Trp Asp Pro Tyr Lys Gln Gly Phe Gly Asn Val Ala Thr Asn Thr
1 5 10 15

Asp Gly Lys

<210> 21

<211> 13

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <222> (2)..(2)

<223> glicosilada

<400> 21

Ser Lys Ala Ile Gly Tyr Leu Asn Thr Gly Tyr Gln Arg
1 5 10

15

<210> 22

<211> 16

<212> PRT

20 <213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (15)..(15)

25 <223> glicosilada

<400> 22

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

30

<210> 23

<211> 14

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

35

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> glicosilada

40

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> La cisteína puede estar alquilada

45

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> La cisteína puede estar alquilada

50

<400> 23

Lys Cys Ser Thr Ser Ser Leu Leu Glu Ala Cys Thr Phe Arg
1 5 10

55

<210> 24

<211> 17

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> glicosilada
 5 <400> 24

 Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser
 1 5 10 15

 Lys
 10 <210> 25
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> glicosilada
 20 <400> 25

 Ala Lys Val Gln Pro Tyr Leu Asp Asp Phe Gln Lys
 1 5 10

 <210> 26
 25 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

 <220>
 30 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> glicosilada

 <220>
 35 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> La metionina puede estar oxidada

 <400> 26
 40

 Lys Trp Gln Glu Glu Met Glu Leu Tyr Arg
 1 5 10

 <210> 27
 <211> 17
 45 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 50 <222> (5)..(5)
 <223> glicosilada

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 55 <222> (9)..(9)
 <223> La cisteína puede estar alquilada

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 60 <222> (13)..(13)

<223> La cisteína puede estar alquilada

<400> 27

Ala Val Gly Asp Lys Leu Pro Glu Cys Glu Ala Val Cys Gly Lys Pro
1 5 10 15

5 Lys

<210> 28

<211> 17

<212> PRT

10 <213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

15 <223> glicosilada

<400> 28

Ser Glu Glu Thr Lys Glu Asn Glu Gly Phe Thr Val Thr Ala Glu Gly
1 5 10 15

Lys

20

<210> 29

<211> 15

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

25

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> La metionina puede estar oxidada

30

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> glicosilada

35

<400> 29

Met Lys Gly Leu Ile Asp Glu Val Asn Gln Asp Phe Thr Asn Arg
1 5 10 15

40 <210> 30

<211> 16

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

45 <220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> glicosilada

50 <400> 30

Ser Ser Ser Tyr Ser Lys Gln Phe Thr Ser Ser Thr Ser Tyr Asn Arg
1 5 10 15

55 <210> 31

<211> 609

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

ES 2 805 852 T3

<400> 31

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

ES 2 805 852 T3

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

ES 2 805 852 T3

Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys
 405 410 415
 Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu
 420 425 430
 Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val
 435 440 445
 Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His
 450 455 460
 Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val
 465 470 475 480
 Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg
 485 490 495
 Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe
 500 505 510
 Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala
 515 520 525
 Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu
 530 535 540
 Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys
 545 550 555 560
 Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala
 565 570 575
 Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe
 580 585 590
 Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly
 595 600 605

Leu

<210> 32
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 32

ES 2 805 852 T3

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

<210> 33

<211> 491

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 33

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

10

ES 2 805 852 T3

Gln	Glu	Ala	Leu	Leu	Gln	Gln	Glu	Arg	Pro	Ile	Arg	Asn	Ser	Val	Asp	115	120	125
Glu	Leu	Asn	Asn	Asn	Val	Glu	Ala	Val	Ser	Gln	Thr	Ser	Ser	Ser	Ser	130	135	140
Phe	Gln	Tyr	Met	Tyr	Leu	Leu	Lys	Asp	Leu	Trp	Gln	Lys	Arg	Gln	Lys	145	150	155
Gln	Val	Lys	Asp	Asn	Glu	Asn	Val	Val	Asn	Glu	Tyr	Ser	Ser	Glu	Leu	165	170	175
Glu	Lys	His	Gln	Leu	Tyr	Ile	Asp	Glu	Thr	Val	Asn	Ser	Asn	Ile	Pro	180	185	190
Thr	Asn	Leu	Arg	Val	Leu	Arg	Ser	Ile	Leu	Glu	Asn	Leu	Arg	Ser	Lys	195	200	205
Ile	Gln	Lys	Leu	Glu	Ser	Asp	Val	Ser	Ala	Gln	Met	Glu	Tyr	Cys	Arg	210	215	220
Thr	Pro	Cys	Thr	Val	Ser	Cys	Asn	Ile	Pro	Val	Val	Ser	Gly	Lys	Glu	225	230	235
Cys	Glu	Glu	Ile	Ile	Arg	Lys	Gly	Gly	Glu	Thr	Ser	Glu	Met	Tyr	Leu	245	250	255
Ile	Gln	Pro	Asp	Ser	Ser	Val	Lys	Pro	Tyr	Arg	Val	Tyr	Cys	Asp	Met	260	265	270
Asn	Thr	Glu	Asn	Gly	Gly	Trp	Thr	Val	Ile	Gln	Asn	Arg	Gln	Asp	Gly	275	280	285
Ser	Val	Asp	Phe	Gly	Arg	Lys	Trp	Asp	Pro	Tyr	Lys	Gln	Gly	Phe	Gly	290	295	300
Asn	Val	Ala	Thr	Asn	Thr	Asp	Gly	Lys	Asn	Tyr	Cys	Gly	Leu	Pro	Gly	305	310	315
Glu	Tyr	Trp	Leu	Gly	Asn	Asp	Lys	Ile	Ser	Gln	Leu	Thr	Arg	Met	Gly	325	330	335
Pro	Thr	Glu	Leu	Leu	Ile	Glu	Met	Glu	Asp	Trp	Lys	Gly	Asp	Lys	Val	340	345	350
Lys	Ala	His	Tyr	Gly	Gly	Phe	Thr	Val	Gln	Asn	Glu	Ala	Asn	Lys	Tyr	355	360	365

ES 2 805 852 T3

Gln Ile Ser Val Asn Lys Tyr Arg Gly Thr Ala Gly Asn Ala Leu Met
370 375 380

Asp Gly Ala Ser Gln Leu Met Gly Glu Asn Arg Thr Met Thr Ile His
385 390 395 400

Asn Gly Met Phe Phe Ser Thr Tyr Asp Arg Asp Asn Asp Gly Trp Leu
405 410 415

Thr Ser Asp Pro Arg Lys Gln Cys Ser Lys Glu Asp Gly Gly Gly Trp
420 425 430

Trp Tyr Asn Arg Cys His Ala Ala Asn Pro Asn Gly Arg Tyr Tyr Trp
435 440 445

Gly Gly Gln Tyr Thr Trp Asp Met Ala Lys His Gly Thr Asp Asp Gly
450 455 460

Val Val Trp Met Asn Trp Lys Gly Ser Trp Tyr Ser Met Arg Lys Met
465 470 475 480

Ser Met Lys Ile Arg Pro Phe Phe Pro Gln Gln
485 490

<210> 34

<211> 1474

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 34

Met Gly Lys Asn Lys Leu Leu His Pro Ser Leu Val Leu Leu Leu Leu
1 5 10 15

Val Leu Leu Pro Thr Asp Ala Ser Val Ser Gly Lys Pro Gln Tyr Met
20 25 30

Val Leu Val Pro Ser Leu Leu His Thr Glu Thr Thr Glu Lys Gly Cys
35 40 45

Val Leu Leu Ser Tyr Leu Asn Glu Thr Val Thr Val Ser Ala Ser Leu
50 55 60

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

Asn Asp Val Leu His Cys Val Ala Phe Ala Val Pro Lys Ser Ser Ser
85 90 95

10

ES 2 805 852 T3

Asn	Glu	Glu	Val	Met	Phe	Leu	Thr	Val	Gln	Val	Lys	Gly	Pro	Thr	Gln	100	105	110	
Glu	Phe	Lys	Lys	Arg	Thr	Thr	Val	Met	Val	Lys	Asn	Glu	Asp	Ser	Leu	115	120	125	
Val	Phe	Val	Gln	Thr	Asp	Lys	Ser	Ile	Tyr	Lys	Pro	Gly	Gln	Thr	Val	130	135	140	
Lys	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Met	Asp	Glu	Asn	Phe	His	Pro	Leu	Asn	Glu	145	150	155	160
Leu	Ile	Pro	Leu	Val	Tyr	Ile	Gln	Asp	Pro	Lys	Gly	Asn	Arg	Ile	Ala	165	170	175	
Gln	Trp	Gln	Ser	Phe	Gln	Leu	Glu	Gly	Gly	Leu	Lys	Gln	Phe	Ser	Phe	180	185	190	
Pro	Leu	Ser	Ser	Glu	Pro	Phe	Gln	Gly	Ser	Tyr	Lys	Val	Val	Val	Gln	195	200	205	
Lys	Lys	Ser	Gly	Gly	Arg	Thr	Glu	His	Pro	Phe	Thr	Val	Glu	Glu	Phe	210	215	220	
Val	Leu	Pro	Lys	Phe	Glu	Val	Gln	Val	Thr	Val	Pro	Lys	Ile	Ile	Thr	225	230	235	240
Ile	Leu	Glu	Glu	Glu	Met	Asn	Val	Ser	Val	Cys	Gly	Leu	Tyr	Thr	Tyr	245	250	255	
Gly	Lys	Pro	Val	Pro	Gly	His	Val	Thr	Val	Ser	Ile	Cys	Arg	Lys	Tyr	260	265	270	
Ser	Asp	Ala	Ser	Asp	Cys	His	Gly	Glu	Asp	Ser	Gln	Ala	Phe	Cys	Glu	275	280	285	
Lys	Phe	Ser	Gly	Gln	Leu	Asn	Ser	His	Gly	Cys	Phe	Tyr	Gln	Gln	Val	290	295	300	
Lys	Thr	Lys	Val	Phe	Gln	Leu	Lys	Arg	Lys	Glu	Tyr	Glu	Met	Lys	Leu	305	310	315	320
His	Thr	Glu	Ala	Gln	Ile	Gln	Glu	Glu	Gly	Thr	Val	Val	Glu	Leu	Thr	325	330	335	
Gly	Arg	Gln	Ser	Ser	Glu	Ile	Thr	Arg	Thr	Ile	Thr	Lys	Leu	Ser	Phe	340	345	350	

ES 2 805 852 T3

Val Lys Val Asp Ser His Phe Arg Gln Gly Ile Pro Phe Phe Gly Gln
 355 360 365
 Val Arg Leu Val Asp Gly Lys Gly Val Pro Ile Pro Asn Lys Val Ile
 370 375 380
 Phe Ile Arg Gly Asn Glu Ala Asn Tyr Tyr Ser Asn Ala Thr Thr Asp
 385 390 395 400
 Glu His Gly Leu Val Gln Phe Ser Ile Asn Thr Thr Asn Val Met Gly
 405 410 415
 Thr Ser Leu Thr Val Arg Val Asn Tyr Lys Asp Arg Ser Pro Cys Tyr
 420 425 430
 Gly Tyr Gln Trp Val Ser Glu Glu His Glu Glu Ala His His Thr Ala
 435 440 445
 Tyr Leu Val Phe Ser Pro Ser Lys Ser Phe Val His Leu Glu Pro Met
 450 455 460
 Ser His Glu Leu Pro Cys Gly His Thr Gln Thr Val Gln Ala His Tyr
 465 470 475 480
 Ile Leu Asn Gly Gly Thr Leu Leu Gly Leu Lys Lys Leu Ser Phe Tyr
 485 490 495
 Tyr Leu Ile Met Ala Lys Gly Gly Ile Val Arg Thr Gly Thr His Gly
 500 505 510
 Leu Leu Val Lys Gln Glu Asp Met Lys Gly His Phe Ser Ile Ser Ile
 515 520 525
 Pro Val Lys Ser Asp Ile Ala Pro Val Ala Arg Leu Leu Ile Tyr Ala
 530 535 540
 Val Leu Pro Thr Gly Asp Val Ile Gly Asp Ser Ala Lys Tyr Asp Val
 545 550 555 560
 Glu Asn Cys Leu Ala Asn Lys Val Asp Leu Ser Phe Ser Pro Ser Gln
 565 570 575
 Ser Leu Pro Ala Ser His Ala His Leu Arg Val Thr Ala Ala Pro Gln
 580 585 590
 Ser Val Cys Ala Leu Arg Ala Val Asp Gln Ser Val Leu Leu Met Lys

ES 2 805 852 T3

595					600					605					
Pro	Asp	Ala	Glu	Leu	Ser	Ala	Ser	Ser	Val	Tyr	Asn	Leu	Leu	Pro	Glu
610					615					620					
Lys	Asp	Leu	Thr	Gly	Phe	Pro	Gly	Pro	Leu	Asn	Asp	Gln	Asp	Asn	Glu
625					630					635					640
Asp	Cys	Ile	Asn	Arg	His	Asn	Val	Tyr	Ile	Asn	Gly	Ile	Thr	Tyr	Thr
				645					650					655	
Pro	Val	Ser	Ser	Thr	Asn	Glu	Lys	Asp	Met	Tyr	Ser	Phe	Leu	Glu	Asp
			660					665					670		
Met	Gly	Leu	Lys	Ala	Phe	Thr	Asn	Ser	Lys	Ile	Arg	Lys	Pro	Lys	Met
		675					680					685			
Cys	Pro	Gln	Leu	Gln	Gln	Tyr	Glu	Met	His	Gly	Pro	Glu	Gly	Leu	Arg
	690					695					700				
Val	Gly	Phe	Tyr	Glu	Ser	Asp	Val	Met	Gly	Arg	Gly	His	Ala	Arg	Leu
705					710					715					720
Val	His	Val	Glu	Glu	Pro	His	Thr	Glu	Thr	Val	Arg	Lys	Tyr	Phe	Pro
			725						730					735	
Glu	Thr	Trp	Ile	Trp	Asp	Leu	Val	Val	Val	Asn	Ser	Ala	Gly	Val	Ala
			740					745					750		
Glu	Val	Gly	Val	Thr	Val	Pro	Asp	Thr	Ile	Thr	Glu	Trp	Lys	Ala	Gly
		755					760					765			
Ala	Phe	Cys	Leu	Ser	Glu	Asp	Ala	Gly	Leu	Gly	Ile	Ser	Ser	Thr	Ala
	770					775					780				
Ser	Leu	Arg	Ala	Phe	Gln	Pro	Phe	Phe	Val	Glu	Leu	Thr	Met	Pro	Tyr
785					790					795					800
Ser	Val	Ile	Arg	Gly	Glu	Ala	Phe	Thr	Leu	Lys	Ala	Thr	Val	Leu	Asn
				805					810					815	
Tyr	Leu	Pro	Lys	Cys	Ile	Arg	Val	Ser	Val	Gln	Leu	Glu	Ala	Ser	Pro
			820					825					830		
Ala	Phe	Leu	Ala	Val	Pro	Val	Glu	Lys	Glu	Gln	Ala	Pro	His	Cys	Ile
		835					840					845			

ES 2 805 852 T3

Cys	Ala	Asn	Gly	Arg	Gln	Thr	Val	Ser	Trp	Ala	Val	Thr	Pro	Lys	Ser	850	855	860	
Leu	Gly	Asn	Val	Asn	Phe	Thr	Val	Ser	Ala	Glu	Ala	Leu	Glu	Ser	Gln	865	870	875	880
Glu	Leu	Cys	Gly	Thr	Glu	Val	Pro	Ser	Val	Pro	Glu	His	Gly	Arg	Lys	885	890	895	
Asp	Thr	Val	Ile	Lys	Pro	Leu	Leu	Val	Glu	Pro	Glu	Gly	Leu	Glu	Lys	900	905	910	
Glu	Thr	Thr	Phe	Asn	Ser	Leu	Leu	Cys	Pro	Ser	Gly	Gly	Glu	Val	Ser	915	920	925	
Glu	Glu	Leu	Ser	Leu	Lys	Leu	Pro	Pro	Asn	Val	Val	Glu	Glu	Ser	Ala	930	935	940	
Arg	Ala	Ser	Val	Ser	Val	Leu	Gly	Asp	Ile	Leu	Gly	Ser	Ala	Met	Gln	945	950	955	960
Asn	Thr	Gln	Asn	Leu	Leu	Gln	Met	Pro	Tyr	Gly	Cys	Gly	Glu	Gln	Asn	965	970	975	
Met	Val	Leu	Phe	Ala	Pro	Asn	Ile	Tyr	Val	Leu	Asp	Tyr	Leu	Asn	Glu	980	985	990	
Thr	Gln	Gln	Leu	Thr	Pro	Glu	Ile	Lys	Ser	Lys	Ala	Ile	Gly	Tyr	Leu	995	1000	1005	
Asn	Thr	Gly	Tyr	Gln	Arg	Gln	Leu	Asn	Tyr	Lys	His	Tyr	Asp	Gly	1010	1015	1020		
Ser	Tyr	Ser	Thr	Phe	Gly	Glu	Arg	Tyr	Gly	Arg	Asn	Gln	Gly	Asn	1025	1030	1035		
Thr	Trp	Leu	Thr	Ala	Phe	Val	Leu	Lys	Thr	Phe	Ala	Gln	Ala	Arg	1040	1045	1050		
Ala	Tyr	Ile	Phe	Ile	Asp	Glu	Ala	His	Ile	Thr	Gln	Ala	Leu	Ile	1055	1060	1065		
Trp	Leu	Ser	Gln	Arg	Gln	Lys	Asp	Asn	Gly	Cys	Phe	Arg	Ser	Ser	1070	1075	1080		
Gly	Ser	Leu	Leu	Asn	Asn	Ala	Ile	Lys	Gly	Gly	Val	Glu	Asp	Glu	1085	1090	1095		

ES 2 805 852 T3

Val	Thr	Leu	Ser	Ala	Tyr	Ile	Thr	Ile	Ala	Leu	Leu	Glu	Ile	Pro
1100						1105						1110		
Leu	Thr	Val	Thr	His	Pro	Val	Val	Arg	Asn	Ala	Leu	Phe	Cys	Leu
1115						1120						1125		
Glu	Ser	Ala	Trp	Lys	Thr	Ala	Gln	Glu	Gly	Asp	His	Gly	Ser	His
1130						1135					1140			
Val	Tyr	Thr	Lys	Ala	Leu	Leu	Ala	Tyr	Ala	Phe	Ala	Leu	Ala	Gly
1145						1150					1155			
Asn	Gln	Asp	Lys	Arg	Lys	Glu	Val	Leu	Lys	Ser	Leu	Asn	Glu	Glu
1160						1165					1170			
Ala	Val	Lys	Lys	Asp	Asn	Ser	Val	His	Trp	Glu	Arg	Pro	Gln	Lys
1175						1180					1185			
Pro	Lys	Ala	Pro	Val	Gly	His	Phe	Tyr	Glu	Pro	Gln	Ala	Pro	Ser
1190						1195					1200			
Ala	Glu	Val	Glu	Met	Thr	Ser	Tyr	Val	Leu	Leu	Ala	Tyr	Leu	Thr
1205						1210					1215			
Ala	Gln	Pro	Ala	Pro	Thr	Ser	Glu	Asp	Leu	Thr	Ser	Ala	Thr	Asn
1220						1225					1230			
Ile	Val	Lys	Trp	Ile	Thr	Lys	Gln	Gln	Asn	Ala	Gln	Gly	Gly	Phe
1235						1240					1245			
Ser	Ser	Thr	Gln	Asp	Thr	Val	Val	Ala	Leu	His	Ala	Leu	Ser	Lys
1250						1255					1260			
Tyr	Gly	Ala	Ala	Thr	Phe	Thr	Arg	Thr	Gly	Lys	Ala	Ala	Gln	Val
1265						1270					1275			
Thr	Ile	Gln	Ser	Ser	Gly	Thr	Phe	Ser	Ser	Lys	Phe	Gln	Val	Asp
1280						1285					1290			
Asn	Asn	Asn	Arg	Leu	Leu	Leu	Gln	Gln	Val	Ser	Leu	Pro	Glu	Leu
1295						1300					1305			
Pro	Gly	Glu	Tyr	Ser	Met	Lys	Val	Thr	Gly	Glu	Gly	Cys	Val	Tyr
1310						1315					1320			
Leu	Gln	Thr	Ser	Leu	Lys	Tyr	Asn	Ile	Leu	Pro	Glu	Lys	Glu	Glu
1325						1330					1335			

ES 2 805 852 T3

Phe Pro Phe Ala Leu Gly Val Gln Thr Leu Pro Gln Thr Cys Asp
 1340 1345 1350

Glu Pro Lys Ala His Thr Ser Phe Gln Ile Ser Leu Ser Val Ser
 1355 1360 1365

Tyr Thr Gly Ser Arg Ser Ala Ser Asn Met Ala Ile Val Asp Val
 1370 1375 1380

Lys Met Val Ser Gly Phe Ile Pro Leu Lys Pro Thr Val Lys Met
 1385 1390 1395

Leu Glu Arg Ser Asn His Val Ser Arg Thr Glu Val Ser Ser Asn
 1400 1405 1410

His Val Leu Ile Tyr Leu Asp Lys Val Ser Asn Gln Thr Leu Ser
 1415 1420 1425

Leu Phe Phe Thr Val Leu Gln Asp Val Pro Val Arg Asp Leu Lys
 1430 1435 1440

Pro Ala Ile Val Lys Val Tyr Asp Tyr Tyr Glu Thr Asp Glu Phe
 1445 1450 1455

Ala Ile Ala Glu Tyr Asn Ala Pro Cys Ser Lys Asp Leu Gly Asn
 1460 1465 1470

Ala

<210> 35
 <211> 698
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 35

Met Arg Leu Ala Val Gly Ala Leu Leu Val Cys Ala Val Leu Gly Leu
 1 5 10 15

Cys Leu Ala Val Pro Asp Lys Thr Val Arg Trp Cys Ala Val Ser Glu
 20 25 30

His Glu Ala Thr Lys Cys Gln Ser Phe Arg Asp His Met Lys Ser Val
 35 40 45

Ile Pro Ser Asp Gly Pro Ser Val Ala Cys Val Lys Lys Ala Ser Tyr
 50 55 60

ES 2 805 852 T3

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

ES 2 805 852 T3

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

ES 2 805 852 T3

Thr Gly Gly Lys Asn Pro Asp Pro Trp Ala Lys Asn Leu Asn Glu Lys
565 570 575

Asp Tyr Glu Leu Leu Cys Leu Asp Gly Thr Arg Lys Pro Val Glu Glu
580 585 590

Tyr Ala Asn Cys His Leu Ala Arg Ala Pro Asn His Ala Val Val Thr
595 600 605

Arg Lys Asp Lys Glu Ala Cys Val His Lys Ile Leu Arg Gln Gln Gln
610 615 620

His Leu Phe Gly Ser Asn Val Thr Asp Cys Ser Gly Asn Phe Cys Leu
625 630 635 640

Phe Arg Ser Glu Thr Lys Asp Leu Leu Phe Arg Asp Asp Thr Val Cys
645 650 655

Leu Ala Lys Leu His Asp Arg Asn Thr Tyr Glu Lys Tyr Leu Gly Glu
660 665 670

Glu Tyr Val Lys Ala Val Gly Asn Leu Arg Lys Cys Ser Thr Ser Ser
675 680 685

Leu Leu Glu Ala Cys Thr Phe Arg Arg Pro
690 695

<210> 36
<211> 106
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 36

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

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 37
<211> 267
<212> PRT

ES 2 805 852 T3

<213> *Homo sapiens*

<400> 37

Met 1	Lys	Ala	Val	Leu	Thr	Leu	Ala	Val	Leu	Phe	Leu	Thr	Gly	Ser	15
Gln	Ala	Arg	His	Phe	Trp	Gln	Gln	Asp	Glu	Pro	Pro	Gln	Ser	Pro	Trp
Asp	Arg	Val	Lys	Asp	Leu	Ala	Thr	Val	Tyr	Val	Asp	Val	Leu	Lys	Asp
Ser	Gly	Arg	Asp	Tyr	Val	Ser	Gln	Phe	Glu	Gly	Ser	Ala	Leu	Gly	Lys
Gln	Leu	Asn	Leu	Lys	Leu	Leu	Asp	Asn	Trp	Asp	Ser	Val	Thr	Ser	Thr
Phe	Ser	Lys	Leu	Arg	Glu	Gln	Leu	Gly	Pro	Val	Thr	Gln	Glu	Phe	Trp
Asp	Asn	Leu	Glu	Lys	Glu	Thr	Glu	Gly	Leu	Arg	Gln	Glu	Met	Ser	Lys
Asp	Leu	Glu	Glu	Val	Lys	Ala	Lys	Val	Gln	Pro	Tyr	Leu	Asp	Asp	Phe
Gln	Lys	Lys	Trp	Gln	Glu	Glu	Met	Glu	Leu	Tyr	Arg	Gln	Lys	Val	Glu
Pro	Leu	Arg	Ala	Glu	Leu	Gln	Glu	Gly	Ala	Arg	Gln	Lys	Leu	His	Glu
Leu	Gln	Glu	Lys	Leu	Ser	Pro	Leu	Gly	Glu	Glu	Met	Arg	Asp	Arg	Ala
Arg	Ala	His	Val	Asp	Ala	Leu	Arg	Thr	His	Leu	Ala	Pro	Tyr	Ser	Asp
Glu	Leu	Arg	Gln	Arg	Leu	Ala	Ala	Arg	Leu	Glu	Ala	Leu	Lys	Glu	Asn
Gly	Gly	Ala	Arg	Leu	Ala	Glu	Tyr	His	Ala	Lys	Ala	Thr	Glu	His	Leu
Ser	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Ala	Lys	Pro	Ala	Leu	Glu	Asp	Leu	Arg	Gln
Gly	Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Glu	Ser	Phe	Lys	Val	Ser	Phe	Leu	Ser	Ala
Leu	Glu	Glu	Tyr	Thr	Lys	Lys	Leu	Asn	Thr	Gln					

<210> 38

ES 2 805 852 T3

<211> 406
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 38

```

Met Ser Ala Leu Gly Ala Val Ile Ala Leu Leu Leu Trp Gly Gln Leu
 1          5          10          15

Phe Ala Val Asp Ser Gly Asn Asp Val Thr Asp Ile Ala Asp Asp Gly
    20          25          30

Cys Pro Lys Pro Pro Glu Ile Ala His Gly Tyr Val Glu His Ser Val
    35          40          45

Arg Tyr Gln Cys Lys Asn Tyr Tyr Lys Leu Arg Thr Glu Gly Asp Gly
 50          55          60

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

Asp Lys Leu Pro Glu Cys Glu Ala Asp Asp Gly Cys Pro Lys Pro Pro
    85          90          95

Glu Ile Ala His Gly Tyr Val Glu His Ser Val Arg Tyr Gln Cys Lys
    100          105          110

Asn Tyr Tyr Lys Leu Arg Thr Glu Gly Asp Gly Val Tyr Thr Leu Asn
    115          120          125

Asn Glu Lys Gln Trp Ile Asn Lys Ala Val Gly Asp Lys Leu Pro Glu
    130          135          140
  
```

ES 2 805 852 T3

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

5 <210> 39
 <211> 1663
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 39

ES 2 805 852 T3

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

ES 2 805 852 T3

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

ES 2 805 852 T3

Leu Arg Pro Gly Glu Thr Leu Asn Val Asn Phe Leu Leu Arg Met Asp
 465 470 475 480
 Arg Ala His Glu Ala Lys Ile Arg Tyr Tyr Thr Tyr Leu Ile Met Asn
 485 490 495
 Lys Gly Arg Leu Leu Lys Ala Gly Arg Gln Val Arg Glu Pro Gly Gln
 500 505 510
 Asp Leu Val Val Leu Pro Leu Ser Ile Thr Thr Asp Phe Ile Pro Ser
 515 520 525
 Phe Arg Leu Val Ala Tyr Tyr Thr Leu Ile Gly Ala Ser Gly Gln Arg
 530 535 540
 Glu Val Val Ala Asp Ser Val Trp Val Asp Val Lys Asp Ser Cys Val
 545 550 555 560
 Gly Ser Leu Val Val Lys Ser Gly Gln Ser Glu Asp Arg Gln Pro Val
 565 570 575
 Pro Gly Gln Gln Met Thr Leu Lys Ile Glu Gly Asp His Gly Ala Arg
 580 585 590
 Val Val Leu Val Ala Val Asp Lys Gly Val Phe Val Leu Asn Lys Lys
 595 600 605
 Asn Lys Leu Thr Gln Ser Lys Ile Trp Asp Val Val Glu Lys Ala Asp
 610 615 620
 Ile Gly Cys Thr Pro Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Ala Gly Val Phe Ser
 625 630 635 640
 Asp Ala Gly Leu Thr Phe Thr Ser Ser Ser Gly Gln Gln Thr Ala Gln
 645 650 655
 Arg Ala Glu Leu Gln Cys Pro Gln Pro Ala Ala Arg Arg Arg Arg Ser
 660 665 670
 Val Gln Leu Thr Glu Lys Arg Met Asp Lys Val Gly Lys Tyr Pro Lys
 675 680 685
 Glu Leu Arg Lys Cys Cys Glu Asp Gly Met Arg Glu Asn Pro Met Arg
 690 695 700
 Phe Ser Cys Gln Arg Arg Thr Arg Phe Ile Ser Leu Gly Glu Ala Cys

ES 2 805 852 T3

705						710						715				720
Lys	Lys	Val	Phe	Leu	Asp	Cys	Cys	Asn	Tyr	Ile	Thr	Glu	Leu	Arg	Arg	
				725					730					735		
Gln	His	Ala	Arg	Ala	Ser	His	Leu	Gly	Leu	Ala	Arg	Ser	Asn	Leu	Asp	
			740					745					750			
Glu	Asp	Ile	Ile	Ala	Glu	Glu	Asn	Ile	Val	Ser	Arg	Ser	Glu	Phe	Pro	
		755					760					765				
Glu	Ser	Trp	Leu	Trp	Asn	Val	Glu	Asp	Leu	Lys	Glu	Pro	Pro	Lys	Asn	
	770					775					780					
Gly	Ile	Ser	Thr	Lys	Leu	Met	Asn	Ile	Phe	Leu	Lys	Asp	Ser	Ile	Thr	
785					790					795					800	
Thr	Trp	Glu	Ile	Leu	Ala	Val	Ser	Met	Ser	Asp	Lys	Lys	Gly	Ile	Cys	
				805					810					815		
Val	Ala	Asp	Pro	Phe	Glu	Val	Thr	Val	Met	Gln	Asp	Phe	Phe	Ile	Asp	
			820					825					830			
Leu	Arg	Leu	Pro	Tyr	Ser	Val	Val	Arg	Asn	Glu	Gln	Val	Glu	Ile	Arg	
		835					840					845				
Ala	Val	Leu	Tyr	Asn	Tyr	Arg	Gln	Asn	Gln	Glu	Leu	Lys	Val	Arg	Val	
	850					855					860					
Glu	Leu	Leu	His	Asn	Pro	Ala	Phe	Cys	Ser	Leu	Ala	Thr	Thr	Lys	Arg	
865					870					875					880	
Arg	His	Gln	Gln	Thr	Val	Thr	Ile	Pro	Pro	Lys	Ser	Ser	Leu	Ser	Val	
				885					890					895		
Pro	Tyr	Val	Ile	Val	Pro	Leu	Lys	Thr	Gly	Leu	Gln	Glu	Val	Glu	Val	
			900					905					910			
Lys	Ala	Ala	Val	Tyr	His	His	Phe	Ile	Ser	Asp	Gly	Val	Arg	Lys	Ser	
		915					920					925				
Leu	Lys	Val	Val	Pro	Glu	Gly	Ile	Arg	Met	Asn	Lys	Thr	Val	Ala	Val	
	930					935					940					
Arg	Thr	Leu	Asp	Pro	Glu	Arg	Leu	Gly	Arg	Glu	Gly	Val	Gln	Lys	Glu	
945					950					955					960	

ES 2 805 852 T3

Asp Ile Pro Pro Ala Asp Leu Ser Asp Gln Val Pro Asp Thr Glu Ser
 965 970 975
 Glu Thr Arg Ile Leu Leu Gln Gly Thr Pro Val Ala Gln Met Thr Glu
 980 985 990
 Asp Ala Val Asp Ala Glu Arg Leu Lys His Leu Ile Val Thr Pro Ser
 995 1000 1005
 Gly Cys Gly Glu Gln Asn Met Ile Gly Met Thr Pro Thr Val Ile
 1010 1015 1020
 Ala Val His Tyr Leu Asp Glu Thr Glu Gln Trp Glu Lys Phe Gly
 1025 1030 1035
 Leu Glu Lys Arg Gln Gly Ala Leu Glu Leu Ile Lys Lys Gly Tyr
 1040 1045 1050
 Thr Gln Gln Leu Ala Phe Arg Gln Pro Ser Ser Ala Phe Ala Ala
 1055 1060 1065
 Phe Val Lys Arg Ala Pro Ser Thr Trp Leu Thr Ala Tyr Val Val
 1070 1075 1080
 Lys Val Phe Ser Leu Ala Val Asn Leu Ile Ala Ile Asp Ser Gln
 1085 1090 1095
 Val Leu Cys Gly Ala Val Lys Trp Leu Ile Leu Glu Lys Gln Lys
 1100 1105 1110
 Pro Asp Gly Val Phe Gln Glu Asp Ala Pro Val Ile His Gln Glu
 1115 1120 1125
 Met Ile Gly Gly Leu Arg Asn Asn Asn Glu Lys Asp Met Ala Leu
 1130 1135 1140
 Thr Ala Phe Val Leu Ile Ser Leu Gln Glu Ala Lys Asp Ile Cys
 1145 1150 1155
 Glu Glu Gln Val Asn Ser Leu Pro Gly Ser Ile Thr Lys Ala Gly
 1160 1165 1170
 Asp Phe Leu Glu Ala Asn Tyr Met Asn Leu Gln Arg Ser Tyr Thr
 1175 1180 1185
 Val Ala Ile Ala Gly Tyr Ala Leu Ala Gln Met Gly Arg Leu Lys
 1190 1195 1200

ES 2 805 852 T3

Gly 1205	Pro	Leu	Leu	Asn	Lys	Phe 1210	Leu	Thr	Thr	Ala	Lys 1215	Asp	Lys	Asn
Arg 1220	Trp	Glu	Asp	Pro	Gly	Lys 1225	Gln	Leu	Tyr	Asn	Val 1230	Glu	Ala	Thr
Ser 1235	Tyr	Ala	Leu	Leu	Ala	Leu 1240	Leu	Gln	Leu	Lys	Asp 1245	Phe	Asp	Phe
Val 1250	Pro	Pro	Val	Val	Arg	Trp 1255	Leu	Asn	Glu	Gln	Arg 1260	Tyr	Tyr	Gly
Gly 1265	Gly	Tyr	Gly	Ser	Thr	Gln 1270	Ala	Thr	Phe	Met	Val 1275	Phe	Gln	Ala
Leu 1280	Ala	Gln	Tyr	Gln	Lys	Asp 1285	Ala	Pro	Asp	His	Gln 1290	Glu	Leu	Asn
Leu 1295	Asp	Val	Ser	Leu	Gln	Leu 1300	Pro	Ser	Arg	Ser	Ser 1305	Lys	Ile	Thr
His 1310	Arg	Ile	His	Trp	Glu	Ser 1315	Ala	Ser	Leu	Leu	Arg 1320	Ser	Glu	Glu
Thr 1325	Lys	Glu	Asn	Glu	Gly	Phe 1330	Thr	Val	Thr	Ala	Glu 1335	Gly	Lys	Gly
Gln 1340	Gly	Thr	Leu	Ser	Val	Val 1345	Thr	Met	Tyr	His	Ala 1350	Lys	Ala	Lys
Asp 1355	Gln	Leu	Thr	Cys	Asn	Lys 1360	Phe	Asp	Leu	Lys	Val 1365	Thr	Ile	Lys
Pro 1370	Ala	Pro	Glu	Thr	Glu	Lys 1375	Arg	Pro	Gln	Asp	Ala 1380	Lys	Asn	Thr
Met 1385	Ile	Leu	Glu	Ile	Cys	Thr 1390	Arg	Tyr	Arg	Gly	Asp 1395	Gln	Asp	Ala
Thr 1400	Met	Ser	Ile	Leu	Asp	Ile 1405	Ser	Met	Met	Thr	Gly 1410	Phe	Ala	Pro
Asp 1415	Thr	Asp	Asp	Leu	Lys	Gln 1420	Leu	Ala	Asn	Gly	Val 1425	Asp	Arg	Tyr
Ile 1430	Ser	Lys	Tyr	Glu	Leu	Asp 1435	Lys	Ala	Phe	Ser	Asp 1440	Arg	Asn	Thr

ES 2 805 852 T3

Leu Ile	Ile Tyr	Leu Asp	Lys	Val Ser	His Ser	Glu	Asp Asp	Cys
1445			1450			1455		
Leu Ala	Phe Lys	Val His	Gln	Tyr Phe	Asn Val	Glu	Leu Ile	Gln
1460			1465			1470		
Pro Gly	Ala Val	Lys Val	Tyr	Ala Tyr	Tyr Asn	Leu	Glu Glu	Ser
1475			1480			1485		
Cys Thr	Arg Phe	Tyr His	Pro	Glu Lys	Glu Asp	Gly	Lys Leu	Asn
1490			1495			1500		
Lys Leu	Cys Arg	Asp Glu	Leu	Cys Arg	Cys Ala	Glu	Glu Asn	Cys
1505			1510			1515		
Phe Ile	Gln Lys	Ser Asp	Asp	Lys Val	Thr Leu	Glu	Glu Arg	Leu
1520			1525			1530		
Asp Lys	Ala Cys	Glu Pro	Gly	Val Asp	Tyr Val	Tyr	Lys Thr	Arg
1535			1540			1545		
Leu Val	Lys Val	Gln Leu	Ser	Asn Asp	Phe Asp	Glu	Tyr Ile	Met
1550			1555			1560		
Ala Ile	Glu Gln	Thr Ile	Lys	Ser Gly	Ser Asp	Glu	Val Gln	Val
1565			1570			1575		
Gly Gln	Gln Arg	Thr Phe	Ile	Ser Pro	Ile Lys	Cys	Arg Glu	Ala
1580			1585			1590		
Leu Lys	Leu Glu	Glu Lys	Lys	His Tyr	Leu Met	Trp	Gly Leu	Ser
1595			1600			1605		
Ser Asp	Phe Trp	Gly Glu	Lys	Pro Asn	Leu Ser	Tyr	Ile Ile	Gly
1610			1615			1620		
Lys Asp	Thr Trp	Val Glu	His	Trp Pro	Glu Glu	Asp	Glu Cys	Gln
1625			1630			1635		
Asp Glu	Glu Asn	Gln Lys	Gln	Cys Gln	Asp Leu	Gly	Ala Phe	Thr
1640			1645			1650		
Glu Ser	Met Val	Val Phe	Gly	Cys Pro	Asn			
1655			1660					

<210> 40

<211> 866

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 40

ES 2 805 852 T3

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

ES 2 805 852 T3

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

ES 2 805 852 T3

Glu Val Val Thr Ser Glu Asp Gly Ser Asp Cys Pro Glu Ala Met Asp
 485 490 495

Leu Gly Thr Leu Ser Gly Ile Gly Thr Leu Asp Gly Phe Arg His Arg
 500 505 510

His Pro Asp Glu Ala Ala Phe Phe Asp Thr Ala Ser Thr Gly Lys Thr
 515 520 525

Phe Pro Gly Phe Phe Ser Pro Met Leu Gly Glu Phe Val Ser Glu Thr
 530 535 540

Glu Ser Arg Gly Ser Glu Ser Gly Ile Phe Thr Asn Thr Lys Glu Ser
 545 550 555 560

Ser Ser His His Pro Gly Ile Ala Glu Phe Pro Ser Arg Gly Lys Ser
 565 570 575

Ser Ser Tyr Ser Lys Gln Phe Thr Ser Ser Thr Ser Tyr Asn Arg Gly
 580 585 590

Asp Ser Thr Phe Glu Ser Lys Ser Tyr Lys Met Ala Asp Glu Ala Gly
 595 600 605

Ser Glu Ala Asp His Glu Gly Thr His Ser Thr Lys Arg Gly His Ala
 610 615 620

Lys Ser Arg Pro Val Arg Asp Cys Asp Asp Val Leu Gln Thr His Pro
 625 630 635 640

Ser Gly Thr Gln Ser Gly Ile Phe Asn Ile Lys Leu Pro Gly Ser Ser
 645 650 655

Lys Ile Phe Ser Val Tyr Cys Asp Gln Glu Thr Ser Leu Gly Gly Trp
 660 665 670

Leu Leu Ile Gln Gln Arg Met Asp Gly Ser Leu Asn Phe Asn Arg Thr
 675 680 685

Trp Gln Asp Tyr Lys Arg Gly Phe Gly Ser Leu Asn Asp Glu Gly Glu
 690 695 700

Gly Glu Phe Trp Leu Gly Asn Asp Tyr Leu His Leu Leu Thr Gln Arg
 705 710 715 720

Gly Ser Val Leu Arg Val Glu Leu Glu Asp Trp Ala Gly Asn Glu Ala
 725 730 735

ES 2 805 852 T3

Tyr Ala Glu Tyr His Phe Arg Val Gly Ser Glu Ala Glu Gly Tyr Ala
 740 745 750
 Leu Gln Val Ser Ser Tyr Glu Gly Thr Ala Gly Asp Ala Leu Ile Glu
 755 760 765
 Gly Ser Val Glu Glu Gly Ala Glu Tyr Thr Ser His Asn Asn Met Gln
 770 775 780
 Phe Ser Thr Phe Asp Arg Asp Ala Asp Gln Trp Glu Glu Asn Cys Ala
 785 790 795 800
 Glu Val Tyr Gly Gly Gly Trp Trp Tyr Asn Asn Cys Gln Ala Ala Asn
 805 810 815
 Leu Asn Gly Ile Tyr Tyr Pro Gly Gly Ser Tyr Asp Pro Arg Asn Asn
 820 825 830
 Ser Pro Tyr Glu Ile Glu Asn Gly Val Val Trp Val Ser Phe Arg Gly
 835 840 845
 Ala Asp Tyr Ser Leu Arg Ala Val Arg Met Lys Ile Arg Pro Leu Val
 850 855 860
 Thr Gln
 865

<210> 41
 <211> 418
 5 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 41

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

10

ES 2 805 852 T3

Ile	Ala	Thr	Ala	Phe	Ala	Met	Leu	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Ala	Asp	Thr	85	90	95
His	Asp	Glu	Ile	Leu	Glu	Gly	Leu	Asn	Phe	Asn	Leu	Thr	Glu	Ile	Pro	100	105	110
Glu	Ala	Gln	Ile	His	Glu	Gly	Phe	Gln	Glu	Leu	Leu	Arg	Thr	Leu	Asn	115	120	125
Gln	Pro	Asp	Ser	Gln	Leu	Gln	Leu	Thr	Thr	Gly	Asn	Gly	Leu	Phe	Leu	130	135	140
Ser	Glu	Gly	Leu	Lys	Leu	Val	Asp	Lys	Phe	Leu	Glu	Asp	Val	Lys	Lys	145	150	155
Leu	Tyr	His	Ser	Glu	Ala	Phe	Thr	Val	Asn	Phe	Gly	Asp	Thr	Glu	Glu	165	170	175
Ala	Lys	Lys	Gln	Ile	Asn	Asp	Tyr	Val	Glu	Lys	Gly	Thr	Gln	Gly	Lys	180	185	190
Ile	Val	Asp	Leu	Val	Lys	Glu	Leu	Asp	Arg	Asp	Thr	Val	Phe	Ala	Leu	195	200	205
Val	Asn	Tyr	Ile	Phe	Phe	Lys	Gly	Lys	Trp	Glu	Arg	Pro	Phe	Glu	Val	210	215	220
Lys	Asp	Thr	Glu	Glu	Glu	Asp	Phe	His	Val	Asp	Gln	Val	Thr	Thr	Val	225	230	235
Lys	Val	Pro	Met	Met	Lys	Arg	Leu	Gly	Met	Phe	Asn	Ile	Gln	His	Cys	245	250	255
Lys	Lys	Leu	Ser	Ser	Trp	Val	Leu	Leu	Met	Lys	Tyr	Leu	Gly	Asn	Ala	260	265	270
Thr	Ala	Ile	Phe	Phe	Leu	Pro	Asp	Glu	Gly	Lys	Leu	Gln	His	Leu	Glu	275	280	285
Asn	Glu	Leu	Thr	His	Asp	Ile	Ile	Thr	Lys	Phe	Leu	Glu	Asn	Glu	Asp	290	295	300
Arg	Arg	Ser	Ala	Ser	Leu	His	Leu	Pro	Lys	Leu	Ser	Ile	Thr	Gly	Thr	305	310	315
Tyr	Asp	Leu	Lys	Ser	Val	Leu	Gly	Gln	Leu	Gly	Ile	Thr	Lys	Val	Phe	325	330	335

ES 2 805 852 T3

Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys
340 345 350

Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly
355 360 365

Thr Glu Ala Ala Gly Ala Met Phe Leu Glu Ala Ile Pro Met Ser Ile
370 375 380

Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu
385 390 395 400

Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe Met Gly Lys Val Val Asn Pro Thr
405 410 415

Gln Lys

<210> 42

<211> 453

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 42

Met Ser Trp Ser Leu His Pro Arg Asn Leu Ile Leu Tyr Phe Tyr Ala
1 5 10 15

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

Asn Cys Cys Ile Leu Asp Glu Arg Phe Gly Ser Tyr Cys Pro Thr Thr
35 40 45

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

Asp Leu Gln Ser Leu Glu Asp Ile Leu His Gln Val Glu Asn Lys Thr
65 70 75 80

Ser Glu Val Lys Gln Leu Ile Lys Ala Ile Gln Leu Thr Tyr Asn Pro
85 90 95

Asp Glu Ser Ser Lys Pro Asn Met Ile Asp Ala Ala Thr Leu Lys Ser
100 105 110

Arg Lys Met Leu Glu Glu Ile Met Lys Tyr Glu Ala Ser Ile Leu Thr
115 120 125

10

ES 2 805 852 T3

His 130	Ser	Ser	Ile	Arg	Tyr 135	Leu	Gln	Glu	Ile	Tyr 140	Asn	Ser	Asn	Asn
Gln 145	Lys	Ile	Val	Asn	Leu 150	Lys	Glu	Lys	Val	Ala 155	Gln	Leu	Glu	Ala 160
Cys	Gln	Glu	Pro	Cys 165	Lys	Asp	Thr	Val	Gln 170	Ile	His	Asp	Ile	Thr 175
Lys	Asp	Cys	Gln 180	Asp	Ile	Ala	Asn	Lys 185	Gly	Ala	Lys	Gln	Ser 190	Gly Leu
Tyr	Phe 195	Ile	Lys	Pro	Leu	Lys 200	Ala	Asn	Gln	Gln	Phe	Leu 205	Val	Tyr Cys
Glu 210	Ile	Asp	Gly	Ser	Gly 215	Asn	Gly	Trp	Thr	Val	Phe 220	Gln	Lys	Arg Leu
Asp 225	Gly	Ser	Val	Asp	Phe 230	Lys	Lys	Asn	Trp	Ile 235	Gln	Tyr	Lys	Glu 240
Phe	Gly	His	Leu 245	Ser	Pro	Thr	Gly	Thr	Thr 250	Glu	Phe	Trp	Leu	Gly 255
Glu	Lys	Ile	His 260	Leu	Ile	Ser	Thr	Gln 265	Ser	Ala	Ile	Pro	Tyr 270	Ala Leu
Arg	Val 275	Glu	Leu	Glu	Asp	Trp	Asn 280	Gly	Arg	Thr	Ser	Thr 285	Ala	Asp Tyr
Ala 290	Met	Phe	Lys	Val	Gly 295	Pro	Glu	Ala	Asp	Lys	Tyr 300	Arg	Leu	Thr Tyr
Ala 305	Tyr	Phe	Ala	Gly	Gly 310	Asp	Ala	Gly	Asp	Ala 315	Phe	Asp	Gly	Phe 320
Phe	Gly	Asp	Asp	Pro 325	Ser	Asp	Lys	Phe	Phe 330	Thr	Ser	His	Asn	Gly 335
Gln	Phe	Ser	Thr 340	Trp	Asp	Asn	Asp	Asn 345	Asp	Lys	Phe	Glu	Gly 350	Asn Cys
Ala	Glu	Gln	Asp	Gly	Ser	Gly 360	Trp	Trp	Met	Asn	Lys	Cys 365	His	Ala Gly
His	Leu	Asn	Gly	Val	Tyr	Tyr	Gln	Gly	Gly	Thr	Tyr	Ser	Lys	Ala Ser

ES 2 805 852 T3

370 375 380

Thr Pro Asn Gly Tyr Asp Asn Gly Ile Ile Trp Ala Thr Trp Lys Thr
385 390 395 400

Arg Trp Tyr Ser Met Lys Lys Thr Thr Met Lys Ile Ile Pro Phe Asn
405 410 415

Arg Leu Thr Ile Gly Glu Gly Gln Gln His His Leu Gly Gly Ala Lys
420 425 430

Gln Val Arg Pro Glu His Pro Ala Glu Thr Glu Tyr Asp Ser Leu Tyr
435 440 445

Pro Glu Asp Asp Leu
450

<210> 43
<211> 330
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 43

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

ES 2 805 852 T3

130	135	140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
145	150	155
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
	165	170
		175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
	180	185
		190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
	195	200
		205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
	210	215
		220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu		
	225	230
		235
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
	245	250
		255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
	260	265
		270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
	275	280
		285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
	290	295
		300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
	305	310
		315
		320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
	325	330

<210> 44

<211> 15

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <222> (3)..(3)

<223> La metionina puede estar oxidada

<220>

<221> MISC_FEATURE

15 <222> (12)..(12)

<223> glicosilada

<220>

<221> MISC_FEATURE

20 <222> (13)..(13)

<223> La cisteína puede estar alquilada

ES 2 805 852 T3

<400> 44

Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys
1				5					10					15

5 <210> 45
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> glicosilada

15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (12)..(12)
 <223> La cisteína puede estar alquilada

20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (21)..(21)
 <223> La cisteína puede estar alquilada

25 <400> 45

Leu	Val	Asn	Glu	Val	Thr	Glu	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu
1				5					10					15	

Ser	Ala	Glu	Asn	Cys	Asp	Lys
				20		

30 <210> 46
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

35 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> La metionina puede estar oxidada

40 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (12)..(12)
 <223> glicosilada

45 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (13)..(14)
 <223> La cisteína puede estar alquilada

<400> 46

50

Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys
1				5					10					15

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para el diagnóstico no invasivo de diabetes, en particular diabetes *mellitus* tipo II, donde al menos la determinación de la glicosilación en la posición de glicosilación Lys 141 de la haptoglobina humana (P00738; SEQ ID No. 38) se lleva a cabo en una muestra aislada de sangre o plasma y se determina el nivel de HbA_{1c}, donde la glicosilación en las posiciones de glicosilación se correlaciona a continuación con el nivel de HbA_{1c}.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la glicosilación de proteínas plasmáticas humanas se determina en al menos una posición de glicosilación adicional seleccionada de entre
 - Lys 174 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
 - Lys 414 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
 - Lys 574 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
 - Lys 163 en la cadena β de fibrinógeno humano (P02675, SEQ ID No. 33),
 - Lys 50 en la región C de la cadena λ de Ig humana (P01842; SEQ ID No. 36),
 en una muestra aislada de sangre o plasma, como también
 - se determina el nivel de HbA_{1c}, donde la glicosilación en las posiciones de glicosilación se correlaciona a continuación con el nivel de HbA_{1c}.
3. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2, que comprende las etapas:
 - separar las proteínas plasmáticas de una muestra de sangre,
 - realizar una digestión enzimática de las proteínas plasmáticas,
 - determinar la glicosilación en una posición de glicosilación adicional seleccionada de entre la SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46, preferentemente seleccionada de entre
 - Lys 174 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
 - Lys 414 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
 - Lys 574 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
 - Lys 163 en la cadena β de fibrinógeno humano (P02675, SEQ ID No. 33),
 - Lys 50 en la región C de la cadena λ de Ig humana (P01842; SEQ ID No. 36),
 - Lys 93 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
 - Lys 181 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
 - Lys 233 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
 - Lys 378 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
 - Lys 525 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
 - Lys 545 en seroalbúmina humana (P02768, SEQ ID No. 31),
 - Lys 120 en apolipoproteína A-I humana (P02647, SEQ ID No. 37),
 o un péptido seleccionado de entre la SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46, preferentemente, de entre la SEQ ID No. 5, 11, 14, 18, 24, 27, 3, 6, 7, 10, 12, 23 y 25, en particular preferentemente en la SEQ ID No. 27, como también la determinación del nivel de HbA_{1c}, donde la glicosilación en las posiciones de glicosilación se correlaciona a continuación con el nivel de HbA_{1c}.
4. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además determinar el estado de glicosilación de al menos un resto de lisina adicional seleccionado de entre la SEQ ID No. 1 a 30 y 44 a 46, preferentemente de entre la SEQ ID No. 5, 11, 14, 18, 24, 27, 3, 6, 7, 10, 12, 23 y 25 u 11, 14, 18 y 24.
5. Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque después de la digestión enzimática, se realiza una cromatografía de afinidad para separar péptidos glicosilados y/o una extracción en fase sólida.
6. Procedimiento según la reivindicación 5, caracterizado porque se realiza una cromatografía de ácido de boro como cromatografía de afinidad.
7. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la glicosilación se determina en al menos una posición de glicosilación mediante espectrometría de masas, FRET (transferencia de energía de resonancia de Förster), ELBIA (inmunoensayo de boronato ligado a enzimas) o inmunoensayo.
8. Uso de una lisina glicosilada para el diagnóstico no invasivo de diabetes, en particular diabetes *mellitus* tipo II, donde al menos la determinación de la glicosilación en la posición de glicosilación Lys 141 de la haptoglobina humana (P00738; SEQ ID No. 38) se lleva a cabo en una muestra aislada de sangre o plasma.
9. Kit para el diagnóstico no invasivo de diabetes, en particular diabetes *mellitus* tipo II, que comprende al menos un reactivo que presenta afinidad por al menos un antígeno, el cual se forma por un péptido, el cual presenta la posición de glicosilación Lys 141 de la haptoglobina humana (P00738; SEQ ID No. 38), donde el antígeno se detecta en el estado glicosilado.

10. Kit según la reivindicación 9, caracterizado porque el reactivo es un anticuerpo, un aptámero oligonucleotídico o un aptámero peptídico.
- 5 11. Kit según cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10, que comprende además al menos un componente de ácido borónico inmovilizado para el enriquecimiento de proteínas y péptidos glicosilados o un ELBIA (inmunoensayo de boronato ligado a enzimas).
- 10 12. Uso de una lisina glicosilada como biomarcador para el diagnóstico de diabetes, en particular diabetes *mellitus* tipo II y/o para la monitorización de un tratamiento para la diabetes, en particular diabetes *mellitus* tipo II, donde al menos la determinación de la glicosilación en la posición de glicosilación Lys 141 de haptoglobina humana (P00738; SEQ ID No. 38) se lleva a cabo en una muestra aislada de sangre o plasma.
- 15 13. Reactivo que presenta afinidad por al menos un antígeno, el cual se forma por un péptido, el cual comprende al menos la posición de glicosilación Lys 141 de haptoglobina humana (P00738; SEQ ID No. 38) así como secciones de secuencia de flanco de la proteína correspondiente, donde el antígeno se detecta en el estado glicosilado.
14. Reactivo según la reivindicación 13, caracterizado porque el reactivo es un anticuerpo, un aptámero oligonucleotídico o un aptámero peptídico.

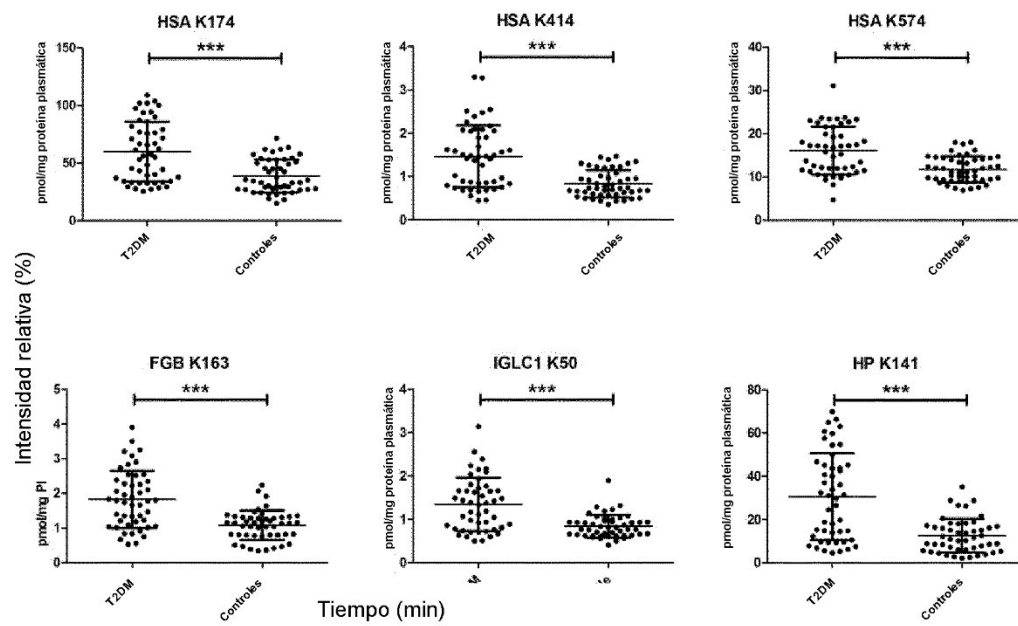


Fig. 1

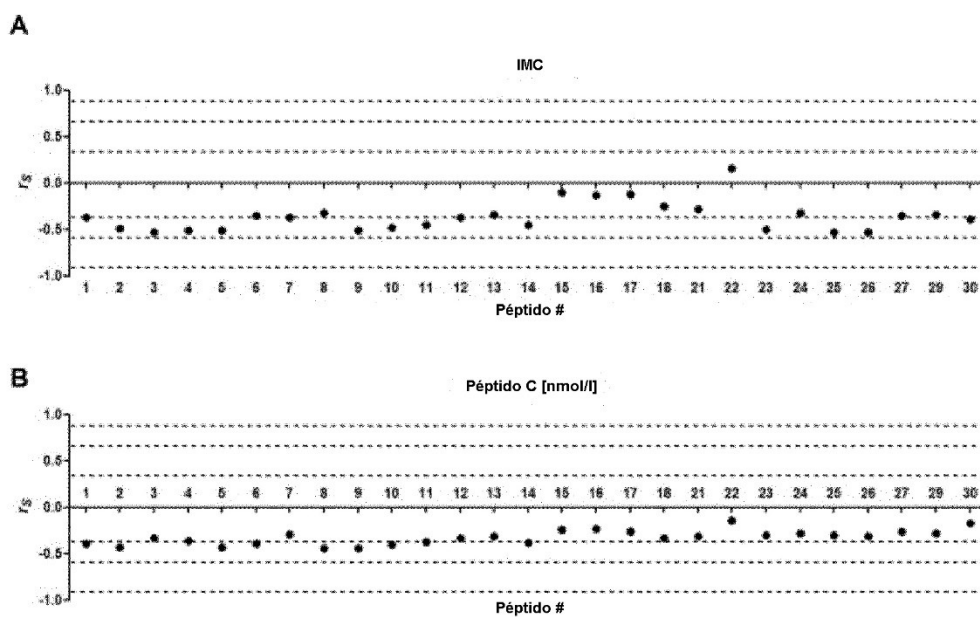


Fig. 2

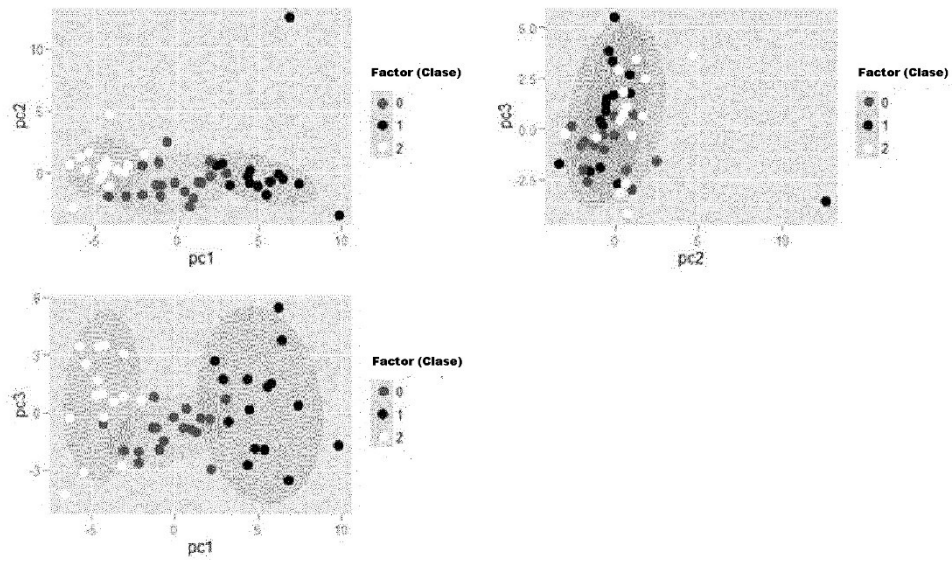


Fig. 3

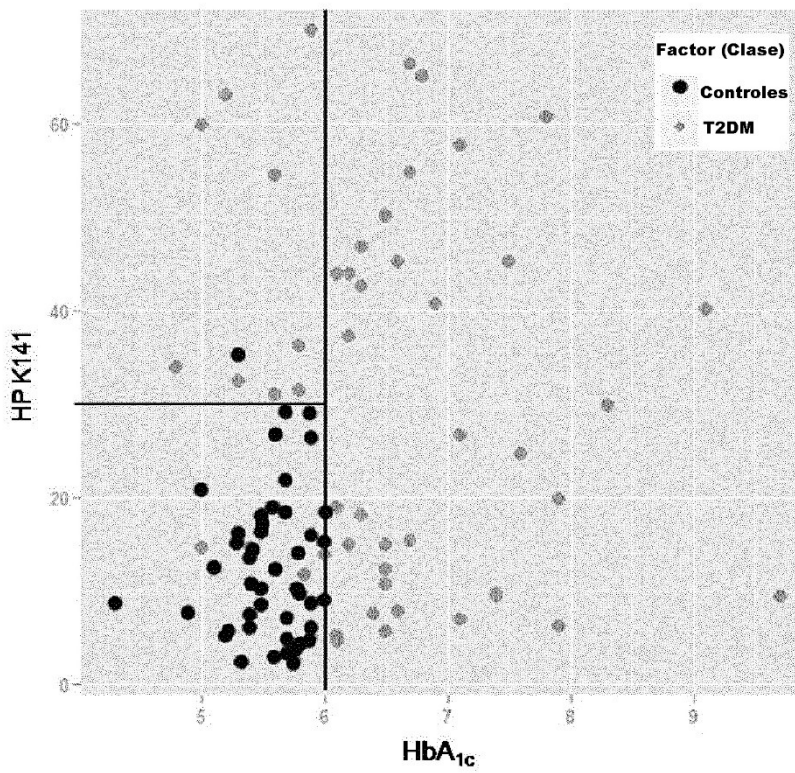


Fig. 4

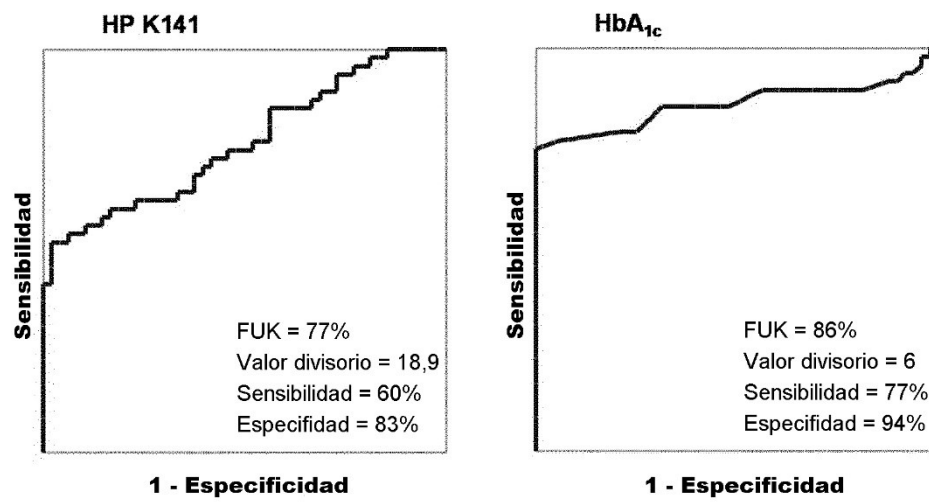
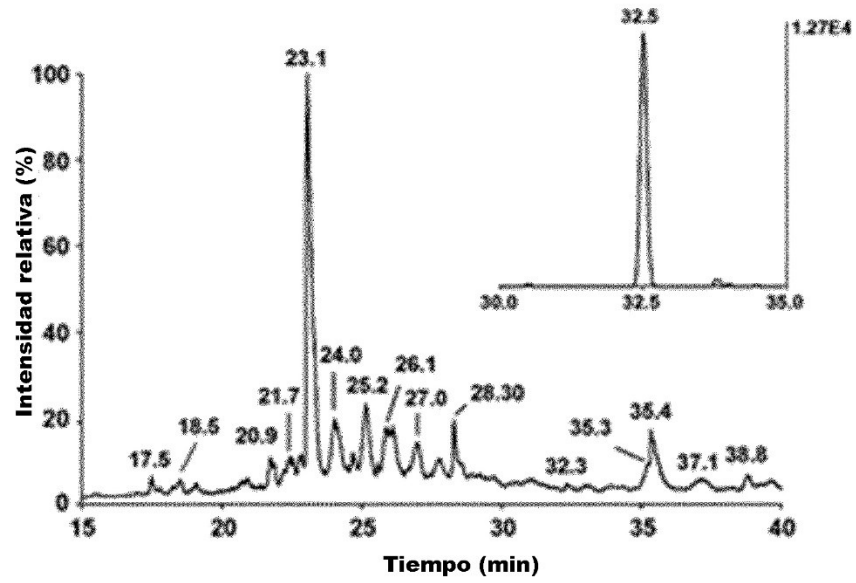


Fig. 5

A



B

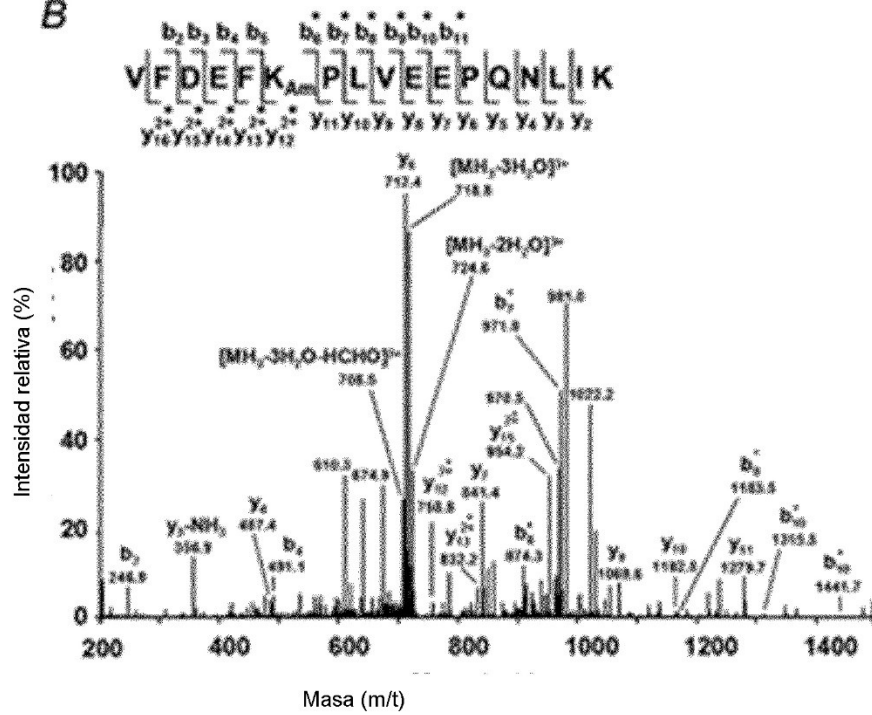


Fig. 6