

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 525 065**

(51) Int. Cl.:

C12P 21/04

(2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.04.2009 E 09730096 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.09.2014 EP 2288715**

(54) Título: **Ligadores de seroalbúmina humana y sus conjugados**

(30) Prioridad:

**11.04.2008 US 123942 P
18.11.2008 US 115797 P**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.12.2014

(73) Titular/es:

**MERRIMACK PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
One Kendall Square, Suite B7201
Cambridge, MA 02139 , US**

(72) Inventor/es:

**MCDONAGH, CHARLOTTE;
FELDHAUS, MICHAEL y
HUHALOV, ALEXANDRA**

(74) Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 525 065 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

Ligadores de seroalbúmina humana y sus conjugados

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La invención proporciona un ligador de seroalbúmina humana (HSA), y sus conjugados de unión, de diagnóstico, y terapéuticos. En una realización, el ligador de HSA incluye dos sustituciones de aminoácidos. La invención proporciona además métodos para la fabricación y administración de conjugados de diagnóstico y terapéuticos del ligador de HSA.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

- Las seroalbúminas pertenecen a una familia de proteínas que incluye alfa-fetoproteína y un componente específico del grupo humano, también conocido como proteína de unión a vitamina D. Las seroalbúminas son las proteínas solubles principales del sistema circulatorio, y contribuyen a muchos procesos fisiológicos vitales. La seroalbúmina comprende generalmente alrededor de 50% del componente sanguíneo total en peso seco. Las albúminas y sus proteínas sanguíneas relacionadas también desempeñan un papel importante en el transporte, distribución, y metabolismo de muchos ligandos endógenos y exógenos en el cuerpo humano, incluyendo una variedad de moléculas químicamente diversas, tales como ácidos grasos, aminoácidos, esteroides, calcio, metales tales como cobre y cinc, y diversos agentes farmacéuticos. Se piensa generalmente que la familia de moléculas de las albúminas facilita la transferencia de muchos de estos ligandos a través de interfaces organocirculatorias, tales como el hígado, intestino, riñones, y el cerebro. Las albúminas están implicadas así en un amplio intervalo de funciones circulatorias y metabólicas.
- La seroalbúmina humana (HSA) es una proteína de alrededor de 66.500 kD, y comprende 585 aminoácidos, incluyendo al menos 17 puentes de disulfuro. Al igual que con muchos de los miembros de la familia de albúminas, la seroalbúmina humana desempeña un papel importante en la fisiología humana, y está localizada en virtualmente cada tejido humano y secreción corporal. Como se indica anteriormente, HSA tiene la capacidad para unir y transportar un amplio espectro de ligandos a lo largo del sistema circulatorio, incluyendo los ácidos grasos de cadena larga, que de otro modo son insolubles en el plasma circulante.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

En un aspecto, la invención proporciona un agente que comprende un ligador de seroalbúmina humana (HSA) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia expuesta en SEC ID NO: 1, y que comprende un primer resto de unión enlazado al término amino de dicho ligador de HSA y un segundo resto de unión enlazado al término carboxi de dicho ligador de HSA, en el que cada uno de dichos restos de unión primero y segundo se une específicamente a ErbB2 o ErbB3, y en el que:

- i) si dicho primer resto de unión se une específicamente a ErbB3, dicho segundo resto de unión se une específicamente a ErbB2; y
- ii) si dicho primer resto de unión se une específicamente a ErbB2, dicho segundo resto de unión se une específicamente a ErbB3.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un kit que comprende el agente de la invención e instrucciones para administrar dicho agente a un paciente, en el que preferiblemente dicho paciente tiene una enfermedad proliferativa, tal como melanoma, sarcoma de células claras, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de vejiga, cáncer de mama, en el que preferiblemente dicho cáncer de mama expresa ErbB2 y opcionalmente dicho cáncer de mama sobreexpresa ErbB2, cáncer de colon, cáncer ovárico, cáncer endometrial, cáncer gástrico, cáncer pancreático, cáncer renal, cáncer de próstata, cáncer de la glándula salival, cáncer de pulmón, cáncer hepático, cáncer de piel, o cáncer de cerebro.

En un primer aspecto, la invención incluye un agente que incluye un ligador de seroalbúmina humana (HAS) que tiene una secuencia de aminoácidos expuesta en una cualquiera de SEC ID NOS: 6-10 y restos de unión primero y segundo seleccionados de anticuerpos, moléculas de Fv monocatenario, moléculas de Fv monocatenario biespecífico ((ScFv')₂), anticuerpos de dominio, dianticuerpos, trianticuerpos, hormonas, fragmentos Fab, moléculas F(ab')₂, fragmentos de scFv en tandem (taFv), receptores (por ejemplo, receptores de la superficie celular), ligandos, aptámeros, y sus fragmentos biológicamente activos, en el que el primer resto de unión está enlazado al término amino del ligador de HSA, y el segundo resto de unión está enlazado al término carboxi del ligador de HSA. En una realización, el primer resto de unión se une específicamente a ErbB3, y el segundo resto de unión se une específicamente a ErbB2. En otras realizaciones, el ligador de HSA tiene las secuencias de aminoácidos expuestas en SEC ID NOS: 9 ó 10.

En un segundo aspecto, la invención incluye un agente que incluye un ligador de HSA que tiene una secuencia de aminoácidos expuesta en una cualquiera de SEC ID NOS: 11-15 y al menos restos de unión primero y segundo, que se pueden seleccionar de anticuerpos, moléculas de Fv monocatenario, moléculas de Fv monocatenario biespecífico

- ((ScFv')₂), anticuerpos de dominio, dianticuerpos, trianticuerpos, hormonas, fragmentos Fab, moléculas F(ab')₂, fragmentos de scFv en tandem (taFv), receptores (por ejemplo, receptores de la superficie celular), ligandos, aptámeros, y sus fragmentos biológicamente activos, en el que el primer resto de unión está enlazado al término amino y el segundo resto de unión está enlazado al término carboxi de la secuencia. En una realización, se pueden 5 incluir en el agente tres o más restos de unión (por ejemplo, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, o más); estos restos de unión adicionales se pueden añadir al agente, por ejemplo, en tandem (por ejemplo, 2, 3, 4, ó 5 o más en tandem) con el o segundo resto de unión. En una realización, el primer resto de unión se une específicamente a ErbB3, y el segundo resto de unión se une específicamente a ErbB2. En otras realizaciones, el ligador de HSA tiene las secuencias de aminoácidos expuestas en SEC ID NOS: 14 ó 15.
- 10 En un tercer aspecto, la invención proporciona un ligador de HSA que tiene una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90% de identidad de secuencia expuesta en SEC ID NO: 1, y un resto de serina en la posición 34 y un resto de glutamina en la posición 503 de la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC ID NO: 1. En una realización, la secuencia de aminoácidos tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia expuesta en SEC ID NO: 1. En otra realización, el ligador de HSA tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en 15 SEC ID NO: 1.
- En un cuarto aspecto, la invención incluye un agente que incluye un ligador de HSA que tiene al menos 90% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia expuesta en SEC ID NO: 1 y al menos un primer resto de unión. En una realización, el agente incluye un primer conector polipeptídico que une el primer resto de unión al ligador de HSA.
- 20 En un quinto aspecto, la invención incluye un agente que incluye un ligador de HSA que tiene una secuencia de aminoácidos expuesta en una cualquiera de SEC ID NOS: 11-15, o un fragmento o variante de una cualquiera de estas secuencias, y al menos un primer resto de unión.
- En el cuarto o quinto aspecto de la invención, el agente incluye además un primer conector polipeptídico (por ejemplo, AAS, AAQ, o AAAL) que une el primer resto de unión al término amino o carboxi del ligador de HSA. En 25 una realización, el primer conector une covalentemente el primer resto de unión al ligador de HSA.
- En el cuarto o quinto aspecto de la invención, el agente incluye además al menos un segundo resto de unión. En una realización, el agente incluye además un segundo conector polipeptídico (por ejemplo, AAS, AAQ, o AAAL) que une el segundo resto de unión al ligador de HSA. En otras realizaciones, el segundo conector une el segundo resto de unión al término amino o carboxi del ligador de HSA. En una realización adicional, el segundo conector une 30 covalentemente el segundo resto de unión al ligador de HSA. En otras realizaciones, el agente incluye además tres o más restos de unión que están incluidos en tandem con el primer o segundo resto de unión; los restos de unión tercero o más pueden incluir además una secuencia conectora que une los tres o más restos de unión al primer o segundo resto de unión y entre sí.
- En el cuarto o quinto aspecto de la invención, el agente incluye un primer conector polipeptídico que une 35 covalentemente un primer resto de unión al término amino del ligador de HSA, y un segundo conector polipeptídico que une covalentemente un segundo resto de unión al término carboxi del ligador de HSA. En una realización, el primer conector tiene la secuencia de aminoácidos AAS o AAQ, y el segundo conector tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC ID NO: 5.
- En el cuarto o quinto aspecto de la invención, el primer o segundo resto de unión (o tercer o más resto de unión) es 40 un anticuerpo, una molécula de Fv monocatenario, una molécula de Fv monocatenario biespecífico ((ScFv')₂), anticuerpo de dominio, dianticuerpo, trianticuerpo, hormona, fragmento Fab, molécula F(ab')₂, fragmento de scFv en tandem (taFv), receptor (por ejemplo, receptor de la superficie celular), ligando, aptámero, o fragmento biológicamente activo de los mismos. En otras realizaciones, los agentes de la invención incluyen combinaciones de estos tipos diferentes de restos de unión. En una realización, al menos el primer o segundo resto de unión es una molécula de Fv monocatenario humano o humanizado.
- En una realización de uno cualquiera del primer, segundo, tercero, cuarto, o quinto aspectos de la invención, uno o más del primer o segundo resto de unión (o, si está presente, el tercer o más resto de unión) es o se une específicamente a una proteína seleccionada del grupo que consiste en el receptor del factor 1 de crecimiento similar a insulina (IGF1R), IGF2R, factor de crecimiento similar a insulina (IGF), receptor del factor de transición 45 epitelial mesenquimatoso (c-met; también conocido como receptor del factor de crecimiento de hepatocitos (HGFR)), factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), factor de crecimiento epidérmico (EGF), heregulina, receptor del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR), receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), receptor del factor de necrosis tumoral (TNFR), factor alfa de necrosis tumoral (TNF- α), TNF- β , receptor de folato (FOLR), folato, receptor de transferrina (TfR), mesotelina, receptor de Fc, receptor de c-kit, c-kit, una integrina (por ejemplo, una α 4 integrina o una β -1 integrina), P-selectina, receptor 1 de esfingosina-1-fosfato (S1PR), receptor de hialuronato, 50 antígeno 1 de la función leucocitaria (LFA-1), CD4, CD11, CD18, CD20, CD25, CD27, CD52, CD70, CD80, CD85, CD95 (receptor de Fas), CD106 (molécula 1 de adhesión de células vasculares (VCAM1), CD166 (molécula de

adhesión celular de leucocitos activados (ALCAM)), CD178 (ligando Fas), CD253 (ligando inductor de la apoptosis relacionado con TNF (TRAIL)), ligando ICOS, CCR2, CXCR3, CCR5, CXCL12 (factor 1 derivado de células estrómicas (SDF-1)), interleucina 1 (IL-1), CTLA-4, MART-1, gp100, MAGE-1, receptor de efrina (Eph), molécula 1 de adhesión celular de adresina mucosal (MAdCAM-1), antígeno carcinoembriónico (CEA), Lewis^Y, MUC-1, 5 molécula de adhesión de células epiteliales (EpCAM), antígeno 125 del cáncer (CA125), antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA), antígeno TAG-72, y sus fragmentos. En una realización adicional, uno o más del primer o segundo resto de unión (o, si está presente, el tercer o más resto de unión) es o se une específicamente al receptor del homólogo del oncogén viral de leucemia eritroblástica (ErbB) (por ejemplo, receptor ErbB1; receptor ErbB2; receptor ErbB3; y receptor ErbB4). En otra realización, uno o más del primer o segundo resto de unión (o, si 10 está presente, el tercer o más resto de unión) es o se une específicamente a alfa-fetoproteína (AFP) o un interferón, o un fragmento biológicamente activo del mismo. En una realización adicional, uno o más del primer o segundo resto de unión (o, si está presente, el tercer o más resto de unión) es natalizumab, infliximab, adalimumab, rituximab, alemtuzumab, bevacizumab, daclizumab, efalizumab, golimumab, certolizumab, trastuzumab, abatacept, etanercept, pertuzumab, cetuximab, panitumumab, o anakinra.

15 En uno cualquiera del primer, segundo, tercero, cuarto, o quinto aspectos de la invención, el agente está unido conjuntamente a un agente de diagnóstico, a un agente terapéutico, o a ambos. En una realización, el agente de diagnóstico es un marcador detectable, tal como un marcador radioactivo, fluorescente, o de metal pesado. En otra realización, el agente terapéutico es un agente citotóxico, agente citostático, o agente inmunomodulador. Los agentes citotóxicos incluyen agentes alquilantes, antibióticos, agentes antineoplásicos, agentes antiproliferativos, 20 antimetabolitos, inhibidores de tubulina, inhibidores de topoisomerasa I o II, agonistas o antagonistas hormonales, inmunomoduladores, agentes de unión de la ranura menor del ADN, y agentes radioactivos, o cualquier agente capaz de unirse a y exterminar una célula tumoral o inhibir la proliferación de células tumorales. Los agentes antineoplásicos incluyen ciclofosfamida, camptotecina, homocamtotecina, colchicina, combrestatina, combrestatina, rizoxina, dolistatina, ansamitocina p3, maitansinoide, auristatina, calicheamicina, metotrexato, 5-fluorouracilo (5-FU), 25 doxorubicina, paclitaxel, docetaxel, cisplatino, carboplatino, tamoxifeno, raloxifeno, letrozol, epirrubicina, bevacizumab, pertuzumab, trastuzumab, y sus derivados.

En uno cualquiera de los aspectos primero, segundo, tercero, cuarto o quinto de la invención, el agente se mezcla con un vehículo, excipiente, o diluyente farmacéuticamente aceptable. En una realización, el agente muestra una semivida *in vivo* de entre 6 horas y 7 días. En otra realización, el agente muestra una semivida *in vivo* mayor que 8 30 horas.

En un sexto aspecto, la invención incluye un método para tratar un animal que tiene una enfermedad o trastorno administrando uno cualquiera de los agentes de HSA descritos en los primeros cinco aspectos. En una realización, la enfermedad o trastorno está asociado con señalización celular a través de un receptor de la superficie celular. En otra realización, el mamífero es un ser humano. En una realización adicional, la enfermedad o trastorno es una enfermedad proliferativa o autoinmunitaria. Las enfermedades proliferativas incluyen melanoma, sarcoma de células claras, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer ovárico, cáncer endometrial, cáncer gástrico, cáncer pancreático, cáncer renal, cáncer de próstata, cáncer de la glándula salival, cáncer de pulmón, cáncer hepático, cáncer de piel, y cáncer de cerebro. Las enfermedades autoinmunitarias incluyen esclerosis múltiple, psoriasis, miastenia grave, uveítis, lupus sistémico eritematoso, y artritis reumatoide. En 40 una realización, el agente de HSA se administra en combinación con uno o más agentes terapéuticos, tal como un agente antineoplásico.

En un séptimo aspecto, la invención incluye un método para obtener un agente ligador de HSA uniendo al menos un primer resto de unión al término amino y un segundo resto de unión al término carboxi de la secuencia de aminoácidos expuesta en una cualquiera de SEC ID NOS: 1, 3, ó 6-15, o una secuencia que tiene al menos 90%, 45 95%, 97%, ó 100% de identidad de secuencia con una secuencia expuesta en una cualquiera de SEC ID NOS: 1, 3, ó 6-15. En una realización, el resto de unión primero y segundo se une covalentemente al término amino o carboxi de un ligador de HSA. En otras realizaciones, un tercer resto de unión o resto de unión adicional (por ejemplo, un cuarto, quinto, sexto, séptimo, octavo, noveno, o décimo resto de unión) está unido covalentemente en tandem con el primer o segundo resto de unión al término amino o carboxi del ligador de HSA. En otra realización, uno o más del primer o segundo resto de unión (o, si está presente, el tercer o más resto de unión) es un anticuerpo, una molécula de Fv monocatenario, una molécula de Fv monocatenario biespecífico ((ScFv)₂), anticuerpo de dominio, dianticuerpo, trianticuerpo, hormona, fragmento Fab, molécula F(ab')₂, fragmento de scFv en tandem (taFv), receptor (por ejemplo, receptor de la superficie celular), ligando, o aptámero. En otra realización, el primer o segundo resto de unión (o, si está presente, el tercer o más resto de unión) es una molécula de Fv monocatenario humano o 50 humanizado. En todavía otra realización, uno o más del primer o segundo resto de unión (o, si está presente, el tercer o más resto de unión) es o se une específicamente al receptor del factor 1 de crecimiento similar a insulina (IGF1R), IGF2R, factor de crecimiento similar a insulina (IGF), receptor del factor de transición epitelial mesenquimatoso (c-met; también conocido como receptor del factor de crecimiento de hepatocitos (HGFR)), factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), factor de crecimiento epidérmico (EGF), heregulina, receptor del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR), receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), receptor del 55 factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), receptor del 60 factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), receptor del

factor de necrosis tumoral (TNFR), factor alfa de necrosis tumoral (TNF- α), TNF- β , receptor de folato (FOLR), folato, receptor de transferrina (TfR), mesotelina, receptor de Fc, receptor de c-kit, c-kit, una integrina (por ejemplo, una $\alpha 4$ integrina o una $\beta 1$ integrina), P-selectina, receptor 1 de esfingosina-1-fosfato (S1PR), receptor de hialuronato, antígeno 1 de la función leucocitaria (LFA-1), CD4, CD11, CD18, CD20, CD25, CD27, CD52, CD70, CD80, CD85, CD95 (receptor de Fas), CD106 (molécula 1 de adhesión de células vasculares (VCAM1), CD166 (molécula de adhesión celular de leucocitos activados (ALCAM)), CD178 (ligando Fas), CD253 (ligando inductor de la apoptosis relacionado con TNF (TRAIL)), ligando ICOS, CCR2, CXCR3, CCR5, CXCL12 (factor 1 derivado de células estrómicas (SDF-1)), interleucina 1 (IL-1), CTLA-4, MART-1, gp100, MAGE-1, receptor de efrina (Eph), molécula 1 de adhesión celular de adresina mucosal (MAdCAM-1), antígeno carcinoembriónico (CEA), Lewis Y , MUC-1, molécula de adhesión de células epiteliales (EpCAM), antígeno 125 del cáncer (CA125), antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA), antígeno TAG-72, y sus fragmentos. En una realización adicional, uno o más del primer o segundo resto de unión (o, si está presente, el tercer o más resto de unión) es o se une específicamente al receptor del homólogo del oncogén viral de leucemia eritroblástica (ErbB) (por ejemplo, receptor ErbB1; receptor ErbB2; receptor ErbB3; y receptor ErbB4). En otra realización, uno o más del primer o segundo resto de unión (o, si está presente, el tercer o más resto de unión) es o se une específicamente a alfa-fetoproteína (AFP) o un interferón, o un fragmento biológicamente activo del mismo. En una realización adicional, uno o más del primer o segundo resto de unión (o, si está presente, el tercer o más resto de unión) es natalizumab, infliximab, adalimumab, rituximab, alemtuzumab, bevacizumab, daclizumab, efalizumab, golimumab, certolizumab, trastuzumab, abatacept, etanercept, pertuzumab, cetuximab, panitumumab, o anakinra. En otra realización, el agente está unido conjuntamente a un agente de diagnóstico o terapéutico. En una realización, el agente de diagnóstico es un marcador detectable, tal como un marcador radioactivo, bioluminiscente, fluorescente, de metales pesados, o etiquetas epítópicas. En otra realización, el agente terapéutico es un agente citotóxico, citostático, o agente inmunomodulador. Los agentes citotóxicos incluyen agentes alquilantes, antibióticos, agentes antineoplásicos, agentes antiproliferativos, antimetabolitos, inhibidores de tubulina, inhibidores de topoisomerasa I o II, agonistas o antagonistas hormonales, inmunomoduladores, agentes de unión de la ranura menor del ADN, y agentes radioactivos, o cualquier agente capaz de unirse a y exterminar una célula tumoral o inhibir la proliferación de células tumorales. Los agentes antineoplásicos incluyen ciclofosfamida, camptotecina, homocamptotecina, colchicina, combrestatina, combrestatina, rizoxina, dolistatina, ansamitocina p3, maitansinoide, auristatina, calicheamicina, metotrexato, 5-fluorouracilo (5-FU), doxorubicina, paclitaxel, docetaxel, cisplatino, carboplatino, tamoxifeno, raloxifeno, letrozol, epirubicina, bevacizumab, pertuzumab, trastuzumab, y sus derivados. En una realización adicional, el agente se mezcla con un vehículo, excipiente, o diluyente farmacéuticamente aceptable.

En un octavo aspecto, la invención incluye un método para obtener un agente de HSA sustituyendo uno o más restos de aminoácidos expuestos en la superficie en las secuencia de aminoácidos expuestas en una cualquiera de SEC ID NOS: 1, 3, y 6-15 por un aminoácido sustituto capaz de modificación química que permite la conjugación de un agente de diagnóstico o terapéutico. En una realización, el aminoácido sustituto es cisteína, y los restos de aminoácidos expuestos en la superficie son serina o treonina. En otra realización, la modificación química da como resultado un enlace covalente entre el aminoácido sustituto y el agente de diagnóstico o terapéutico. En una realización adicional, los restos de aminoácidos expuestos en la superficie son treonina en la posición 496, serina en la posición 58, treonina en la posición 76, treonina en la posición 79, treonina en la posición 83, treonina en la posición 125, treonina en la posición 236, serina en la posición 270, serina en la posición 273, serina en la posición 304, serina en la posición 435, treonina en la posición 478, treonina en la posición 506, o treonina en la posición 508.

En un noveno aspecto, la invención incluye un método para obtener un agente de HSA sustituyendo uno o más de los restos en las secuencias de aminoácidos expuestas en una cualquiera de SEC ID NOS: 1, 3, y 6-15 por una asparagina, serina, o treonina, incorporando de ese modo un sitio de glicosilación en el agente de HSA.

En un décimo aspecto, la invención incluye un método para obtener un agente de HSA sustituyendo uno o más de los restos de asparagina, serina, o treonina en las secuencias de aminoácidos expuestas en una cualquiera de SEC ID NOS: 1, 3, y 6-15 por cualquier aminoácido distinto de asparagina, serina, o treonina, eliminando de ese modo un sitio de glicosilación del agente de HSA.

En un undécimo aspecto, la invención incluye un agente que tiene al menos 90% de identidad de secuencia con una de las secuencias de aminoácidos expuestas en SEC ID NOS: 16-25. En una realización, el agente tiene al menos 95% de identidad de secuencia con una de las secuencias de aminoácidos expuestas en SEC ID NOS: 16-25. En otra realización, el agente tiene una de las secuencias de aminoácidos expuestas en SEC ID NOS: 16-25. En una realización adicional, el agente está unido conjuntamente a un agente de diagnóstico o terapéutico. Los agentes de diagnóstico incluyen marcadores detectables, tales marcadores radioactivos, bioluminiscentes, fluorescentes o de metales pesados, o etiquetas epítópicas. Las moléculas fluorescentes que pueden servir como marcadores detectables incluyen proteína fluorescente verde (GFP), GFP potenciada (eGFP), proteína fluorescente amarilla (YFP), proteína fluorescente ciano (CFP), proteína fluorescente roja (RFP), y dsRed. En una realización, la molécula bioluminiscente es luciferasa. En otra realización, la etiqueta epítópica es c-myc, hemaglutinina, o una etiqueta de histidina. En una realización adicional, el agente terapéutico es un polipéptido citotóxico tal como citocromo c, caspasa 1-10, granzima A o B, factor alfa de necrosis tumoral (TNF- α), TNF- β , Fas, ligando de Fas, enzima conversora de IL-1 β similar al dominio de muerte asociada a Fas (FLICE), TRAIL/APO2L, TWEAK/APO3L, Bax, Bid, Bik, Bad, Bak, RICK, proteínas 1 y 2 inductoras de apoptosis vascular (VAP1 y VAP2), pierisina, proteína inductora

de la apoptosis (AIP), polipéptido de propieza de IL-1 α , apoptina, proteína 1 asociada a apoptina (AAP-1), endostatina, angiotatina, y sus fragmentos biológicamente activos. Un agente de la invención se puede combinar con uno o más agentes terapéuticos tales como ciclofosfamida, camptotecina, homocampotecina, colchicina, combrestatina, combrestatina, rizoxina, dolistatina, ansamitocina p3, maitansinoide, auristatina, calicheamicina, metotrexato, 5-fluorouracilo (5-FU), doxorrubicina, paclitaxel, docetaxel, cisplatino, carboplatino, tamoxifeno, raloxifeno, letrozol, epirrubicina, bevacizumab, pertuzumab, trastuzumab, y sus derivados.

En una realización de cualquier aspecto de la invención, los restos de unión primero y segundo (y, si están presentes, uno o más del tercer o más resto de unión) se unen específicamente a la misma molécula diana. En otra realización de cualquier aspecto de la invención, los restos de unión primero y segundo (y, si están presentes, uno o más del tercer o más resto de unión) se unen específicamente a diferentes moléculas diana. En una realización adicional de cualquier aspecto de la invención, los restos de unión primero y segundo (y, si están presentes, uno o más del tercer o más resto de unión) se unen específicamente a epítopos diferentes en la misma molécula diana.

En un decimosegundo aspecto, la invención incluye un ligador polipeptídico que tiene restos de aminoácidos 25-44 y 494-513 de la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC ID NO: 1. En una realización, el ligador polipeptídico tiene restos de aminoácidos 25-70 y 450-513 de la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC ID NO: 1. En otra realización, el ligador polipeptídico tiene restos de aminoácidos 15-100 y 400-520 de la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC ID NO: 1. En una realización adicional, el ligador polipeptídico tiene restos de aminoácidos 10-200 y 300-575 de la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC ID NO: 1. En otra realización, el ligador polipeptídico tiene restos de aminoácidos 5-250 y 275-580 de la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC ID NO: 1.

En el decimosegundo aspecto de la invención, el ligador polipeptídico incluye al menos un primer resto de unión. En una realización, el ligador polipeptídico incluye al menos un primer conector polipeptídico que une el primer resto de unión al término amino o carboxi del ligador polipeptídico. En otra realización, el primer conector polipeptídico une covalentemente el primer resto de unión al ligador polipeptídico. En una realización adicional, el ligador polipeptídico incluye un segundo resto de unión. En una realización, el ligador polipeptídico incluye un segundo conector polipeptídico que une el segundo resto de unión al ligador polipeptídico. En otras realizaciones, el segundo conector une el segundo resto de unión al término amino o carboxi del ligador polipeptídico. En una realización adicional, el segundo conector une covalentemente el segundo resto de unión al ligador polipeptídico. En otras realizaciones, el ligador polipeptídico incluye un tercer, cuarto, quinto, sexto, séptimo, octavo, noveno, o décimo resto de unión. En otras realizaciones, estos restos de unión adicionales están presentes en tandem con uno o ambos del primer o segundo resto de unión. En todavía otras realizaciones, un conector polipeptídico (por ejemplo, AAS, AAQ, o AAAL) separa uno o más de estos restos de unión adicionales entre sí, el primer o segundo resto de unión, o el ligador polipeptídico.

En el decimosegundo aspecto de la invención, el ligador polipeptídico incluye un primer conector polipeptídico que une covalentemente un primer resto de unión al término amino del ligador polipeptídico, y un segundo conector polipeptídico que une covalentemente un segundo resto de unión al término carboxi del ligador polipeptídico. En una realización, el primer conector tiene la secuencia de aminoácidos AAS o AAQ, y el segundo conector tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC ID NO: 5.

En el decimosegundo aspecto de la invención, uno o más del primer o segundo resto de unión (o, si está presente, el tercer o más resto de unión) es un anticuerpo, una molécula de Fv monocatenario, una molécula de Fv monocatenario biespecífico ((ScFv')₂), anticuerpo de dominio, dianticuerpo, trianticuerpo, hormona, fragmento Fab, molécula F(ab')₂, fragmento de scFv en tandem (taFv), receptor (por ejemplo, receptor de la superficie celular), ligando, aptámero, o fragmento biológicamente activo de los mismos. En una realización, uno o más del primer o segundo resto de unión (o, si está presente, el tercer o más resto de unión) es una molécula de Fv monocatenario humano o humanizado.

En el decimosegundo aspecto de la invención, uno o más del primer o segundo resto de unión (o, si está presente, el tercer o más resto de unión) es o se une específicamente a una proteína seleccionada del grupo que consiste en un receptor del factor 1 de crecimiento similar a insulina (IGF1R), IGF2R, factor de crecimiento similar a insulina (IGF), receptor del factor de transición epitelial mesenquimatoso (c-met; también conocido como receptor del factor de crecimiento de hepatocitos (HGFR)), factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), factor de crecimiento epidérmico (EGF), heregulina, receptor del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR), receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), receptor del factor de necrosis tumoral (TNFR), factor alfa de necrosis tumoral (TNF- α), TNF- β , receptor de folato (FOLR), folato, receptor de transferrina (TfR), mesotelina, receptor de Fc, receptor de c-kit, c-kit, una integrina (por ejemplo, una α 4 integrina o una β -1 integrina), P-selectina, receptor 1 de esfingosina-1-fosfato (S1PR), receptor de hialuronato, antígeno 1 de la función leucocitaria (LFA-1), CD4, CD11, CD18, CD20, CD25, CD27, CD52, CD70, CD80, CD85, CD95 (receptor de Fas), CD106 (molécula 1 de adhesión de células vasculares (VCAM1), CD166 (molécula de adhesión celular de leucocitos activados (ALCAM)), CD178 (ligando Fas), CD253 (ligando inductor de la apoptosis relacionado con TNF (TRAIL)), ligando ICOS, CCR2, CXCR3, CCR5, CXCL12 (factor 1 derivado de células estrómicas (SDF-1)), interleucina 1 (IL-1), CTLA-4, MART-1, gp100, MAGE-1, receptor de efrina (Eph), molécula 1 de adhesión celular de adresina mucosal (MAdCAM-1), antígeno

carcinoembriónico (CEA), Lewis^Y, MUC-1, molécula de adhesión de células epiteliales (EpCAM), antígeno 125 del cáncer (CA125), antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA), antígeno TAG-72, y sus fragmentos. En una realización adicional, el primer o segundo resto de unión es o se une específicamente al receptor del homólogo del oncogén viral de leucemia eritroblástica (ErbB) (por ejemplo, receptor ErbB1; receptor ErbB2; receptor ErbB3; y receptor ErbB4). En otra realización, uno o más del primer o segundo resto de unión (o, si está presente, el tercer o más resto de unión) es o se une específicamente a alfa-fetoproteína (AFP) o un interferón, o un fragmento biológicamente activo del mismo. En una realización adicional, uno o más del primer o segundo resto de unión (o, si está presente, el tercer o más resto de unión) es natalizumab, infliximab, adalimumab, rituximab, alemtuzumab, bevacizumab, daclizumab, efalizumab, golimumab, certolizumab, trastuzumab, abatacept, pertuzumab, cetuximab, panitumumab, o anakinra.

En el decimosegundo aspecto de la invención, el ligador polipeptídico está unido conjuntamente a un agente de diagnóstico, un agente terapéutico, o a ambos. En una realización, el agente de diagnóstico es un marcador detectable, tal como un marcador radioactivo, fluorescente, o de metales pesados. En otra realización, el agente terapéutico es un agente citotóxico, citostático, o agente inmunomodulador. Los agentes citotóxicos incluyen agentes alquilantes, antibióticos, agentes antineoplásicos, agentes antiproliferativos, antimetabolitos, inhibidores de tubulina, inhibidores de topoisomerasa I o II, agonistas o antagonistas hormonales, inmunomoduladores, agentes de unión de la ranura menor del ADN, y agentes radioactivos, o cualquier agente capaz de unirse a y exterminar una célula tumoral o inhibir la proliferación de células tumorales. Los agentes antineoplásicos incluyen ciclofosfamida, camptotecina, homocamtotecina, colchicina, combrestatina, combrestatina, rizoxina, dolistatina, ansamitocina p3, maitansinoide, auristatina, calicheamicina, metotrexato, 5-fluorouracilo (5-FU), doxorubicina, paclitaxel, docetaxel, cisplatino, carboplatino, tamoxifeno, raloxifeno, letrozol, epirubicina, bevacizumab, pertuzumab, trastuzumab, y sus derivados. En una realización, el ligador polipeptídico se mezcla con un vehículo, excipiente, o diluyente farmacéuticamente aceptable. En otra realización, el ligador polipeptídico muestra una semivida *in vivo* de entre 6 horas y 7 días. En una realización adicional, el ligador polipeptídico muestra una semivida *in vivo* mayor que 8 horas.

Un decimotercer aspecto de la invención incluye un agente de cualquiera de los aspectos previos de la invención (uno a doce), en el que la secuencia del ligador polipeptídico de HSA se sustituye por otra secuencia de ligador polipeptídico. Por ejemplo, la secuencia del ligador polipeptídico podría ser una secuencia polipeptídica de seroalbúmina de mamífero, no humana, tal como por ejemplo una secuencia polipeptídica de seroalbúmina (BSA) bovina, murina, felina, y canina. En otras realizaciones, esta secuencia del ligador polipeptídico tiene una longitud entre 5 y 1.000 aminoácidos, por ejemplo 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, ó 900 aminoácidos de longitud, o cualquier número de aminoácidos en este intervalo. En otras realizaciones, la secuencia del ligador polipeptídico incluye un único aminoácido (incluyendo, pero sin limitarse a, por ejemplo, glicina, alanina, serina, glutamina, leucina, y valina), o combinaciones de aminoácidos.

En otra realización, la secuencia del ligador polipeptídico de HSA se sustituye por una secuencia polipeptídica del polipéptido de alfa-fetoproteína (AFP), por ejemplo secuencia polipeptídica de AFP de mamífero, tal como una secuencia polipeptídica de AFP humana, murina, bovina, o canina. En una realización, la secuencia del ligador de AFP del agente puede corresponder a la secuencia polipeptídica de AFP humana de longitud completa (a.a. 1-609; SEC ID NO: 58), la secuencia polipeptídica de AFP humana madura que carece de los aminoácidos 1-18 de la secuencia señal (a.a., 19-609 de SEC ID NO: 58), o sus fragmentos. En otras realizaciones, la secuencia del ligador polipeptídico de AFP contiene al menos 5 a 8 aminoácidos contiguos, preferiblemente al menos 10, 20, ó 50 aminoácidos contiguos, más preferiblemente al menos 100 aminoácidos contiguos, y lo más preferible al menos 200, 300, 400 o más aminoácidos contiguos de SEC ID NO: 58, o tiene al menos 90% de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos 95%, 97%, 99% o más de identidad de secuencia) con una secuencia polipeptídica contigua de SEC ID NO: 58 que tiene una o más de estas longitudes. Por ejemplo, una secuencia del ligador polipeptídico de AFP que tiene 90% de identidad de secuencia con un péptido AFP humano de 34-mero, que corresponde a los aminoácidos 446-479 de SEC ID NO: 58 (LSEDKLLACGEGAADIIGHLCIRHEMTPVNPGV; SEC ID NO: 59), puede contener hasta 3 aminoácidos alterados del segmento de 446-479 de SEC ID NO: 58. Uno de tales ejemplos de desviación de secuencia en fragmentos de AFP humano biológicamente activos se encuentra en, por ejemplo, la patente U.S. nº 5.707.963, que describe un fragmento de 34 aminoácidos de AFP humano (SEC ID NO: 59) con flexibilidad en dos restos de aminoácidos (aminoácido 9 y 22 de SEC ID NO: 59). Otros ejemplos de secuencias del ligador polipeptídico de AFP incluyen, por ejemplo, los aminoácidos 19-198 de SEC ID NO: 58 (Dominio I de AFP humano), aminoácidos 217-408 de SEC ID NO: 58 (Dominio II de AFP humano), aminoácidos 409-609 de SEC ID NO: 58 (Dominio III de AFP humano), aminoácidos 19-408 de SEC ID NO: 58 (Dominio I+II de AFP humano), aminoácidos 217-609 de SEC ID NO: 58 (Dominio II+III de AFP humano), y aminoácidos 285-609 de SEC ID NO: 58 (Fragmento I de AFP humano). En otra realización, la secuencia del ligador polipeptídico de AFP humano es una secuencia de 8 aminoácidos que incluye los aminoácidos 489-496 (es decir, EMTPVNPG) de SEC ID NO: 58.

Un decimocuarto aspecto de la invención incluye kits que incluyen cualquiera de los ligadores de HSA, agentes ligadores de HSA, o cualesquier otros agentes descritos en los aspectos primero, segundo, tercero, cuarto, quinto, undécimo, decimosegundo, y decimotercero de la invención. Los kits incluyen además instrucciones para permitir a una persona (por ejemplo, un médico, enfermera o paciente) administrar las composiciones y agentes contenidos en ellos. En una realización, los kits incluyen múltiples envases de una composición farmacéutica de una sola dosis o de múltiples dosis que contiene una cantidad eficaz de un agente de la invención, por ejemplo un ligador de HSA de la invención que incluye, por ejemplo, uno o más restos de unión (por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de

anticuerpos (por ejemplo, scFv)), agentes de diagnóstico (por ejemplo, radionúclidos o agentes quelantes), y/o agentes terapéuticos (por ejemplo, agentes citotóxicos o inmunomoduladores). Opcionalmente, en los kits se pueden incluir instrumentos o dispositivos necesarios para administrar la composición o composiciones farmacéuticas. Por ejemplo, un kit de esta invención puede proporcionar una o más jeringuillas previamente llenadas que contienen una cantidad eficaz de un ligador de HSA de la invención, o cualquier agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico conjugado a aquél. Además, los kits también pueden incluir componentes adicionales tales como instrucciones o calendarios de administración para un paciente que sufre una enfermedad o afección (por ejemplo, un cáncer, enfermedad autoinmunitaria, o enfermedad cardiovascular) para usar la composición o composiciones farmacéuticas que contienen, por ejemplo, un ligador de HSA de la invención, o cualquier agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico conjugado a aquél.

DEFINICIONES

El término "anticuerpo", como se usa de forma intercambiable aquí, incluye anticuerpos completos o inmunoglobulinas, y cualquier fragmento de unión a antígeno o cadenas individuales de los mismos. Los anticuerpos, como se usan aquí, pueden ser de mamífero (por ejemplo, humano o de ratón), humanizados, 15 químéricos, recombinantes, producidos sintéticamente, o aislados de forma natural. En la mayoría de los mamíferos, incluyendo seres humanos, los anticuerpos tienen al menos dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L), conectadas mediante enlaces de disulfuro. Cada cadena pesada consiste en una región variable de cadena pesada (abreviada aquí como V_H) y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada consiste en tres dominios C_H1, C_H2, y C_H3 y una región bisagra entre C_H1 y C_H2. Cada cadena ligera consiste en 20 una región variable de cadena ligera (abreviada aquí como V_L) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera consiste en un dominio, C_L. Las regiones V_H y V_L se pueden subdividir además en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que son regiones más conservadas, denominadas regiones de marco (FR). Cada V_H y V_L está compuesta de tres CDRs y cuatro FRs, dispuestas desde el término amino al término carboxi en el siguiente orden:

25 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las regiones variables de las cadenas pesada y ligera contienen un dominio de unión que interactúa con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos pueden mediar la unión de la inmunoglobulina a tejidos o factores hospedantes, incluyendo diversas células del sistema inmunitario (por ejemplo, células efectoras) y el primer componente (Clq) del sistema del complemento clásico. Los anticuerpos de la presente invención incluyen todas las formas conocidas de anticuerpos y otros andamiajes proteicos con 30 propiedades semejantes a anticuerpos. Por ejemplo, el anticuerpo puede ser un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo biespecífico, un anticuerpo químérico, o un andamiaje proteico con propiedades semejantes a un anticuerpo, tales como repeticiones de fibronectina o ankirina. El anticuerpo también puede ser un Fab, Fab'2, scFv, SMIP, dianticuerpo, nanocuerpo, aptámeros, o un anticuerpo de dominio. El anticuerpo puede tener cualquiera de los siguientes isotipos: IgG (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, e IgG4), IgM, IgA (por ejemplo, IgA1, IgA2, y IgAsec), IgD, o IgE. Los anticuerpos que se pueden usar como restos de unión, como se definen aquí, en 35 combinación con un ligador de HSA de la invención incluyen, pero no se limitan a, natalizumab, infliximab, adalimumab, rituximab, alemtuzumab, bevacizumab, daelizumab, efalizumab, golimumab, certolizumab, trastuzumab, abatacept, pertuzumab, cetuximab, y panitumumab.

40 La expresión "fragmento de anticuerpo", como se usa aquí, se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que retienen la capacidad para unirse específicamente a un antígeno (por ejemplo, ErbB2). La función de unión a antígeno de un anticuerpo se puede realizar por fragmentos de un anticuerpo de longitud completa. Los ejemplos de fragmentos de unión englobados en la expresión "porción de unión a antígeno" de un anticuerpo incluyen, pero no se limitan a: (i) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que consiste en los dominios V_L, V_H, C_L, y C_H1; (ii) un fragmento F(ab')₂, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab enlazados mediante un puente de 45 disulfuro a la región bisagra; (iii) un fragmento Fd que consiste en los dominios V_H y C_H1; (iv) un fragmento Fv que consiste en los dominios V_L y V_H de un solo brazo de un anticuerpo; (v) un dAb que incluye los dominios V_H y V_L; (vi) un fragmento de dAb (Ward et al., Nature 341:544-546 (1989)), que consiste en un dominio V_H; (vii) un dAb que consiste en un dominio V_H o un dominio V_L; (viii) una región determinante de la complementariedad (CDR) aislada; y (ix) una combinación de dos o más CDRs aisladas que pueden estar opcionalmente unidas mediante un ligador 50 sintético. Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv, V_L y V_H, son codificados por genes distintos, se pueden unir, usando métodos recombinantes, mediante un ligador sintético que les permite constituirse como una única cadena proteica en la que las regiones V_L y V_H se emparejan para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv monocatenario (scFv); véanse, por ejemplo, Bird et al., Science 242:423-426 (1988) y Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988)). Estos fragmentos de anticuerpo se obtienen usando técnicas convencionales conocidas por aquellos con pericia en la técnica, y los fragmentos se identifican para determinar la utilidad de la misma manera como se hace con anticuerpos intactos. Los fragmentos de anticuerpo se pueden producir mediante técnicas de ADN recombinante, o mediante escisión enzimática o química de inmunoglobulinas intactas.

55 Por "enfermedad autoinmunitaria" se quiere decir una enfermedad en la que se genera una respuesta del sistema inmunitario frente a epítotos o antígenos propios. Los ejemplos de enfermedades autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a, alopecia areata, espondilitis anquilosante, síndrome antifosfolípido, enfermedad de Addison autoinmunitaria, anemia hemolítica autoinmunitaria, hepatitis autoinmunitaria, enfermedad de Behcet, penfigoide ampolloso, cardiomiopatía, dermatitis por celiaquía, síndrome de disfunción inmunitaria y fatiga crónica (CFIDS),

polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, síndrome de Churg-Strauss, penfigoide cicatricial, síndrome de CREST, enfermedad de las aglutininas frías, enfermedad de Crohn, lupus discoide, crioglobulinemia mixta esencial, fibromialgia-fibromiositis, enfermedad de Grave, síndrome de Guillain-Barré, tiroiditis de Hashimoto, hipotiroidismo, fibrosis pulmonar idiopática, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), nefropatía por IgA, diabetes

- 5 insulinodependiente, artritis juvenil, liquen plano, lupus, enfermedad de Ménière, enfermedad mixta del tejido conjuntivo, esclerosis múltiple, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, panarteritis nudosa, policondritis, síndromes poliglandulares, polimialgia reumática, polimiositis y dermatomiositis, agammaglobulinemia primaria, cirrosis biliar primaria, psoriasis, fenómeno de Raynaud, síndrome de Reiter, fiebre reumática, artritis reumatoide, sarcoidosis, esclerodermia, síndrome de Sjögren, síndrome del hombre rígido, lupus eritematoso sistémico (SLE), arteritis de Takayasu, arteritis temporal/arteritis de células gigantes, colitis ulcerosa, uveítis (por ejemplo, uveítis por retinocoroidopatía emperdigonada, y uveítis sarcoide), vasculitis, vitíligo, granulomatosis de Wegener y miastenia grave.
- 10

Por "resto de unión" se quiere decir cualquier molécula que se une específicamente a un epítopo, antígeno, ligando, o receptor diana. Los restos de unión incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoclonales, policlonales, recombinantes, humanizados, y químicos), fragmentos de anticuerpo (por ejemplo, fragmentos Fab, Fab'2, anticuerpos de scFv, SMIP, anticuerpos de dominio, dianticuerpos, minicuerpos, scFv-Fc, aficuerpos, nanocuerpos, y anticuerpos de dominio), receptores, ligandos, aptámeros, y otras moléculas que tienen una pareja de unión conocida.

20 Por "biológicamente activa" se quiere decir que una molécula, incluyendo moléculas biológicas, tales como ácidos nucleicos, péptidos, polipéptidos, y proteínas, ejerce una actividad física o química sobre sí misma o sobre otra molécula. Por ejemplo, una molécula "biológicamente activa" puede poseer, por ejemplo, actividad enzimática, actividad de unión a proteína (por ejemplo, interacciones de anticuerpos), o las actividades citotóxicas son "biológicamente activas".

25 La expresión "anticuerpo químico" se refiere a una inmunoglobulina o anticuerpo cuyas regiones variables derivan de una primera especie y cuyas regiones constantes derivan de una segunda especie. Los anticuerpos químicos se pueden construir, por ejemplo, mediante ingeniería genética, a partir de segmentos génicos de inmunoglobulinas que pertenecen a diferentes especies (por ejemplo, de un ratón y un ser humano).

30 Por "conector" o "conector polipeptídico" se quiere decir una secuencia de aminoácidos de 2 a 20 restos de longitud que está unida covalentemente a uno o a ambos de los términos amino o carboxi de un ligador de HSA de la invención, o está unida covalentemente a uno o más restos de un ligador de HSA de la invención (por ejemplo, un resto entre los restos terminales amino y carboxi). En realizaciones preferidas, el conector polipeptídico unido al término amino de un ligador de HSA tiene la secuencia de aminoácidos "AAS" o "AAQ", y el conector unido al término carboxi tiene la secuencia de aminoácidos "AAAL" (SEC ID NO: 5).

35 Las expresiones "cantidad eficaz" o "cantidad eficaz para" o "cantidad terapéuticamente eficaz" significan una cantidad de un agente de la invención (por ejemplo, un ligador de HSA enlazado a uno o más restos de unión o agentes de diagnóstico o terapéuticos con o sin una secuencia conectora) suficiente para producir un resultado deseado, por ejemplo extirpar una célula cancerosa, reducir la proliferación de células tumorales, reducir la inflamación en un tejido u órgano enfermo, o marcar una población específica de células en un tejido, órgano, u organismo (por ejemplo, un ser humano).

40 La expresión "anticuerpo humano", como se usa aquí, pretende incluir anticuerpos, o sus fragmentos, que tienen regiones variables en las que las regiones tanto de marco como CDR derivan de secuencias inmunoglobulínicas de línea germinal humana, como se describe, por ejemplo, por Kabat et al., (*Sequences of proteins of Immunological Interest*, Quinta Edición, U.S. Department of Health and Human Services, Publicación de NIH nº 91-3242 (1991)). Además, si el anticuerpo contiene una región constante, la región constante también deriva de secuencias inmunoglobulínicas de línea germinal humana. Los anticuerpos humanos pueden incluir restos de aminoácidos no codificados por secuencias inmunoglobulínicas de línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas *in vitro* mediante mutagénesis al azar o específica del sitio, o *in vivo* mediante mutación somática). Sin embargo, la expresión "anticuerpo humano", como se usa aquí, no pretende incluir anticuerpos en los que las secuencias de CDR derivadas de la línea germinal de otra especie de mamífero, tal como un ratón, se han injertado en las secuencias del marco humano (es decir, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo humanizado).

45 50 55 La expresión "anticuerpo humanizado" se refiere a cualquier anticuerpo o fragmento de anticuerpo que incluye al menos un dominio inmunoglobulínico que tiene una región variable que incluye una región del marco variable derivada sustancialmente de una inmunoglobulina o anticuerpo humano, y regiones determinantes de la complementariedad (por ejemplo, al menos una CDR) derivadas sustancialmente de una inmunoglobulina o anticuerpo no humano.

Como se usa aquí, un "inhibidor de la señalización inflamatoria" o "ISI" es un agente que disminuye la unión entre una citocina proinflamatoria (por ejemplo, TNF-alfa, TNF-beta, o IL-1) y su receptor (por ejemplo, receptor 1 ó 2 de TNF, o receptor de IL-1, respectivamente); disminuye la unión de moléculas activantes a moléculas de señalización de la superficie celular proinflamatoria (por ejemplo, CD20, CD25, CTLA-4, CD80/CD86, o CD28); o disminuye la

activación aguas abajo de, o la actividad de, moléculas de señalización intracelular que se activan tras la unión de citocinas proinflamatorias a sus receptores o la unión de moléculas activantes a moléculas de señalización de la superficie celular proinflamatoria (por ejemplo, un agente que disminuye la activación de, o actividad de moléculas de señalización en la ruta de señalización de p38 MAPK). Preferiblemente, la disminución en la unión entre una 5 citocina proinflamatoria y su receptor, la disminución en la unión de una molécula activante a una molécula de señalización de la superficie celular proinflamatoria, o la disminución en la señalización intracelular que se produce tras la unión de citocinas proinflamatorias a sus receptores o moléculas activantes a moléculas de señalización de la superficie celular proinflamatoria es al menos alrededor de 10%, preferiblemente 20%, 30%, 40%, o 50%, más preferiblemente 60%, 70%, 80%, 90% o más (hasta 100%). Un ISI puede actuar reduciendo la cantidad de citocina 10 proinflamatoria (por ejemplo, TNF-alfa, TNF-beta, o IL-1) libremente disponible para unirse al receptor. Por ejemplo, un ISI puede ser una proteína del receptor de citocina proinflamatoria soluble (por ejemplo, una proteína de fusión del receptor de TNF soluble tal como etanercept (ENBREL®) o lenercept), o una molécula de señalización de la superficie celular proinflamatoria soluble (por ejemplo, una CTLA-4 soluble (abatacept)), o un anticuerpo dirigido 15 contra una citocina proinflamatoria o contra una molécula de señalización de la superficie celular proinflamatoria (por ejemplo un anticuerpo anti-TNF, tal como adalimumab, certolizumab, infliximab, o golimumab; un anticuerpo anti-CD20, tal como rituximab; o TRU-015 (TRUBION®)). Además, un ISI puede actuar destruyendo la capacidad de la citocina proinflamatoria de tipo salvaje endógena o de la molécula de señalización de la superficie celular proinflamatoria para unirse a su receptor (por ejemplo, receptor 1 ó 2 de TNF, receptor de IL-1, o CD11a (por ejemplo, efalizumab (RAPTIVA®, Genentech))). Los ejemplos de variantes de TNF-alfa dominantes negativas son 20 XENP345 (una versión pegilada de la variante de TNF A145R/I97T) y XproTM1595, y otras variantes descritas en las Publicaciones de Solicitudes de Patentes U.S. n°os 20030166559 y 20050265962. Un ejemplo de una variante de IL-1 dominante negativa es anakinra (KINERET®), que es una forma soluble de IL-1 que se une al receptor de IL-1 sin activar rutas de señalización intracelular. Los inhibidores de la señalización inflamatoria, que se pueden usar en la presente invención, son también pequeñas moléculas que inhiben o reducen las rutas de señalización aguas 25 abajo de citocina proinflamatoria o moléculas de señalización de la superficie celular proinflamatoria (por ejemplo, DE 096). Los ejemplos de ISIs de este tipo incluyen inhibidores de p38 MAP cinasa, por ejemplo derivados de 5-amino-2-carboniltiopeno (como se describen en el documento WO 04/089929); ARRY-797; BIRB 796 BS, (1-5-terc-butil-2-p-tolil-2H-pirazol-3-il)-3-[4-(2(morfolin-4-il-etoxi)-naftalen-1-il)]-urea); CHR-3620; CNI-1493; FR-167653 30 (Fujisawa Pharmaceutical, Osaka, Japón); ISIS 101757 (Isis Pharmaceuticals); ML3404; NPC31145; PD169316; PHZ1112; RJW67657, (4-(4-(4-fluorofenil)-1-(3-fenilpropil)-5-(4-piridinil)-1H-imidazol-2-il)-3-butin-1-ol; SCIO-469; SB202190; SB203580, (4-(4-fluorofenil)-2-(4-metilsulfonifilfenil)-5-(4-piridil)1H-imidazol); SB239063, trans-1-(4-hidroxiciclohexil)-4-(4-fluorofenil-metoxipiridimidin-4-il)imidazol; SB242235; SD-282; SKF-86002; TAK 715; VX702; y 35 VX745. Además, un ISI puede interferir con el procesamiento de una citocina proinflamatoria (por ejemplo, TNF-alfa y TNF-beta) de su forma unida a la membrana a su forma soluble. Los inhibidores de TACE son ISIs de esta clase. Los ejemplos de inhibidores de TACE incluyen BB-1101, BB-3103, BMS-561392, butiniloxifenil β-sulfona piperidina hidroxomatos, CH4474, DPC333, DPH-067517, GM6001, GW3333, Ro 32-7315, TAPI-1, TAPI-2, y TMI 005. Ejemplos adicionales de ISIs incluyen péptidos cortos derivados de proteínas de choque térmico de *E. coli* manipuladas mediante ingeniería en busca de la actividad inmunomoduladora específica de la enfermedad (por ejemplo, dnaJP1).

40 Por "antagonista de integrina" se quiere decir cualquier agente que reduce o inhibe la actividad biológica de una molécula de integrina (por ejemplo, una reducción o inhibición de al menos 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, o más con respecto a la actividad biológica en ausencia de un antagonista de integrina), tal como la subunidad α4 de una molécula de integrina. El agente puede actuar directa o indirectamente sobre la subunidad de integrina α4 (nº de Acceso NCBI P13612; Takada et al., EMBO J. 8:1361-1368 (1989)) inhibiendo la 45 actividad o expresión de la subunidad de integrina α4, o puede actuar sobre una diana a la que se une la integrina intacta que contiene una subunidad α4. Por ejemplo, un anticuerpo o péptido bloqueante que se une a la molécula 1 de adhesión celular vascular (VCAM-1), que evita así la unión de α4β1 integrina a VCAM-1, es considerado un antagonista de integrina para los fines de la presente invención. Los antagonistas de integrina ejemplares no limitantes adecuados para uso con la presente invención pueden incluir proteínas, péptidos bloqueantes, 50 anticuerpos, tales como natalizumab (TYSABRI®), e inhibidores de moléculas pequeñas. Los ejemplos de antagonistas de α4 integrina incluyen, pero no se limitan a, natalizumab (Elan/Biogen Idec; véanse, por ejemplo, las patentes U.S. n°os 5.840.299; 6.033.665; 6.602.503; 5.168.062; 5.385.839; y 5.730.978), oMEPUPA-V (Biogen; patente U.S. nº 6.495.525), alefacept, CDP-323 (Celltech); firategrast (SB-68399; GlaxoSmithKline); TR-9109 (Pfizer); ISIS-107248 (Antisense Therapeutics); R-1295 (Roche); y TBC-4746 (Schering-Plough). Ejemplos no 55 limitantes adicionales de antagonistas de α4 integrina incluyen las moléculas pequeñas descritas en las patentes U.S. n°os 5.821.231; 5.869.448; 5.936.065; 6.265.572; 6.288.267; 6.365.619; 6.423.728; 6.426.348; 6.458.844; 6.479.666; 6.482.849; 6.596.752; 6.667.331; 6.668.527; 6.685.617; 6.903.128; y 7.015.216; en las Publicaciones de Solicitudes de Patentes U.S. n°os 2002/0049236; 2003/0004196; 2003/0018016; 2003/0078249; 2003/0083267; 2003/0100585; 2004/0039040; 2004/0053907; 2004/0087574; 2004/0102496; 2004/0132809; 2004/0229858; 2006/0014966; 2006/0030553; 2006/0166866; 2006/0166961; 2006/0241132; 2007/0054909; y 2007/0232601; en 60 las patentes europeas n°os EP 0842943; EP 0842944; EP 0842945; EP 0903353; y EP 0918059; y en las Publicaciones PCT n°os WO 95/15973; WO 96/06108; WO 96/40781; WO 98/04247; WO 98/04913; WO 98/42656; WO 98/53814; WO 98/53817; WO 98/53818; WO 98/54207; WO 98/58902; WO 99/06390; WO 99/06431; WO 99/06432; WO 99/06433; WO 99/06434; WO 99/06435; WO 99/06436; WO 99/06437; WO 99/10312; WO 99/10313;

WO 99/20272; WO 99/23063; WO 99/24398; WO 99/25685; WO 99/26615; WO 99/26921; WO 99/26922; WO 99/26923; WO 99/35163; WO 99/36393; WO 99/37605; WO 99/37618; WO 99/43642; WO 01/42215; y WO 02/28830. Los ejemplos adicionales de antagonistas de α 4 integrina incluyen los derivados de fenilalanina descritos en: patentes U.S. n°s 6.197.794; 6.229.011; 6.329.372; 6.388.084; 6.348.463; 6.362.204; 6.380.387; 6.445.550; 6.806.365; 6.835.738; 6.855.706; 6.872.719; 6.878.718; 6.911.451; 6.916.933; 7.105.520; 7.153.963; 7.160.874; 7.193.108; 7.250.516; y 7.291.645. Los derivados de aminoácidos adicionales que son antagonistas de α 4 integrina incluyen aquellos descritos en, por ejemplo, las Publicaciones de Solicituds de Patentes U.S. n°s 2004/0229859 y 2006/0211630, y en las Publicaciones PCT n°s WO 01/36376; WO 01/47868; y WO 01/70670. Otros ejemplos de antagonistas de α 4 integrina incluyen los péptidos, y los compuestos peptídicos y semipeptídicos descritos en, por ejemplo, las Publicaciones PCT n°s WO 94/15958; WO 95/15973; WO 96/00581; WO 96/06108; WO 96/22966 (tripéptido Leu-Asp-Val; Biogen, Inc.); WO 97/02289; WO 97/03094; y WO 97/49731. Un ejemplo adicional de un antagonista de α 4 integrina es la molécula pegilada descrita en la Publicación de Solicitud de Patente U.S. n° 2007/066533. Los ejemplos de anticuerpos que son antagonistas de α 4 integrina incluyen los descritos en, por ejemplo, las Publicaciones PCT n°s WO 93/13798; WO 93/15764; WO 94/16094; y WO 95/19790. Se describen aquí ejemplos adicionales de antagonistas de α 4 integrina.

Por "interferón" se quiere decir un polipéptido de interferón-alfa, -beta, -gamma, o -tau de mamífero (por ejemplo, un ser humano), o fragmento biológicamente activo del mismo, por ejemplo IFN- α (por ejemplo, IFN- α -1a; véase la Solicitud de Patente U.S. n° 20070274950), IFN- α -1b, IFN- α -2a (véase la Solicitud PCT n° WO 07/044083), e IFN- α -2b), IFN- β (por ejemplo, descrito en la patente U.S. n° 7,238,344; IFN-b-1a (AVONEX® y REBIF®), como se describe en la patente U.S. n° 6.962.978, e IFN- β -1b (BETASERON®), como se describe en las patentes U.S. n°s 4.588.585; 4.959.314; 4.737.462; y 4.450.103; IFN-g, e IFN-t (como se describen en la patente U.S. n° 5.738.845 y en las Publicaciones de Solicituds de Patentes U.S. n°s 20040247565 y 20070243163).

Por "conjugado del ligador de HSA" se quiere decir una proteína del ligador de seroalbúmina humana (HSA) de la invención en combinación con uno o más restos de unión, conectores polipeptídicos, agentes de diagnóstico, o agentes terapéuticos.

La expresión "anticuerpo monoclonal", como se usa aquí, se refiere a un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos excepto por las posibles mutaciones de origen natural que pueden estar presentes en cantidades minoritarias. Los anticuerpos monoclonales son muy específicos, dirigiéndose contra un único sitio antigénico. Además, en contraste con preparaciones de anticuerpos (policlonales) convencionales, que incluyen típicamente diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítopos), cada anticuerpo monoclonal está dirigido contra un único determinante en el antígeno. Los anticuerpos monoclonales se pueden preparar usando cualquier técnica reconocida en la técnica y aquellos descritos aquí, tales como, por ejemplo, un método de hibridoma, como se describe por Kohler et al., Nature 256:495 (1975), un animal transgénico (por ejemplo, Lonberg et al., Nature 368(6474):856-859 (1994)), métodos de ADN recombinante (por ejemplo, patente U.S. n° 4.816.567), o usando librerías de anticuerpos de fagos, de levaduras, o de andamiaje sintético usando las técnicas descritas en, por ejemplo, Clackson et al., Nature 352:624-628 (1991) y Marks et al., J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991).

Por "vehículo farmacéuticamente aceptable" se quiere decir un vehículo que es fisiológicamente aceptable para el animal tratado a la vez que retiene las propiedades terapéuticas del compuesto con el que se administra. Un vehículo farmacéuticamente aceptable ejemplar es disolución salina fisiológica. Otros vehículos fisiológicamente aceptables y sus formulaciones son conocidos por el experto en la técnica, y se describen, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, (18^a edición), ed. A. Gennaro, 1990, Mack Publishing Company, Easton, PA.

Por "enfermedad proliferativa" o "cáncer" se quiere decir cualquier afección caracterizada por crecimiento celular anormal o desregulado. Los ejemplos de enfermedades proliferativas incluyen, por ejemplo, tumores sólidos tales como: sarcomas (por ejemplo, sarcoma de células claras), carcinomas (por ejemplo, carcinoma de células renales), y linfomas; tumores de la mama, colon, recto, pulmón, orofaringe, hipofaringe, esófago, estómago, páncreas, hígado, vesícula biliar, conducto biliar, intestino delgado, sistema urinario (incluyendo el riñón, vejiga, y epitelio del tubo urinario), sistema genital femenino (incluyendo el cuello uterino, útero, ovario, corionoma, y trofoblasto gestacional), sistema genital masculino (incluyendo la próstata, vesícula seminal, y testículos), glándulas endocrinas (incluyendo la glándula tiroidea, glándula suprarrenal, e hipófisis), piel (incluyendo angioma, melanoma, sarcoma procedente de hueso o tejido blando, y sarcoma de Kaposi), cerebro y meninges (incluyendo astrocitoma, neuroastrocitoma, espangioblastoma, retinoblastoma, neuroma, neuroblastoma, neurinoma y neuroblastoma), nervios, ojos, sistema hematopoyético (incluyendo cloroleucemia, plasmacitoma y linfoma/leucemia cutánea de células T), y sistema inmunitario (incluyendo linfoma, por ejemplo linfoma de Hodgkin y linfoma no de Hodgkin). Un ejemplo de una enfermedad proliferativa de tumor no sólido es leucemia (por ejemplo, leucemia linfoblástica aguda).

La expresión "anticuerpo recombinante" se refiere a un anticuerpo preparado, expresado, creado, o aislado por medios recombinantes, tal como (a) anticuerpos aislados de un animal (por ejemplo, un ratón) que es transgénico o transcromosómico para genes inmunoglobulínicos (por ejemplo, genes inmunoglobulínicos humanos) o un hibridoma preparado a partir de aquellos, (b) anticuerpos aislados de una célula hospedante transformada para expresar el anticuerpo, por ejemplo de un transfectora, (c) anticuerpos aislados de una librería de anticuerpos recombinante,

combinatoria (por ejemplo, que contiene secuencias de anticuerpos humanas) usando presentación de fagos, de levaduras, o de andamiaje sintético, y (d) anticuerpos preparados, expresados, creados, o aislados por cualquier otro medio que implique el ayuste de secuencias génicas inmunoglobulínicas (por ejemplo, genes inmunoglobulínicos humanos) a otras secuencias de ADN.

- 5 Por "unir específicamente" se quiere decir la asociación preferente de un resto de unión (por ejemplo, un anticuerpo, fragmento de anticuerpo, receptor, ligando, o porción de pequeña molécula de un agente de la invención) a una molécula diana (por ejemplo, una molécula diana segregada, tal como una citocina, quimiocina, hormona, receptor, o ligando) y no a células o tejidos no diana que carecen de la molécula diana. Se reconoce que se puede producir cierto grado de interacción no específica entre un resto de unión y una molécula no diana (presente sola o en combinación con una célula o tejido). No obstante, la unión específica se puede distinguir por estar mediada a través del reconocimiento específico de la molécula diana. La unión específica da como resultado una asociación más fuerte entre el resto de unión (por ejemplo, un anticuerpo) y por ejemplo células que poseen la molécula diana (por ejemplo, un antígeno) que entre el resto de unión y por ejemplo células que carecen de la molécula diana. La unión específica da típicamente como resultado un incremento mayor de 2 veces, preferiblemente mayor de 5 veces, más preferiblemente mayor de 10 veces, y lo más preferible mayor de 100 veces, en la cantidad de resto de unión unido (por unidad de tiempo) a por ejemplo una célula o tejido que posee la molécula o marcador diana, en comparación con una célula o tejido que carece de esa molécula o marcador diana. Los restos de unión se unen a la molécula o marcador diana con una constante de disociación de, por ejemplo, menor que 10^{-6} M, más preferiblemente menor que 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, o 10^{-12} M, y lo más preferible menor que 10^{-13} M, 10^{-14} M, o 10^{-15} M. La unión específica a una proteína en tales condiciones requiere un resto de unión que se seleccione por su especificidad por esa proteína particular. Existe una variedad de formatos de ensayo apropiados para seleccionar restos de unión (por ejemplo, anticuerpos) capaces de unirse específicamente a una molécula diana particular. Por ejemplo, los inmunoensayos de ELISA en fase sólida se usan habitualmente para seleccionar anticuerpos monoclonales específicamente inmunorreactivos con una proteína. Véase Harlow y Lane, Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Publications, Nueva York (1988), para una descripción de formatos y condiciones de inmunoensayo que se pueden usar para determinar inmunorreactividad específica.

La expresión "identidad sustancial" o "sustancialmente idéntica", cuando se usa en el contexto de la comparación de una secuencia polinucleotídica o polipeptídica con una secuencia de referencia, significa que la secuencia polinucleotídica o polipeptídica es la misma que la secuencia de referencia o tiene un porcentaje específico de nucleótidos o de restos de aminoácidos que son los mismos en las localizaciones correspondientes dentro de la secuencia de referencia cuando las dos secuencias se alinean óptimamente. Por ejemplo, una secuencia de aminoácidos que es "sustancialmente idéntica" a una secuencia de referencia tiene al menos alrededor de 60% de identidad, preferiblemente 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o mayor porcentaje de identidad (hasta 100%) con la secuencia de referencia (por ejemplo, la secuencia de aminoácidos de HSA como se expone en SEC ID NO: 1, o un fragmento de la misma), cuando se compara y alinea para la máxima correspondencia a lo largo de toda la longitud de la secuencia de referencia según se mide usando algoritmos de comparación de secuencias BLAST o BLAST 2.0 con parámetros por defecto, o mediante alineamiento manual e inspecciones visual (véase, por ejemplo, el sitio web de NCBI).

40 Por "resto de aminoácido expuesto en la superficie" o "expuesto en la superficie" se quiere decir un resto de aminoácido que está presente en la cara exterior de la estructura terciaria plegada o conformacionalmente correcta de un polipéptido de HSA. Tales restos se pueden sustituir por, por ejemplo, otros aminoácidos químicamente reactivos (por ejemplo, cisteína), para permitir la conjugación de agentes de diagnóstico o terapéuticos específica del sitio. Adicionalmente, los restos de aminoácidos expuestos en la superficie se pueden sustituir para permitir (por ejemplo, mediante adición de restos de serina, treonina, o asparagina, o motivos de glicosilación) o prevenir (por ejemplo, mediante eliminación de restos de serina, treonina, o asparagina, o motivos de glicosilación) la glicosilación. Los restos de aminoácidos expuestos en la superficie incluyen, pero no se limitan a, treonina en la posición 496, serina en la posición 58, treonina en la posición 76, treonina en la posición 79, treonina en la posición 83, treonina en la posición 125, treonina en la posición 236, serina en la posición 270, serina en la posición 273, serina en la posición 304, serina en la posición 435, treonina en la posición 478, treonina en la posición 506, y treonina en la posición 508 (la numeración del aminoácido es con respecto a, por ejemplo, la secuencia del ligador de HSA expuesta en SEC ID NO: 1). Otros restos expuestos en la superficie se pueden identificar por un experto usando la estructura cristalina de HSA (Sugio et al., "Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution", Protein Eng. 12:439-446 (1999)).

55 Una "molécula diana" o "célula diana" quiere decir una molécula (por ejemplo, una proteína, epítopo, antígeno, receptor, o ligando) o célula a la que se puede unir específicamente un resto de unión (por ejemplo, un anticuerpo) o un conjugado de HSA que contiene uno o más restos de unión (por ejemplo, un ligador de HSA enlazado a uno o más anticuerpos o fragmentos de anticuerpo). Una molécula diana puede estar presente en el exterior de una célula diana (por ejemplo, una proteína de la superficie celular o segregada) o en el interior de una célula diana.

60 Por "tratar" se quiere decir la reducción (por ejemplo, en al menos 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, o incluso 100%) en la progresión o gravedad de una enfermedad o trastorno humano (por ejemplo, una enfermedad autoinmunitaria o proliferativa), o en la progresión, gravedad, o frecuencia de uno o más síntomas de la enfermedad o trastorno humano en un paciente humano.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

- 5 La Figura 1 es una ilustración que muestra la representación esquemática de un conjugado de ligador de HSA ejemplar. El conector entre el resto de unión amino terminal y el ligador de HSA tiene una secuencia de alanina, alanina y serina. El conector entre el ligador de HSA y el resto de unión carboxi terminal tiene una secuencia de alanina, alanina, alanina, leucina (SEC ID NO: 5).
- 10 La Figura 2 es una gráfica que muestra que variantes de B2B3 inhiben pErbB3 inducido por HRG en células de cáncer de mama ZR75-1.
- 15 Las Figuras 3A-D son gráficas que muestran la inhibición de ErbB3 fosforilado en células de cáncer de mama BT474 después del pretratamiento durante 24 horas con las variantes de B2B3 A5-HSA-B1D2 (Figura 3A), H3-HSA-B1D2 (Figura 3B), H3-HSA-F5B6H2 (Figura 3C), y F4-HSA-F5B6H2 (Figura 3D).
- 20 Las Figuras 4A-D son gráficas que muestran la inhibición de AKT fosforilada en células de cáncer de mama BT474 después del pretratamiento durante 24 horas con las variantes de B2B3 A5-HSA-B1D2 (Figura 4A), H3-HSA-B1D2 (Figura 4B), H3-HSA-F5B6H2 (Figura 4C), y F4-HSA-F5B6H2 (Figura 4D).
- 25 Las Figuras 5A-D son gráficas que muestran la inhibición de ERK fosforilada en células de cáncer de mama BT474 después del pretratamiento durante 24 horas con las variantes de B2B3 A5-HSA-B1D2 (Figura 5A), H3-HSA-B1D2 (Figura 5B), H3-HSA-F5B6H2 (Figura 5C), y F4-HSA-F5B6H2 (Figura 5D).
- 30 La Figura 6 es una gráfica que muestra que el tratamiento de células de cáncer de mama BT474 con variantes B2B3-1 provoca la detención de G1 y una disminución en el número de células en la fase S.
- 35 La Figura 7 es un histograma de citometría de flujo que muestra que la preincubación de células BT-474-M3 con 1 μM de B2B3-1 bloquea sustancialmente la unión de HRG.
- 40 Las Figuras 8A-D son gráficas que muestran que B2B3-1 inhibe la fosforilación de ErbB3 y AKT en las estirpes celulares B-T474-M3 y ZR75-30. Estirpes celulares de cáncer de mama BT-474-M3 (Figuras 8A y 8C) y ZR75-30 (Figuras 8B y 8D) se pretrataron con un ajuste de la dosis de B2B3-1 durante 24 horas hasta que se alcanzó el efecto deseado, y después se estimularon durante 10 minutos con 5 nM de dominio HRG 1β EGF. Entonces se examinó el estado de fosforilación de ErbB3 y AKT usando un ensayo de ELISA.
- 45 La Figura 9 es una fotografía de una transferencia Western que muestra el efecto del tratamiento de B2B3-1 sobre proteínas de señalización en células de cáncer de mama BT474.
- 50 La Figura 10 es una fotografía de una transferencia Western que muestra la inmunoprecipitación de células de cáncer de mama BT474 tratadas con B2B3-1.
- 55 Las Figuras 11A-C son gráficas que muestran que el tratamiento con B2B3-1 de la estirpe celular BT-474 provoca la detención de G1 y una disminución en la población de células en fase S (Figura 11A), e inhibe la formación de colonias tanto en células BT-474 como SKBr3, en comparación con las células no tratadas (Figura 11B). Además, B2B3-1 inhibe la proliferación de células BT-474-M3 en un ensayo de impedancia celular (Figura 11C).
- 60 La Figura 12 es una gráfica que muestra que B2B3-1 no estimula la fosforilación de ErbB3 en células ZR75-1.
- 65 Las Figuras 13A-B son gráficas que muestran que B2B3-1 se une específicamente a ErbB3 (Figura 13A) y a ErbB2 (Figura 13B).
- 70 La Figura 14 es una gráfica que muestra que la avidez de unión de B2B3-1 a células MALME-3 da como resultado un incremento significativo en la afinidad de unión aparente en comparación con la variante de unión solamente a ErbB2, SKO-3, y la variante de unión solamente a ErbB3, SKO-2.
- 75 Las Figuras 15A-C son gráficas que muestran la estabilidad de B2B3-1 en suero de ratón, de macaco, y de humano. Se incubaron 100 nM de B2B3-1 en suero de ratón (Figura 15A), de macaco (Figura 15B), o humano (Figura 15C), a 37°C durante un período de 120 horas. Las muestras se retiraron a 0, 24, 48, 72, 96 y 120 horas, y se midió mediante ELISA (RLU = unidades de luz relativas) la capacidad de B2B3-1 para unirse tanto a ErbB2 como a ErbB3.
- 80 La Figura 16 es una gráfica que muestra la respuesta a la dosis de B2B3-1 en un modelo de xenoinjerto de cáncer de mama BT-474-M3. La relación de la dosis de B2B3-1 sobre la respuesta tumoral se evaluó en la línea tumoral de mama BT-474-M3 a las dosis indicadas. HSA se administró a 52,5 mg/kg, que es una dosis equimolar a la dosis de B2B3-1 de 90 mg/kg.
- 85 Las Figuras 17A-E son gráficas que muestran que B2B3-1 es eficaz en múltiples modelos de xenoinjerto de una manera dependiente de ErbB2. Se muestra el modelo de xenoinjerto de Calu-3 (adenocarcinoma pulmonar humano; Figura 17A), de SKOV-3 (adenocarcinoma ovárico humano; Figura 17B), de NCI-N87

(carcino gástrico humano; Figura 17C), de ACHN (adenocarcinoma renal humano; Figura 17D), y de MDA-MB-361 (adenocarcinoma de mama humano; Figura 17E). Los ratones se trataron con 30 mg/kg de B2B3-1 cada 3 días, o con control de HAS a una dosis equimolar a B2B3-1.

5 Las Figuras 18A-B son gráficas que muestran que la sobreexpresión de ErbB2 convierte el modelo de xenoinjerto de cáncer de mama ADRr no respondedor a B2B3-1 en un respondedor. ErbB2 se sobreexpresó en xenoinjertos de ADRr de tipo salvaje (Figura 18A) y xenoinjertos de ADRr-E2 (Figura 18B) usando un sistema de expresión retroviral.

Las Figuras 19A-B son gráficas que muestran que la actividad de B2B3-1 se correlaciona positivamente con los niveles de expresión de ErbB2 *in vitro* (Figura 19A) e *in vivo* (Figura 19B).

10 La Figura 20A-B muestra que el tratamiento con B2B3-1 modifica el ciclo de células tumorales. La Figura 20A incluye micrografías fluorescentes que muestran que el tratamiento de células tumorales de mama BT474-M3 con B2B3-1 durante 6 horas da como resultado la translocación del inhibidor del ciclo celular p27^{kip1} al núcleo. Para identificar el núcleo, se usó la tinción de Hoechst. La Figura 20B es una transferencia Western de células BT-474-M3 tratadas con B2B3-1 durante 72 horas, que dio como resultado un incremento en los niveles del regulador del ciclo celular Ciclina D1. En este experimento, la proteína citoesquelética vinculina se sondó como un control de carga proteica.

15 Las Figuras 21A-B son micrografías que muestran que el tratamiento de xenoinjertos de tumor de mama BT474 con B2B3-1 da como resultado la translocación de p27^{kip1} al núcleo. Xenoinjertos de tumor de mama BT474 se trataron con B2B3-1 (Figura 21A) a una dosis de 30 mg/kg o una dosis equimolar de HSA (Figura 21B) cada 3 días durante un total de 4 dosis, y se tiñeron para p27^{kip1}.

20 Las Figuras 22A-B son micrografías fluorescentes que muestran que el tratamiento con B2B3-1 da como resultado una reducción del marcador de proliferación Ki67 en xenoinjerto de cáncer de mama BT474-M3. Xenoinjertos de tumor de mama BT474-M3 se trataron con B2B3-1 (Figura 22A) a una dosis de 30 mg/kg o una dosis equimolar de HSA (Figura 22B) cada 3 días durante un total de 4 dosis.

25 Las Figuras 23A-B son micrografías fluorescentes que muestran que el tratamiento con B2B3-1 da como resultado una reducción de la densidad de vasos en tumores de xenoinjerto de cáncer de mama BT474-M3 (como se determina por una reducción en la tinción de CD31). Xenoinjertos de tumor de mama BT474-M3 se trataron con B2B3-1 (Figura 23A) a una dosis de 30 mg/kg o una dosis equimolar de HSA (Figura 23B) cada 3 días durante un total de 4 dosis.

30 Las Figuras 24A-B son gráficas que muestran que B2B3-1 inhibe la fosforilación de ErbB3 *in vivo*. Lisados procedentes de tumores de xenoinjerto BT-474-M3 individuales tratados con B2B3-1 (M1-M5) o HSA de control (H1-H2) se sometieron a SDS-PAGE y se sondaron para pErbB3 y beta tubulina usando análisis de transferencia Western (Figura 24A). La normalización de la señal media de pErbB3 a la señal media de beta tubulina demostró que los tumores tratados con B2B3-1 contenían significativamente menos pErbB3 que los tumores tratados con HSA (Figura 24B).

35 Las Figuras 25A y B son gráficas que muestran la actividad *in vivo* de B2B3-1 en xenoinjertos BT-474-M3 que tienen actividad de PTEN reducida. Células tumorales BT-474-M3 cultivadas se transfecaron con un vector de control (Figura 25A) o con un vector retroviral que codifica shPTEN (Figura 25B), que genosuprime la actividad de PTEN. Se inyectaron células de cáncer de mama BT-474-M3, manipuladas para genosuprimir la actividad de PTEN, en el flanco derecho de ratones, mientras que se inyectaron células transfectadas con vector de control en el flanco izquierdo del mismo ratón. Los ratones se trataron con 30 mg/kg de B2B3-1 cada 3 días, o con 10 mg/kg de herceptina cada semana, y se inyectó HSA como control a una dosis equimolar a B2B3-1. B2B3-1 y herceptina promovieron una reducción en el tamaño de tumores formados por células de cáncer de mama BT-474-M3 de control (Figura 25A), mientras que solamente B2B3-1 (y no herceptina) promovió una reducción en el tamaño de tumores formados por células de cáncer de mama BT-474-M3 que carecen de la expresión de PTEN (Figura 25B).

40 Las Figuras 26A-B muestran que B2B3-1 inhibe la fosforilación de AKT en xenoinjertos BT-474-M3 que tienen actividad de PTEN reducida. Se lisaron tumores después de terminar el tratamiento (q3dx11) y se estudiaron para determinar los niveles de expresión de PTEN, pErbB3, y pAKT mediante análisis de transferencia Western (Figura 26A). La densitometría en la densidad de bandas para pAKT normalizada a AKT total y proteína total demuestra que B2B3-1 fue capaz de inhibir la fosforilación de esta proteína, cuando no lo hizo la herceptina (Figura 26B).

45 Las Figuras 27A-D son gráficas que muestran las propiedades farmacocinéticas de una sola dosis de una dosis de bolo de 5 (Figura 27A), 15 (Figura 27B), 30 (Figura 27C), y 45 (Figura 27D) mg/kg de B2B3-1 en ratones nu/nu. Las concentraciones séricas de B2B3-1 son comparables medidas mediante el ensayo de HSA o el ensayo de ErbB2/ErbB3, indicando que la actividad de unión de B2B3-1 al antígeno se retiene en circulación.

La Figura 28 es una gráfica que muestra la relación de exposición a la dosis para dosis de bolo de 5, 15, 30, y 45 mg/kg de B2B3-1 en ratones atípicos. Los incrementos en la dosis dan como resultado un incremento lineal en la exposición global a B2B3-1.

5 La Figura 29 es una gráfica que muestra las concentraciones séricas de B2B3-1 medidas en macacos dosificados cada tres días para 4 dosis con 4 mg/kg (n = 2), 20 mg/kg (n = 2) y 200 mg/kg (n = 4 hasta 336 horas, n = 2 para los puntos de tiempo de 384, 552 y 672 horas).

La Figura 30 es una ilustración del plásmido de expresión de B2B3-1 pMP10k4H3-mHSA-B1D2.

La Figura 31 es una ilustración del plásmido de resistencia a neomicina pSV2-neo.

La Figura 32 es una ilustración del plásmido de resistencia a higromicina pTK-Hyg.

10 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Esta invención proporciona un ligador de seroalbúmina humana (HSA) que, cuando se usa para producir un agente de la invención (por ejemplo, un agente de unión, de diagnóstico, o terapéutico), muestra, por ejemplo, una mayor semivida *in vivo* de entre 6 horas y 7 días y que no induce respuestas inmunitarias significativas humorales o mediadas por células cuando se administra *in vivo* a un mamífero (por ejemplo, un ser humano). En un aspecto, la

15 invención proporciona un ligador de HSA mutado que tiene dos sustituciones de aminoácidos definidas (es decir, las sustituciones "C34S" y "N503Q", como se exponen en SEC ID NO: 1). En otro aspecto, la invención proporciona un ligador de HSA enlazado a uno o más restos de unión (por ejemplo, anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, receptor/ligandos, o pequeñas moléculas) para aplicaciones de diagnóstico o terapéuticas en un mamífero (por ejemplo, un ser humano) *in vivo*, o para uso *in vitro* en relación con células, tejidos, u órganos de mamíferos. En un

20 aspecto adicional, el ligador de HSA se puede acoplar a uno o más agentes inmunomoduladores, agentes citotóxicos o citostáticos, marcadores detectables, o agentes radioactivos para aplicaciones de diagnóstico o terapéuticas en un mamífero (o en relación con una célula, tejido u órgano de mamífero). Un agente de la invención,

25 que incluye el ligador de HSA, se puede combinar opcionalmente con uno o más vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables y se puede formular para ser administrado intravenosamente, intramuscularmente, oralmente, mediante inhalación, parenteralmente, intraperitonealmente, intraarterialmente, transdérmicamente, sublingualmente, nasalmente, a través del uso de supositorios, transbucalmente, liposómicamente, adiposómicamente, oftálmicamente, intraocularmente, subcutáneamente, intratecalmente, tópicamente, o localmente. Un agente de la invención que incluye el ligador de HSA se puede combinar o coadministrar con uno o más agentes biológicamente activos (por ejemplo, agentes biológicos o químicos, tales como sustancias 30 quimioterapéuticas y agentes antineoplásicos). En un aspecto adicional, la invención proporciona un kit, con instrucciones, para la conjugación de restos de unión (por ejemplo, anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, receptores o ligandos), agentes inmunomoduladores, agentes citotóxicos o citostáticos, marcadores detectables, o agentes radioactivos al ligador de HSA de la invención para preparar agentes de la invención que se pueden usar para aplicaciones de diagnóstico o terapéuticas.

35 Un Ligador de Seroalbúmina Humana (HSA) Mutado

Un ligador de HSA mutado de la invención contiene dos mutaciones de aminoácidos, en las posiciones 34 y 503, con respecto a la secuencia de aminoácidos de HSA de tipo salvaje expuesta en SEC ID NO: 3. El resto de cisteína en la posición 34 (es decir, C34) se puede mutar a cualquier resto de aminoácido distinto de cisteína (por ejemplo, serina, treonina, o alanina). Igualmente, el resto de asparagina en la posición 503 (es decir, N503) se puede mutar a cualquier resto de aminoácido distinto de asparagina (por ejemplo, glutamina, serina, histidina, o alanina). En una

40 realización, el ligador de HSA de la invención tiene la secuencia de aminoácidos y la secuencia nucleotídica correspondiente expuesta en SEC ID NOS: 1 y 2, respectivamente. Este ligador de HSA mutado de la invención contiene dos sustituciones de aminoácidos (es decir, cisteína por serina en el resto de aminoácido 34 ("C34S"), y asparagina por glutamina en el resto de aminoácido 503 ("N503Q")). El ligador de HSA, cuando se enlaza a uno o más restos de unión (por ejemplo, anticuerpos, fragmentos de anticuerpo (por ejemplo, anticuerpos monocatenarios), u otros agentes de direccionamiento o agentes biológicamente activos (por ejemplo, receptores y ligandos)), confiere varias propiedades farmacológicas beneficiosas a esos conjugados y a los agentes de diagnóstico terapéuticos adicionales también unidos conjuntamente (por ejemplo, agentes inmunomoduladores, agentes citotóxicos o citostáticos, marcadores detectables, o agentes radioactivos)), con respecto a las propiedades 45 farmacológicas de estos agentes en ausencia del ligador de HSA de la invención. Estos beneficios pueden incluir menor inmunogenicidad (por ejemplo, menor neutralización por anticuerpos del hospedante de los conjugados ligador-anticuerpo), mayor detección de los conjugados del ligador de HSA (por ejemplo, mediante espectroscopía de masas), y mayor semivida farmacológica (por ejemplo, una semivida mayor que 6 horas, 8 horas, 12 horas, 24 horas, 36 horas, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, o 7 días), cuando se administran a un mamífero (por ejemplo, un ser humano). Específicamente, la sustitución de cisteína por serina en el resto de aminoácido 34 da como

50 resultado una menor oxidación y heterogeneidad proteica del ligador de HSA. En HSA de tipo salvaje, la asparagina en el resto de aminoácido 503 es sensible a la desaminación, dando probablemente como resultado una menor semivida farmacológica. La sustitución de asparagina por glutamina en el resto de aminoácido 503 puede dar como resultado una mayor semivida farmacológica del ligador de HSA de la invención, y correspondientemente, de

agentes conjugados que incluyen el ligador de HSA cuando se administran a un mamífero (por ejemplo, un ser humano) o sus células, tejidos, u órganos.

En otras realizaciones, el ligador de HSA mutado de la invención incluye el dominio I de HSA (SEC ID NO: 53; restos 1-197 de SEC ID NO: 1), dominio III de HSA (SEC ID NO: 55; restos 381-585 de SEC ID NO: 1), combinación de los dominios I y III de HSA, o una combinación del dominio I o III de HSA con el dominio II de HSA (SEC ID NO: 54; restos 189-385 de SEC ID NO: 1). Por ejemplo, un ligador de HSA de la invención puede incluir los dominios I y II, I y III, o II y III. Además, el resto de cisteína en la posición 34 (es decir, C34) del dominio I (SEC ID NO: 53) se puede mutar a cualquier resto de aminoácido distinto de cisteína (por ejemplo, serina, treonina, o alanina). Igualmente, el resto de asparagina en la posición 503 (es decir, N503) del dominio III (SEC ID NO: 55) se puede mutar a cualquier resto de aminoácido distinto de asparagina (por ejemplo, glutamina, serina, histidina, o alanina). Estos ligadores de HSA se pueden incorporar en un conjugado del ligador de HSA de la invención, que incluye uno o más de un conector polipeptídico, un resto de unión, y agentes terapéuticos o de diagnóstico, cada uno de los cuales se describe con detalle más abajo.

Conectores Polipeptídicos

Para facilitar la conjugación de restos de unión, como se definen aquí, al ligador de HSA de la invención, se pueden enlazar (por ejemplo, covalentemente (por ejemplo, un enlace peptídico), iónicamente, o se pueden enlazar hidrófobamente, o vía una interacción de unión proteína-proteína de alta afinidad (por ejemplo, biotina y avidina)) conectores peptídicos cortos (por ejemplo, 2-20 aminoácidos de longitud) a los términos amino o carboxi de un ligador de HSA. Estos conectores proporcionan ataduras flexibles a las que se pueden fijar cualesquier de los restos de unión descritos aquí. Un conector polipeptídico puede tener una longitud de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más aminoácidos. En una realización, el conector es una secuencia de, por ejemplo, restos de glicina, alanina, serina, glutamina, leucina, o valina. Aunque no se enumeran específicamente aquí, el conector de la invención puede ser restos solamente de glicina, alanina, serina, glutamina, leucina, o valina, o puede ser cualquier combinación de estos restos hasta una longitud de alrededor de 20 aminoácidos. En una realización preferida, el conector unido al término amino de un ligador de HSA tiene la secuencia de aminoácidos "AAS" o "AAQ", y el conector unido al término carboxi tiene la secuencia de aminoácidos "AAAL" (SEC ID NO: 5). El conector se puede unir covalentemente al resto amino o carboxi terminal del ligador de HSA, a un resto de aminoácido en el ligador de HSA, o puede estar incluido entre uno o más restos de unión, si están presentes.

Fabricación del Ligador de HSA

El ligador de HSA de la invención, que puede incluir opcionalmente los conectores peptídicos descritos anteriormente, uno o más de los restos de unión descritos más abajo, marcadores detectables a base de polipéptidos, y otros agentes terapéuticos a base de polipéptidos, se puede producir recombinantemente. Por ejemplo, una secuencia nucleotídica que codifica el ligador de HSA (y uno o más de los elementos opcionales) se puede expresar (por ejemplo, en un plásmido, vector viral, o transgénicamente) en una célula bacteriana (por ejemplo, *E. coli*), de insecto, de levadura, o de mamífero (por ejemplo, una célula CHO), o un tejido, órgano u organismo mamífero (por ejemplo, un roedor transgénico, un ungulado (por ejemplo, una cabra), o un primate no humano). Tras la expresión del ligador de HSA en la célula, tejido u órgano hospedante, el experto puede aislar y purificar el ligador de HSA usando métodos de purificación de proteínas estándar (por ejemplo, FPLC o cromatografía de afinidad). En la Figura 1 se ilustra un sistema de expresión recombinante para la producción de un ligador de HSA en combinación con dos restos de unión.

El ligador de HSA de la invención, que puede incluir uno o más de los elementos opcionales descritos anteriormente, se puede producir sintéticamente. Por ejemplo, el ligador de HSA se puede preparar mediante técnicas generalmente establecidas en la técnica de síntesis peptídica, tal como el enfoque de fase sólida. La síntesis en fase sólida implica la adición por etapas de restos de aminoácidos a una cadena peptídica en crecimiento que está enlazada a un soporte o matriz insoluble, tal como poliestireno. El resto del término C del péptido se ancla en primer lugar a un soporte comercialmente disponible, estando su grupo amino protegido con un agente N-protector tal como un grupo t-butiloxicarbonilo (tBoc) o un grupo fluorenilmethoxycarbonilo (FMO). El grupo protector de amino se elimina con agentes desprotectores adecuados, tales como TFA en el caso de tBOC o piperidina para FMO, y se añade el siguiente resto de aminoácido (en forma N-protectida) con un agente de acoplamiento tal como diclocarbodiimida (DCC). Con la formación del enlace peptídico, los reactivos se lavan del soporte. Tras la adición del resto final, el agente se escinde del soporte con un reactivo adecuado, tal como ácido trifluoroacético (TFA) o fluoruro de hidrógeno (HF). Si se desea, el ligador de HSA, que puede incluir uno o más de los elementos opcionales descritos anteriormente, se puede fabricar en uno, dos, tres o más segmentos, que entonces se pueden ligar para formar todo el constructo del ligador de HSA.

Restos de Unión del Ligador de HSA

El ligador de HSA de la invención también se puede preparar como un constructo que incluye uno o más restos de unión, tales como anticuerpos, fragmentos de anticuerpo (como se definen aquí, por ejemplo Fv monocatenario (scFv)) o receptor/ligandos (es decir, ligados o receptores proteicos o glicoproteicos), que permiten la unión selectiva y específica del constructo del ligador de HSA a una célula, tejido u órgano diana. Los restos de unión se pueden

enlazar al ligador de HSA (por ejemplo, vía un enlace covalente (por ejemplo, un enlace peptídico), iónico, o enlace hidrófobo, o vía una interacción de unión proteína-proteína de alta afinidad (por ejemplo, biotina y avidina)). Como se explica anteriormente, un ligador de HSA de la invención que incluye uno o más conectores polipeptídicos o restos de unión se puede producir recombinante o sintéticamente.

- 5 Se pueden enlazar uno o más restos de unión a un ligador de HSA de la invención. En una realización, se enlanzan dos o más restos de unión idénticos (es decir, restos que tienen la misma estructura y afinidades de unión) a un ligador de HSA, uno o más (por ejemplo, en tandem) cada uno en los términos amino y carboxi, dando el ligador de HSA de ese modo una avidez mejorada de los restos de unión por su antígeno diana. Como alternativa, dos o más restos de unión diferentes (por ejemplo, un anticuerpo, tal como un scFv, con afinidades de unión por dos o más moléculas diana diferentes, o scFv con afinidades de unión por dos o más epítopos diferentes en la misma molécula diana, se pueden enlazar a un ligador de HSA (por ejemplo, un conjugado de ligador de HSA biespecífico) para permitir que múltiples antígenos o epítopos diana sean unidos por el conjugado del ligador de HSA. En otra realización, también se pueden enlazar diferentes especies de restos de unión a un ligador de HSA para conferir, por ejemplo, dos o más especificidades de unión diferentes o propiedades biológicas agonistas/antagonistas al conjugado del ligador. Las combinaciones útiles de pares de restos de unión para uso en la preparación de conjugados de ligadores de HSA biespecíficos se describen en, por ejemplo, las Publicaciones de Solicitudes de Patentes Internacionales WO 2006/091209 y WO 2005/117973. En otras realizaciones, se pueden enlazar más de dos restos de unión (por ejemplo, los mismos restos de unión, o diferentes) a un ligador de HSA para formar un agente de la invención.
- 10
- 15
- 20 La invención incluye un agente que tiene al menos primer y segundo restos de unión, cada uno de los cuales se puede unir al término amino o carboxi de la proteína del ligador de HSA, o a conectores polipeptídicos, como se definen aquí, presentes en cualquiera o en ambos términos. La Figura 1 ilustra un ligador de HSA mutado ejemplar de la invención, en el que dos restos de unión ("brazo 1" y "brazo 2") están enlazados al ligador de HSA mutado mediante el conector polipeptídico amino terminal AAS y el conector polipeptídico carboxi terminal AAAL (SEC ID NO: 5). Los restos de unión (por ejemplo, un anticuerpo o scFv) también se pueden unir a otros loci (por ejemplo, restos de aminoácidos internos del ligador de HSA), por ejemplo covalente o iónicamente, por ejemplo usando interacciones biotina-avidina. La biotinilación de cadenas laterales de aminoácidos de amina (por ejemplo, restos de lisina) y de sulfhidrilo (por ejemplo, restos de cisteína) es conocida en la técnica, y se puede usar para unir restos de unión al ligador de HSA.
- 25
- 30 Los restos de unión que se pueden incluir en un conjugado de ligador de HSA de la invención incluyen anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, receptores, y ligandos. Los restos de unión unidos a un ligador de HSA de la invención pueden ser recombinantes (por ejemplo, humanos, murinos, químicos, o humanizados), sintéticos, o naturales. La invención incluye anticuerpos completos, anticuerpos de dominio, diacuerpos, anticuerpos biespecíficos, fragmentos de anticuerpo, fragmentos Fab, moléculas F(ab')₂, moléculas de Fv monocatenario (scFv), moléculas de scFv en tandem, proteínas de fusión de anticuerpos, y aptámeros.
- 35

Anticuerpos

Los anticuerpos de la invención incluyen los isótipos IgG, IgA, IgM, IgD, e IgE. Los anticuerpos o fragmentos de anticuerpo de la invención, como se usan aquí, contienen una o más regiones determinantes de la complementariedad (CDR) o péptidos de unión que se unen a proteínas, glicoproteínas, o epítopos diana presentes en el exterior o en el interior de células diana.

- 40 Muchos de los anticuerpos, o sus fragmentos, descritos aquí pueden sufrir sustituciones, adiciones o supresiones de aminoácidos no críticos tanto en las regiones variables como constantes sin perder la especificidad de unión o las funciones efectoras, o sin reducción intolerable de la afinidad de unión (por ejemplo, por debajo de alrededor de 10⁻⁷ M). Habitualmente, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que incorpora tales alteraciones muestra identidad de secuencia sustancial con un anticuerpo o fragmento de anticuerpo de referencia del que deriva. Ocasionalmente, se puede seleccionar un anticuerpo o fragmento de anticuerpo mutado que tenga la misma especificidad y mayor afinidad en comparación con un anticuerpo o fragmento de anticuerpo de referencia del que derivó. La tecnología de presentación de fagos ofrece técnicas poderosas para seleccionar tales anticuerpos. Véanse, por ejemplo, Dower et al., documento WO 91/17271, McCafferty et al., documento WO 92/01047; y Huse, documento WO 92/06204.
- 45
- 50 El ligador de HSA de la invención también se puede enlazar a uno o más fragmentos de un anticuerpo que retenga la capacidad para unirse con especificidad a un antígeno diana. Los fragmentos de anticuerpo incluyen cadenas pesadas variables, cadenas ligeras variables, Fab, Fab', F(ab')₂, Fabc, y scFv distintos. Los fragmentos se pueden producir mediante separación enzimática o química de inmunoglobulinas intactas. Por ejemplo, un fragmento F(ab')₂ se puede obtener a partir de una molécula de IgG mediante digestión proteolítica con pepsina a pH 3,0-3,5 usando métodos estándar tales como los descritos en Harlow y Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Pubs., N.Y. (1988). Los fragmentos Fab se pueden obtener a partir de fragmentos F(ab')₂ mediante reducción limitada, o a partir del anticuerpo completo mediante digestión con papaina en presencia de agentes reductores. Los fragmentos también se pueden producir mediante técnicas de ADN recombinante. Los segmentos de ácidos nucleicos que codifican fragmentos seleccionados se producen mediante digestión de secuencias codificantes de longitud completa con enzimas de restricción, o mediante síntesis *de novo*. A menudo, los fragmentos se expresan
- 55
- 60

en forma de proteínas de fusión de la cubierta del fago. Esta manera de expresión es ventajosa para afinar la afinidad de los anticuerpos.

Anticuerpos Humanizados

La invención proporciona además anticuerpos humanizados en combinación con el ligador de HSA de la invención, en el que uno o más de las CDRs de los anticuerpos derivan de una secuencia de anticuerpo no humana, y una o más, pero preferiblemente todas, las CDRs se unen específicamente a un antígeno (por ejemplo, una proteína, glicoproteína, u otro epítopo adecuado).

Un anticuerpo humanizado contiene regiones de marco constantes derivadas sustancialmente de un anticuerpo humano (denominado un anticuerpo aceptor), así como también, en algunos casos, una mayoría de la región variable derivada de un anticuerpo humano. Una o más de las CDRs (todas o una porción de las mismas, así como aminoácidos discretos que rodean una o más de las CDRs) se proporcionan a partir de un anticuerpo no humano, tal como un anticuerpo de ratón. La región o regiones constantes del anticuerpo pueden estar presentes o no.

La sustitución de una o más CDRs de ratón en un marco de dominio variable humano es muy probable que dé como resultado la retención de su orientación espacial correcta si el marco del dominio variable humano adopta la misma conformación o una conformación similar que el marco variable de ratón del que se originan las CDRs. Esto se logra obteniendo los dominios variables humanos de anticuerpos humanos cuyas secuencias de marco muestran un grado elevado de identidad de secuencia y estructural con los dominios de marco variable murino de los que derivan las CDRs. Las regiones del marco variable de cadena pesada y ligera pueden derivar de las mismas secuencias de anticuerpos humanos o de secuencias de anticuerpos humanos diferentes. Las secuencias de anticuerpos humanos pueden ser las secuencias de anticuerpos humanos de origen natural, secuencias de consenso de varios anticuerpos humanos, o pueden ser secuencias de dominios variables de línea germinal humana, Véanse, por ejemplo, Kettleborough et al., Protein Engineering 4:773 (1991); Kolbinger et al., Protein Engineering 6:971 (1993).

Las secuencias de anticuerpos humanos adecuadas se identifican mediante alineamientos de las secuencias de aminoácidos de las regiones variables de ratón con las secuencias de anticuerpos humanos conocidos. La comparación se realiza de forma separada para las cadenas pesada y ligera, pero los principios son similares para cada una.

Los métodos para preparar anticuerpos y fragmentos de anticuerpo humanizados y quiméricos se describen, por ejemplo, en las patentes U.S. n°s 4.816.567, 5.530.101, 5.622.701, 5.800.815, 5.874.540, 5.914.110, 5.928.904, 6.210.670, 6.677.436, y 7.067.313 y en las Solicitudes de Patentes U.S. n°s 2002/0031508, 2004/0265311, y 2005/0226876. La preparación de anticuerpos o sus fragmentos se describe además, por ejemplo, en las patentes U.S. n°s 6.331.415, 6.818.216, y 7.067.313.

Receptores y Ligandos

La invención proporciona receptores o ligandos proteicos o glicoproteicos unidos a un ligador de HSA de la invención. Los ligadores de HSA enlazados con un receptor o ligando se pueden usar, por ejemplo, para seleccionar específicamente como diana una proteína segregada, una célula (por ejemplo, una célula cancerosa), tejido, u órgano. Además, la unión específica del conjugado de ligador de HSA con el receptor o ligando a receptores o ligandos diana parecidos puede provocar actividad biológica agonista o antagonista en rutas de señalización intracelular o intercelular. Al igual que con los otros restos de unión descritos aquí, los receptores y ligandos, o sus fragmentos, se pueden unir conjuntamente a los términos amino y/o carboxi de un ligador de HSA de la invención, o a un resto de aminoácido en el ligador de HSA.

Los receptores y ligandos ejemplares que se pueden unir a un ligador de HSA de la invención incluyen, pero no se limitan a, factor 1 de crecimiento similar a insulina (IGF1R), IGF2R, factor de crecimiento similar a insulina (IGF), receptor del factor de transición epitelial mesenquimatoso (c-met; también conocido como receptor del factor de crecimiento de hepatocitos (HGFR)), factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), factor de crecimiento epidérmico (EGF), heregulina, receptor del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR), receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), receptor del factor de necrosis tumoral (TNFR), factor alfa de necrosis tumoral (TNF- α), TNF- β , receptor de folato (FOLR), folato, receptor de transferrina (TfR), mesotelina, receptor de Fc, receptor de c-kit, c-kit, α 4 integrina, P-selectina, receptor 1 de esfingosina-1-fosfato (S1PR), receptor de hialuronato, antígeno 1 de la función leucocitaria (LFA-1), CD4, CD11, CD18, CD20, CD25, CD27, CD52, CD70, CD80, CD85, CD95 (receptor de Fas), CD106 (molécula 1 de adhesión de células vasculares (VCAM1), CD166 (molécula de adhesión celular de leucocitos activados (ALCAM)), CD178 (ligando Fas), CD253 (ligando inductor de la apoptosis relacionado con TNF (TRAIL)), ligando ICOS, CCR2, CXCR3, CCR5, CXCL12 (factor 1 derivado de células estrómicas (SDF-1)), interleucina 1 (IL-1), CTLA-4, receptores alfa y beta, MART-1, gp100, MAGE-1, receptor de efrina (Eph), molécula 1 de adhesión celular de adresina mucosal (MAdCAM-1), antígeno carcinoembriónico (CEA), Lewis Y , MUC-1, molécula de adhesión de células epiteliales (EpCAM), antígeno 125 del cáncer (CA125), antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA), antígeno TAG-72, y sus fragmentos biológicamente activos.

Los receptores y ligandos se pueden expresar, aislar, o unir a un ligador de HSA de la invención usando cualquiera de los métodos descritos *más arriba* referidos a anticuerpos o fragmentos de anticuerpo.

Agentes de Diagnóstico

- 5 El ligador de HSA de la invención, o cualquier resto de unión conjugado a él (por ejemplo, anticuerpo, fragmento de anticuerpo, receptor, o ligando), se puede acoplar a un agente quelante o a un marcador detectable para formar un agente de diagnóstico de la invención. También se contemplan conjugados del ligador de HSA que incluyen un marcador detectable, como se describe aquí, así como uno o más de los agentes terapéuticos o restos de unión descritos aquí.
- 10 Los componentes del ligador de HSA y del quelador se pueden acoplar para formar un conjugado haciendo reaccionar el grupo amino libre de un resto de treonina del ligador de HSA con un grupo funcional apropiado del quelador, tal como un grupo carboxilo o un éster activado. Por ejemplo, un conjugado se puede formar incorporando el quelador ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), que es habitual en la técnica de química de coordinación, cuando está funcionalizado con un sustituyente carboxílico en la cadena etilénica. La síntesis de derivados de EDTA de este tipo se da en Arya et al. (*Bioconjugate Chemistry* 2:323 (1991)), que describe el bloqueo de cada uno de los 15 cuatro grupos carboxilo coordinantes con un grupo t-butilo mientras que el sustituyente carboxílico en la cadena etilénica está libre para reaccionar con el grupo amino de una porción peptídica del agente de la invención, formando de ese modo un conjugado.
- 15 Un ligador de HSA o un conjugado del ligador de HSA puede incorporar un componente quelador metálico que es peptídico, es decir, compatible con la síntesis de péptidos en fase sólida. En este caso, el quelador se puede acoplar al ligador de HSA de la invención de la misma manera como EDTA descrita anteriormente, o, más convenientemente, el quelador y el ligador de HSA o el conjugado del ligador de HSA de la invención se sintetizan *in toto* partiendo del resto C-terminal del ligador de HSA o del conjugado del ligador de HSA y terminando con el resto N-terminal del quelador.
- 20 Un ligador de HSA o un conjugado del ligador de HSA puede incorporar además un componente de grupo ligante que sirve para acoplar el ligador de HSA de la invención al quelador a la vez que no afecta de forma adversa a las propiedades biológicas del ligador de HSA, a la función seleccionadora de dianas de la porción o porciones del resto de unión del conjugado del ligador de HSA, o a la función de unión a metal del quelador. Los grupos ligantes adecuados incluyen cadenas de aminoácidos y cadenas alquílicas funcionalizadas con grupos reactivos para el 25 acoplamiento al ligador de HSA o al conjugado del ligador de HSA o al quelador. Una cadena de aminoácido es el grupo ligante preferido cuando el quelador es peptídico, de manera que el ligador de HSA o el conjugado del ligador de HSA se puede sintetizar *in toto* mediante técnicas de fase sólida. Un grupo ligante de cadena alquílica se puede incorporar en el ligador de HSA o en el conjugado del ligador de HSA haciendo reaccionar el grupo amino del resto de treonina de una porción peptídica de un ligador de HSA de la invención con un primer grupo funcional en la 30 cadena alquílica, tal como un grupo carboxilo o un éster activado. Subsiguientemente, el quelador se une a la cadena alquílica para completar la formación del ligador de HSA o del conjugado del ligador de HSA haciendo reaccionar un segundo grupo funcional en la cadena alquílica con un grupo apropiado en el quelador. El segundo grupo funcional en la cadena alquílica se selecciona de sustituyentes que son reactivos con un grupo funcional en el quelador, mientras que no es reactivo con un resto de treonina de la proteína del ligador de HSA mutada. Por 35 ejemplo, cuando el quelador incorpora un grupo funcional tal como un grupo carboxilo o un éster activado, el segundo grupo funcional del grupo ligante de cadena alquílica puede ser un grupo amino. Se apreciará que la formación del ligador de HSA o del conjugado del ligador de HSA puede requerir la protección y desprotección de los grupos funcionales presentes, a fin de evitar la formación de productos indeseados. La protección y desprotección se logran usando grupos protectores, reactivos, y protocolos habituales en la técnica de síntesis orgánica. Particularmente, se pueden usar técnicas de protección y de desprotección empleadas en síntesis peptídica en fase 40 sólida descrita anteriormente.
- 45 Un grupo ligante químico alternativo a una cadena alquílica es polietilenglicol (PEG), que se funcionaliza de la misma manera que la cadena alquílica descrita anteriormente para la incorporación en el ligador de HSA o en el conjugado del ligador de HSA. Se apreciará que los grupos ligantes se pueden acoplar como alternativa en primer lugar al quelador y después al ligador de HSA o al conjugado del ligador de HSA de la invención.
- 50 Según un aspecto de la invención, los conjugados de ligador de HSA con quelador de la invención incorporan un metal diagnósticamente útil capaz de formar un complejo. Los metales adecuados incluyen, por ejemplo, radionúclidos, tal como tecnecio y renio en sus diversas formas (por ejemplo, $^{99m}\text{TcO}^{3+}$, $^{99m}\text{TcO}_2^f$, ReO^{3+} , y ReO_2^+). La incorporación del metal en el ligador de HSA o en el conjugado del ligador de HSA se puede lograr mediante diversos métodos habituales en la técnica de química de coordinación. Cuando el metal es tecnecio-99 m, se puede 55 usar el siguiente procedimiento general para formar un complejo de tecnecio. Una disolución de conjugado de ligador de HSA con quelador se forma inicialmente disolviendo el ligador de HSA o el conjugado del ligador de HSA en alcohol acuoso, tal como etanol. La disolución se desgasifica entonces para eliminar el oxígeno, después se eliminan los grupos protectores de tiol con un reactivo adecuado, por ejemplo con hidróxido de sodio, y después se neutraliza con un ácido orgánico, tal como ácido acético (pH 6,0-6,5). En la etapa de marcate, se añade un exceso estequiométrico de pertechnetato de sodio, obtenido a partir de un generador de molibdeno, a una disolución del 60

conjugado con una cantidad de agente reductor, tal como cloruro estannoso, suficiente para reducir tecnecio, y se calienta. El ligador de HSA o el conjugado del ligador de HSA marcado se puede separar cromatográficamente de contaminantes $^{99m}\text{TcO}_4^-$ y $^{99m}\text{TcO}_2$ coloidal, por ejemplo con un cartucho C-18 Sep Pak.

En un método alternativo, el marcate de un ligador de HSA de la invención se puede lograr mediante una reacción de transquelación. La fuente de tecnecio es una disolución de tecnecio complejado con ligandos lábiles que facilitan el intercambio de ligandos con el quelador seleccionado. Los ligandos adecuados para la transquelación incluyen tartrato, citrato, y heptagluconato. En este caso, el agente reductor preferido es ditionito de sodio. Se apreciará que el ligador de HSA o el conjugado del ligador de HSA se puede marcar usando las técnicas descritas anteriormente, o como alternativa, el propio quelador se puede marcar y subsiguientemente acoplar a una proteína del ligador de HSA de la invención para formar un conjugado de ligador de HSA con quelador, un procedimiento denominado como el método de "ligando premarcado".

Otro enfoque para marcar un ligador de HSA de la invención, o cualquier agente conjugado a él, implica inmovilizar el conjugado de ligador de HSA con quelador sobre un soporte de fase sólida a través de un enlace que se escinde con la quelación con el metal. Esto se logra cuando el quelador se acopla a un grupo funcional del soporte mediante uno de los átomos complejantes. Preferiblemente, un átomo de azufre complejante se acopla al soporte, que está funcionalizado con un grupo protector de azufre tal como maleimida.

Cuando se marca con un metal diagnósticamente útil, un agente de la invención que incluye un conjugado de ligador de HSA con el quelador se puede usar para detectar tejido en riesgo de desarrollar cáncer (por ejemplo, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de próstata), enfermedades relacionadas con la edad (por ejemplo, enfermedad cardiovascular, enfermedad cerebrovascular, o enfermedad de Alzheimer), enfermedades relacionadas con el tabaco (por ejemplo, enfisema, aneurismas aórticos, cáncer esofágico, o cáncer de células escamosas de la cabeza y cuello) mediante procedimientos establecidos en la técnica de formación de imágenes de diagnóstico. Un agente de la invención que incorpora un ligador de HSA marcado con un metal radionúclido, tal como tecnecio-99 m, se puede administrar a un mamífero (por ejemplo, un ser humano) mediante inyección intravenosa en una disolución farmacéuticamente aceptable, tal como disolución salina isotónica, o mediante otros métodos descritos aquí. La cantidad de un agente marcado de la invención apropiada para administración depende del perfil de distribución del ligador de HSA o del conjugado del ligador de HSA escogido, en el sentido de que un agente de la invención que incorpora un ligador de HSA o un conjugado del ligador de HSA que se aclara rápidamente se puede administrar a mayores dosis que un agente que incorpora un ligador de HSA o un conjugado del ligador de HSA que se aclara de forma menos rápida. Las dosis unitarias aceptables para la formación de imágenes de tejidos están en el intervalo de alrededor de 5-40 mCi para un individuo de 70 kg. La distribución *in vivo* y localización de un agente de la invención que incorpora un ligador de HSA o un conjugado del ligador de HSA marcado se puede rastrear mediante técnicas estándar descritas aquí en un tiempo apropiado subsiguiente a la administración, típicamente entre 30 minutos y 180 minutos, y hasta alrededor de 5 días, dependiendo de la velocidad de acumulación en el sitio diana con respecto a la velocidad de aclaramiento en el tejido no diana.

Un ligador de HSA de la invención, o cualquier molécula o resto conjugado a él, también se puede modificar o marcar para facilitar usos de diagnóstico o terapéuticos. Los marcadores detectables tales como moléculas radioactivas, fluorescentes, metales pesados, u otras moléculas, se pueden unir a cualquiera de los agentes de la invención. Puede ser ventajoso el marcate individual, dual, o múltiple de un agente. Por ejemplo, el marcate dual con yodación radioactiva de uno o más restos, combinado con el acoplamiento adicional de, por ejemplo, ^{90}Y vía un grupo quelante a grupos laterales o reactivos que contienen amina, permitiría el marcate de combinación. Esto puede ser útil para necesidades de diagnóstico especializadas tales como la identificación de masas celulares neoplásicas pequeñas ampliamente dispersas.

Un ligador de HSA de la invención, o cualquier molécula o resto conjugado a él, también se puede modificar, por ejemplo, mediante halogenación de los restos de tirosina del componente peptídico. Los halógenos incluyen flúor, cloro, bromo, yodo, y astato. Tales agentes halogenados se pueden marcar de forma detectable, por ejemplo si el halógeno es un radioisótopo, tal como, por ejemplo, ^{18}F , ^{75}Br , ^{77}Br , ^{122}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{129}I , ^{131}I , o ^{211}At . Los agentes halogenados de la invención contienen un halógeno unido covalentemente a al menos un aminoácido, y preferiblemente a restos D-Tyr en cada molécula de agente. Otras modificaciones detectables adecuadas incluyen la unión de otros compuestos (por ejemplo, un fluorocromo tal como fluoresceína) a un resto de lisina del agente de la invención, o análogo, particularmente un agente o análogo que tenga un ligador que incluya lisinas.

Los radioisótopos para radiomarcar un ligador de HSA de la invención, o cualquier molécula o resto conjugado a él, incluyen cualquier radioisótopo que se pueda unir covalentemente a un resto del componente peptídico del agente de la invención o su análogo. Los radioisótopos también se pueden seleccionar a partir de radioisótopos que emiten radiación beta o gamma, o como alternativa, cualquiera de los agentes de la invención se puede modificar para que contenga grupos quelantes que, por ejemplo, se pueden enlazar covalentemente a un resto o restos de lisina del ligador de HSA o cualquier agente peptídico conjugado a él. Los grupos quelantes se pueden modificar entonces para que contengan cualquiera de una variedad de radioisótopos, tales como galio, indio, tecnecio, iterbio, renio, o talio (por ejemplo, ^{125}I , ^{67}Ga , ^{111}In , ^{99m}Tc , ^{169}Yb , ^{186}Re).

- Un ligador de HSA de la invención, o cualquier molécula o resto conjugado a él, se puede modificar mediante unión de un radioisótopo. Los radioisótopos preferibles son aquellos que tienen un período de semidesintegración que corresponde a, o es mayor que, la semivida biológica del conjugado de HSA usado. Más preferiblemente, el radioisótopo es un radioisótopo de un átomo de halógeno (por ejemplo, un radioisótopo de flúor, cloro, bromo, yodo, y astato), incluso más preferiblemente ^{75}Br , ^{77}Br , ^{76}Br , ^{122}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{129}I , ^{131}I , o ^{211}At .
- Un agente de la invención que incorpora un ligador de HSA, o cualquier molécula o resto conjugado a él, se puede acoplar a metales radioactivos y se puede usar en formación de imágenes radiográficas o en radioterapia. Los radioisótopos preferidos también incluyen $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{51}Cr , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{111}In , ^{168}Yb , ^{140}La , ^{90}Y , ^{88}Y , ^{153}Sm , ^{156}Ho , ^{165}Dy , ^{64}Cu , ^{97}Ru , ^{103}Ru , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{203}Pb , ^{211}Bi , ^{212}Bi , ^{213}Bi , y ^{214}Bi . La elección del metal está determinada en base a la aplicación terapéutica o de diagnóstico deseada.
- Un ligador de HSA de la invención, o cualquier molécula o resto conjugado a él, se puede acoplar a un componente metálico, para producir un agente de la invención que se puede usar como un agente de diagnóstico o terapéutico. Un marcador detectable puede ser un ion metálico de elementos pesados o iones de tierras raras, tales como Gd^{3+} , Fe^{3+} , Mn^{3+} , o Cr^{2+} . Un agente de la invención que incorpora un ligador de HSA que tiene metales paramagnéticos o superparamagnéticos counidos a él es útil como agentes de diagnóstico en aplicaciones de formaciones de imágenes de MRI. Los metales paramagnéticos que se pueden acoplar a los agentes de la invención incluyen, pero no se limitan a, cromo (III), manganeso (II), hierro (II), hierro (III), cobalto (II), níquel (II), cobre (II), praseodimio (III), neodimio (III), samario (III), gadolinio (III), terbio (III), disprosio (III), holmio (III), erbio (III), e iterbio (III).
- Los agentes quelantes se pueden usar para acoplar indirectamente marcadores detectables u otras moléculas a un ligador de HSA de la invención o a un agente conjugado a él. Los grupos quelantes pueden ligar agentes de la invención con radiomarcadores, tales como un quelador estable bifuncional, o se pueden ligar a uno o más grupos reactivos de aminoácidos terminales o internos. Un ligador de HSA de la invención, o cualquier molécula o resto conjugado a él, se puede enlazar vía un isotiocianato β -Ala o un ligador apropiado que no sea un α -aminoácido, que evita la degradación de Edman. Los ejemplos de queladores conocidos en la técnica incluyen, por ejemplo, los grupos reactivos ininocarboxílicos y poliaminopolícarboxílicos, grupos reactivos ininocarboxílicos y poliaminopolícarboxílicos, ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA), y ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7,10-tetraacético (DOTA).
- Un ligador de HSA de la invención, cuando se expresa recombinantemente, se puede unir a un marcador detectable peptídico o a un agente de diagnóstico. Los péptidos y proteínas que se pueden usar como un marcador detectable con un ligador de HSA incluyen, pero no se limitan a, proteínas fluorescentes, proteínas bioluminiscentes, y etiquetas epítópicas, cada una de las cuales se explica con detalle más abajo. Uno o más de estos marcadores detectables se pueden incorporar en un ligador de HSA de la invención que también incluye un agente terapéutico, citotóxico, o citostático.
- Las proteínas fluorescentes o fluorocromos, tal como proteína fluorescente verde (GFP; SEC ID NO: 47), GFP potenciada (eGFP), proteína fluorescente amarilla (SEC ID NO: 48; YFP), proteína fluorescente ciano (SEC ID NO: 49; CFP), y proteína fluorescente roja (SEC ID NO: 50; RFP o DsRed), se pueden usar como marcador detectable unido a un ligador de HSA de la invención. Las proteínas fluorescentes se pueden expresar recombinantemente en una célula (por ejemplo, una célula de la sangre, tal como un linfocito) tras la transfección o transducción de la célula con un vector de expresión que codifica la secuencia nucleotídica de la proteína fluorescente. Al exponer la proteína fluorescente a una frecuencia de luz estimulante, la proteína fluorescente emitirá luz a una intensidad baja, media, o alta, que se puede observar a simple vista en un microscopio o mediante un dispositivo de formación de imágenes ópticas. Las proteínas fluorescentes ejemplares adecuadas para uso como la secuencia de diagnóstico en agentes de la invención se describen en, por ejemplo, las patentes U.S. n^{os} 7.417.131 y 7.413.874.
- Las proteínas bioluminiscentes también se pueden usar como un marcador detectable incorporado en un ligador de HSA de la invención. Las proteínas bioluminiscentes, tales como luciferasa (por ejemplo, luciferasa de luciérnaga (SEC ID NO: 51), de *Renilla* (SEC ID NO: 52), y de *Omphalotus* luciferasa) y la aequorina, emiten luz como parte de una reacción química con un sustrato (por ejemplo, lucifera y coelenterazina). En una realización de la invención, un vector que codifica un gen de luciferasa proporciona la detección *in vivo*, *in vitro*, o *ex vivo* de células (por ejemplo, células de la sangre, tales como linfocitos) que se han transducido o transfecido según los métodos de la invención. Las proteínas bioluminiscentes ejemplares adecuadas para uso como secuencia de diagnóstico de la invención, y los métodos de su uso, se describen en, por ejemplo, las patentes U.S. n^{os} 5.292.658, 5.670.356, 6.171.809, y 7.183.092.
- Las etiquetas epítópicas son secuencias cortas de aminoácidos, por ejemplo 5-20 restos de aminoácidos de longitud, que se pueden incorporar en un ligador de HSA de la invención como un marcador detectable para facilitar la detección una vez que se expresa en una célula, se segregue de la célula, o se une a una célula diana. Un agente de la invención que incorpora una etiqueta epítópica como una secuencia de diagnóstico se puede detectar en virtud de su interacción con un anticuerpo, fragmento de anticuerpo, u otra molécula de unión específica para la etiqueta epítópica. Las secuencias nucleotídicas que codifican la etiqueta epítópica se producen clonando porciones apropiadas de genes naturales, o sintetizando un polinucleótido que codifica la etiqueta epítópica. Un anticuerpo, fragmento de anticuerpo, u otra molécula de unión que se une a una etiqueta epítópica puede incorporar

directamente un marcador detectable (por ejemplo, un fluorocromo, radiomarcador, metal pesado, o enzima tal como peroxidasa de rábano picante), o puede servir él mismo como una diana para un anticuerpo, fragmento de anticuerpo u otra molécula de unión secundarios que incorporen tal marcador. Las etiquetas epítópicas ejemplares que se pueden usar como secuencia de diagnóstico incluyen c-myc (SEC ID NO:3 3), hemaglutinina (HA; SEC ID

5 NO: 34), y la etiqueta de histidina (His₆; SEC ID NO: 35). Además, las proteínas fluorescentes (por ejemplo, GFP) y bioluminiscentes también pueden servir como etiquetas epítópicas, ya que los anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, y otras moléculas de unión están comercialmente disponibles para la detección de estas proteínas.

La detección, formación de imágenes, o rastreo *in vivo*, *in vitro*, o *ex vivo* de un ligador de HSA de la invención que incorpora una secuencia de diagnóstico (por ejemplo, una proteína fluorescente, proteína bioluminiscente, o etiqueta epítópica), o cualquier célula que lo expresa o esté unida a él, se puede lograr usando un microscopio, un citómetro de flujo, un luminómetro, u otro dispositivo de formación de imágenes ópticas del estado de la técnica, tal como un sistema de formación de imágenes IVIS® (Caliper LifeSciences, Hopkinton, MA).

Agentes Terapéuticos o Citolíticos Acoplados al Ligador de HSA de la Invención

Una proteína del ligador de HSA de la invención, o cualquier molécula o resto conjugado a ella, se puede acoplar a cualquier resto citotóxico o terapéutico conocido para formar un agente de la invención que se puede administrar para tratar, inhibir, reducir, o mejorar la enfermedad (por ejemplo, un cáncer, enfermedad autoinmunitaria, o enfermedad cardiovascular) o uno o más síntomas de la enfermedad. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, agentes antineoplásicos tales como: Acivicina; Aclarubicina; Hidrocloruro de Acodazol; Acronina; Adozelesina; Adriamicina; Aldesleucina; Altretamina; Ambomicina; Acetato de metantrona; Aminoglutetimida; Amsacrina; Anastrozol; Antramicina; Asparaginasa; Asperlina; Azacitidina; Azetepa; Azotomicina; Batimastat; Benzodepa; Bicalutamida; Hidrocloruro de Bisantreno; Dimesilato de Bisnafida; Bizelesina; Sulfato de Bleomicina; Brequinar Sodio; Bropirimina; Busulfano; Cactinomicina; Calusterona; Campototecina; Caracemida; Carbemimer; Carboplatino; Carmustina; Hidrocloruro de Carrubicina; Carzelesina; Cedefingol; Clorambucilo; Cirolemicina; Cisplatino; Cladribina; Combretestatina A-4; Mesilato de Crisnatol; Ciclofosfamida; Citarabina; Dacarbazine; DACA (N-[2-(Dimetilamino)etil]acridin-4-carboxamida); Dactinomicina; Hidrocloruro de Daunorrubricina; Daunomicina; Decitabina; Dexormaplacino; Dezaguanina; Mesilato Mesilato de Dezaguanina; Diaziquona; Docetaxel; Dolasatinas; Doxorubicina; Hidrocloruro de Doxorubicina; Droxofifeno; Citrato de Droxofifeno; Propionato de Dromostanolona; Duazomicina; Edatrexato; Hidrocloruro de Eflornitina; Elipticina; Elsamitruicina; Enloplatinato; Enpromato; Epipropidina; Hidrocloruro de Epirubicina; Erbulozol; Hidrocloruro de Esorubicina; Estramustina; Fosfato de Estramustina Sódico; Etanidazol; Aceite Etiódizado I 131; Etopósido; Fosfato de Etopósido; Etoprina; Hidrocloruro de Fadrozol; Fazarabina; Fenretinida; Flouxuridina; Fosfato de Fludarabina; Fluorouracilo; 5-FdUMP; Flurocitabina; Fosquidona; Fostriecina Sodio; Gemcitabina; Hidrocloruro de Gemcitabina; Oro Au 198; Homocamptotecina; Hidroxiurea; Hidrocloruro de Idarrubicina; Ifosfamida; Ilmofosina; Interferón Alfa-2a; Interferón Alfa-2b; Interferón Alfa-n1; Interferón Alfa-n3; Interferón Beta-1 a; Interferón Gamma-1 b; Iproplatino; Hidrocloruro de Irinotecán; Acetato de Lanreotida; Letrozol; Acetato de Leuprolida; Hidrocloruro de Liarozol; Lometrexol Sodio; Lomustina; Hidrocloruro de Losoxantrona; Masoprocol; Maitansina; Hidrocloruro de Mecloretamina; Acetato de Megestrol; Acetato de Melengestrol; Melfalano; Menogarilo; Mercaptopurina; Metotrexato; Metotrexato Sodio; Metoprina; Meturedepa; Mitindomida; Mitocarcina; Mitocromina; Mitogilina; Mitomalcina; Mitomicina; Mitosper; Mitotano; Hidrocloruro de Mitoxantrona; Ácido Micofenólico; Nocodazol; Nogalamicina; Ormaplatino; Oxisurán; Paclitaxel; Pegaspargasa; 40 Peliomicina; Pentamustina; Sulfato de Peploicina; Perfosfamida; Pipobromano; Pinosulfán; Hidrocloruro de Piroxantrona; Plicamicina; Plomestano; Porfimer Sodio; Porfiromicina; Prednimustina; Hidrocloruro de Procarbazina; Puromicina; Hidrocloruro de Puromicina; Pirazofurina; Rizoxina; Rizoxina D; Riboprana; Rogletimida; Safingol; Hidrocloruro de Safingol; Semustina; Simtrazeno; Esparfosato Sodio; Esparsomicina; Hidrocloruro de Espirogermanio; Espiromustina; Espiroplatino; Estreptonigrina; Estreptozocina; Cloruro de Estroncio Sr 89; 45 Sulofenur; Talisomicina; Taxano; Taxoide; Tecogalán Sodio; Tegafur; Hidrocloruro de Teloxantrona; Temoporfin; Tenipósido; Teroxirona; Testolactona; Tiamiprina; Tioguanina; Tiotepa; Timitaq; Tiazofurina; Tirapazamina; Tomudex; TOP53; Hidrocloruro de Topotecán; Citrato de Toremifeno; Acetato de Trestolona; Fosfato de Triciribina; Trimetrexato; Glucuronato de Trimetrexato; Triptorrelina; Hidrocloruro de Tubulozol; Mostaza de Uracilo; Uredopa; Vapreotida; Verteporfina; Vinblastina; Sulfato de Vinblastina; Vincristina; Sulfato de Vincristina; Vindesina; Sulfato de 50 Vindesina; Sulfato de Vinepidina; Sulfato de Vinglicinato; Sulfato de Vinleurosina; Tartrato de Vinorrelbina; Sulfato de Vinrosidina; Sulfato de Vinzolidina; Vorozol; Zeniplatino; Zinostatina; Hidrocloruro de Zorrubicina; 2-Clorodesoxiadenosina; 2' Desoxiformicina; 9-aminocamtotecina; raltitrexed; ácido N-propargil-5,8-didesazafólico; 2cloro-2'-arabino-fluoro-2'-desoxiadenosina; 2-cloro-2'-desoxiadenosina; anisomicina; tricostatina A; hPRL-G129R; CEP-751; Ionomida; mostaza de azufre; mostaza de nitrógeno (mecloretamina); ciclofosfamida; melfalán; 55 clorambucilo; ifosfamida; busulfán; N-metil-Nnitrosourea (MNU); N,N'-Bis(2-cloroethyl)-N-nitrosourea (BCNU); N-(2-cloroethyl)-N'-ciclohexil-N-nitrosourea (CCNU); N-(2-chloroethyl)-N'-(trans-4-metilciclohexil-N-nitrosourea (MeCCNU); N-(2-cloroethyl)-N'-(dietyl)etilfosfonato-N-nitrosourea (fotemustina); estreptozotocina; diacarbazine (DTIC); mitozolomida; temozolomida; tiotepa; mitomicina C; AZQ; adozelesina; Cisplatino; Carboplatino; Ormaplatino; Oxaliplatin; C1-973; DWA 2114R; JM216; JM335; Bis(platino); tomudex; azacitidina; citarabina; gemcitabina; 60 Mercaptopurina; 6-Tioguanina; Hipoxantina; tenipósido 9-amino camptotecina; Topotecán; CPT-11; Doxorubicina; Daunomicina; Epirubicina; darrubicina; mitoxantrona; losoxantrona; Dactinomicina (Actinomicina D); amsacrina; pirazoloacridina; todo-trans retinol; 14-hidroxi-retro-retinol; ácido todo-trans retinoico; N-(4-Hidroxifenil)retinamida;

ácido 13-cis retinoico; 3-Metil TTNEB; ácido 9-cis retinoico; fludarabina (2-F-ara-AMP); o 2-clorodesoxiadenosina (2-Cda).

Otros compuestos terapéuticos incluyen, pero no se limitan a, 20-pi-1,25 dihidroxivitamina D3; 5-etiniluracilo; 5
abiraterona; aclarrubicina; acifulveno; adecipenol; adozelesina; aldesleucina; antagonistas ALL-TK; altretamina;
ambamustina; amidox; amifostina; ácido aminolevulínico; amrubicina; amsacrina; anagrelida; anastrozol;
andrografolida; inhibidores de la angiogénesis; antagonista D; antagonista G; antarelix; proteína 1 morfogenética
antidorsalizante; antiandrógeno; carcinoma prostático; antiestrógeno; antineoplastón; oligonucleótidos antisentido;
glicinato de afidicolina; moduladores de genes de la apoptosis; reguladores de la apoptosis; ácido apurínico; ara-
10 CDP-DL-PTBA; arginina desaminasa; asulacrina; atamestano; atrimustina; axinastatina 1; axinastatina 2;
axinastatina 3; azasetrón; azatoxina; azatirosina; derivados de bacatina III; balanol; batimastat; agonistas de
BCR/ABL; benzoclorinas; benzoilestaurosponina; derivados de beta lactama; beta-aletinina; betaclamicina B; ácido
15 betulínico; inhibidor de bFGF; bicalutamida; bisantreno; bisaziridinilespermina; bisnafida; bistrateno A; bizelesina;
breflato; bleomicina A2; bleomicina B2; bropirimina; budotitano; butionina sulfoximina; calcipotriol; calfostina C;
derivados de camptotecina (por ejemplo, 10-hidroxi-camptotecina); IL-2 de la viruela del canario; capecitabina;
carboxamida-amino-triazol; carboxiamidotriazol; CaRest M3; CARN 700; inhibidor derivado de cartílago; carzelesina;
inhibidores de caseína cinasa (ICOS); castanoespermina; cecropina B; cetrorelix; clorinas; cloroquinoxalina
20 sulfonamida; cicaprost; cis-porfirina; cladribina; análogos de clomifeno; clotrimazol; colismicina A; colismicina B;
combretastatina A4; análogo de combretastatina; conagenina; crambescidina 816; crisnatol; criptoficina 8; derivados
de criptoficina A; curacina A; ciclopentantraquinonas; cicloplatam; cipemicina; ocfosfato de citarabina; factor citolítico;
25 citostatina; daclizimab; decitabina; deshidrodidemnina B; 2'-desoxicoformicina (DCF); deslorelin; dexifosfamida;
dexrazoxano; dexverapamilo; diazicuona; didemina B; didox; dietylnorespermina; dihidro-5-azacitidina; dihidrotaxol,
9-; dioxamicina; difenil espiromustina; discodermolida; docosanol; dolasetrón; doxifluridina; droloxfeno; dronabinol;
duocarmicina SA; ebseleño; ecomustina; edelfosina; edrecolomab; eflornitina; elemeno; emitefur; epirubicina;
25 epotilonas (A, R = H; B, R = Me); epitilonas; epristerida; análogo de estramustina; agonistas de estrógeno;
antagonistas de estrógeno; etanidazol; etopósido; 4'-fosfato de etopósido (etopofós); exemestano; fadrozol;
fazarabina; fenretinida; filgrastim; finasterida; flavopiridol; flezelastina; fluasterona; fludarabina; hidrocloruro de
30 fluorodaunorúnicina; forfenimex; formestano; fostriecina; fotemustina; texafirina de gadolinio; nitrato de galio;
galocitabina; ganirelix; inhibidores de gelatinasa; gemcitabina; inhibidores de glutationa; hepsulfam; heregulina;
hexametileno bisacetamida; homoharringtonina (HHT); hipericina; ácido ibandrónico; idarrubicina; idoxifeno;
35 idramantona; ilmofosina; ilomastat; imidazoacridonas; imiquimod; péptidos inmunoenestimulantes; inhibidor del
receptor del factor 1 de crecimiento similar a insulina; agonistas de interferones; interferones; interleucinas;
iobenguano; yododoxorrúbicina; 4-ipomeanol; irinotecán; iroplact; irsogladiна; isobengazol; isohomohalicondrina B;
itasetrón; jasplakinolida; kahalalida F; triacetato lamelarina-N; lanreotida; leinamicina; lenograstim; sulfato de
35 lentinano; leptolestatina; letrozol; factor inhibidor de leucemia; alfa interferón de leucocitos;
leuprolida+estrógeno+progesterona; leuprorelin; levamisol; liarozol; análogo de poliamina lineal; péptido disacárido
lipófilo; compuestos de platino lipófilos; lisoclinamida 7; lobaplatino; lombricina; lometrexol; lonidamina; losoxantrona;
lovastatina; loxoribina; lurtopecán; texafirina lutecio; lisofilina; péptidos Iíticos; maitansina; manostatina A; marimastat;
masoprol; maspina; inhibidores de matrilisina; inhibidores de metaloproteínasas de la matriz; menogaril;
40 merbarona; meterelina; metioninasa; metoclopramida; inhibidor de MIF; mifepristona; miltefosina; mirimostim; ARN
bicatenario desemparejado; mitracina; mitoguazona; mitolactol; análogos de mitomicina; mitonafida; saporina-factor
de crecimiento del fibroblasto mitotoxina; mitoxantrona; mofaroteno; molgramostim; anticuerpo monoclonal;
gonadotrofina coriónica humana; monofosforil lípido A+pared celular de miobacterias sk; molidamol; inhibidor del
gen de multirresistencia; terapia a base supresor múltiple 1 de tumores; agente anticáncer de mostaza; micaperóxido
45 B; extracto de la pared celular micobacteriana; miriaporona; N-acetildinalina; benzamidas N-sustituidas; nafarelina;
nagrestip; naloxona+pentazocina; napavina; nafterpina; nartograstim; nedaplatino; nemorubicina; ácido neridrónico;
endopeptidasa neutra; nilutamida; nisamicina; moduladores de óxido nítrico; antioxidante de nitróxido; nitrulina; O6-
bencliguanina; octreotida; okicenona; oligonucleótidos; onapristona; ondansetrón; oracina; inductor de citosina oral;
50 ormaplatino; osaterona; oxaliplatino; oxaunomicina; análogos de paclitaxel, derivados de paclitaxel; palauamina;
palmitoilrizoxina; ácido pamidrónico; panaxitriol; panorumifeno; parabactina; pazeliptina; pegaspargasa; peldesina;
polisulfato sódico de pentosano; pentostatina; pentrozol; perflubrón; perfosfamida; alcohol de perlito; fenazinomicina;
acetato de fenilo; inhibidores de fosfatasa; picibanilo; hidrocloruro de pilocarpina; pirarúbicina; piritrexim; placetina
55 A; placetina B; inhibidor del activador de plasminógeno; complejo de platino; compuestos de platino; complejo de
platino-triamina; podofilotoxina; porfimer sódico; porfiromicina; propil bis-acridona; prostaglandina J2; inhibidores de
proteosoma; modulador inmune a base de proteína A; inhibidor de proteína cinasa C; inhibidores de proteína cinasa
C, de microalgas; inhibidores de proteína tirosina fosfatasa; inhibidores de purina nucleósido fosforilasa; purpurinas;
pirazoloacridina; conjugado de polioxietileno y hemoglobina piridoxilada; antagonistas de la raf; raltitrexed;
ramosetrón; inhibidores de la ras farmesil proteína transferasa; inhibidores de ras; inhibidor de ras-GAP; reteliptina
desmetilada; etidronato de renio Re 186; rizoxina; ribozimas; retinamida RII; rogletimida; rohituquina; romurtida;
60 roquinimex; rubiginona B1; ruboxilo; safingol; saintopina; SarCNU; sarcofitol A; sargamostim; miméticos de Sdi 1;
semustina; inhibidor 1 derivado de la senescencia; oligonucleótidos sentido; inhibidores de la transducción de
señales; moduladores de la transducción de señales; proteína de unión a antígeno monocatenaria; sizofirán;
sobuzoxano; borocaptato sódico; fenilacetato sódico; solverol; proteína de unión a somatomedina; sonermina; ácido
65 esparfósico; espicamicina D; espiromustina; esplenopentina; espongistatina 1; escualamina; inhibidor de células
madre; inhibidores de la división de células madre; estipiamida; inhibidores de estromelisina; sulfinosina;
antagonistas de péptidos intestinales vasoactivos superactivos; suradista; suramina; swainsonina;

glicosaminoglicanos sintéticos; talimustina; tamoxifeno metiodida; tauromustina; tazaroteno; tecogalán sódico; tegafur; telurapirilido; inhibidores de telomerasas; temoporfin; temozolomida; tenipósido; tetraclorodecaóxido; tetrazomina; taliblastina; talidomida; tiocoralina; trombopoyetina; mimético de la trombopoyetina; timalfasina; agonista del receptor de la timopoyetina; timotrinano; hormona estimulante del tiroides; etiopurpurina de etilo de estafño; tirapazamina; bicloruro titanoceno; topsentina; toremifeno; factor de células madre totipotentes; inhibidores de la traducción; tretinoína; triacetiluridina; triciribina; trimetrexato; triptorelina; tropisetrón; turosterida; inhibidores de tirosina cinasa; tifostinas; inhibidores de la UBC; ubenimex; factor inhibidor del crecimiento derivado del seno urogenital; antagonistas del receptor de urocinasa; vapreotida; variolina B; sistema de vectores, terapia génica eritrocítica; velaresol; veramina; verdinas; verteporfina; vinorelbina; vinxaltina; vitaxina; vorozol; zanoterona; zeniplatino; zilascorb y zinostatina estimalámero.

Los agentes del ligador de HSA de la invención también pueden incluir moléculas y restos conjugados específicamente a sitios. La conjugación específica del sitio permite la fijación estequiométrica controlada a restos específicos en el ligador de HSA de agentes citotóxicos, inmunomoduladores, o citostáticos, incluyendo, por ejemplo, agentes anti-tubulina, agentes de unión de la ranura menor del ADN, inhibidores de la replicación del ADN, agentes alquilantes, antraciclinas, antibióticos, antifolatos, antimetabolitos, sensibilizadores quimioterapéuticos o de la radiación, duocarmicinas, etopósidos, pirimidinas fluoradas, ionóforos, lexitropsinas, nitrosoureas, platinoles, antimetabolitos purínicos, puromicinas, esteroideos, taxanos, inhibidores de topoisomerasas, y alcaloides de la vinca, o cualesquiera otras moléculas o restos descritos aquí.

Las técnicas para conjugar agentes terapéuticos a proteínas, y en particular a anticuerpos, son bien conocidas (por ejemplo, Arnon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", en *Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy* (Reisfeld et al., eds., Alan R. Liss, Inc., 1985); Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery", en *Controlled Drug Delivery* (Robinson et al., eds., Marcel Dekker, Inc., 2^a ed. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", en *Monoclonal Antibodies'84: Biological And Clinical Applications* (Pinchera et al., eds., 1985); "Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", en *Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy* (Baldwin et al., eds., Academic Press, 1985); Thorpe et al., *Immunol. Rev.* 62:119-58 (1982); y Doronina et al., "Development of potent monoclonal antibody auristatin conjugates for cancer therapy", *Nature Biotech.* 21:(7)778-784 (2003)). Véase también, por ejemplo, la publicación PCT WO 89/12624.

Un ligador de HSA de la invención, o cualquier molécula o resto conjugado a él, también se puede acoplar a un péptido lítico para formar un agente de la invención. Tales péptidos líticos inducen muerte celular, e incluyen, pero no se limitan a, estreptolisina O; toxina de *Stoichactis*; falolisina; toxina alfa de *Staphylococcus*; holoturina A; digitonina; melitina; lisolecitina; cardiotoxina; y toxina A de *Cerebratulus* (Kem et al., *J. Biol. Chem.* 253(16):5752-5757, 1978). Un agente de la invención también se puede formar conjugando un ligador de HSA de la invención, o cualquier molécula o resto conjugado a él (por ejemplo, conjugados de anticuerpos o fragmentos de anticuerpo), a un péptido sintético que comparte cierta homología de secuencia o características químicas con cualquiera de las lisinas peptídicas de origen natural; tales características incluyen, pero no se limitan a, linealidad, carga positiva, capacidad anfipática, y formación de estructuras alfa-helicoidales en un entorno hidrófobo (Leuschner et al., *Biology of Reproduction* 73:860-865, 2005). Un ligador de HSA de la invención, o cualquier molécula o resto conjugado a él, también se puede acoplar a un agente que induce lisis celular mediada por el complemento, tal como, por ejemplo, la subunidad Fc de inmunoglobulina. Un ligador de HSA de la invención, o cualquier molécula o resto conjugado a él, también se puede acoplar a cualquier miembro de la familia de enzimas de fosfolipasas (incluyendo fosfolipasa A, fosfolipasa B, fosfolipasa C, o fosfolipasa D), o a una subunidad catalíticamente activa de las mismas.

Un ligador de HSA de la invención, o cualquier molécula o resto conjugado a él, también se puede acoplar a un agente radioactivo para formar un agente que se puede usar para aplicaciones de detección o terapéuticas. Los agentes radioactivos que se pueden usar incluyen, pero no se limitan a, Fibrinógeno ¹²⁵I; Fludesoxiglucosa ¹⁸F; Fluorodopa ¹⁸F; Insulina ¹²⁵I; Insulina ¹³¹I; Yobenguano ¹²³I; Yodopamida Sodio ¹³¹I; Yodoantipirina ¹³¹I; Yodocolecterol ¹³¹I; Yodohipurato Sodio ¹²³I; Yodohipurato Sodio ¹²⁵I; Yodohipurato Sodio ¹³¹I; Yodopiracet ¹²⁵I; Yodopiracet ¹³¹I; Hidrocloruro de lofetamina ¹²³I; Iometina ¹²⁵I; Iometina ¹³¹I; Iotalamato Sodio ¹²⁵I; Iotalamato Sodio ¹³¹I; Tirosina ¹³¹I; Liotironina ¹²⁵I; Liotironina ¹³¹I; Acetato de Merisoprol ¹⁹⁷Hg; Acetato de Merisoprol ²⁰³Hg; Merisoprol ¹⁹⁷Hg; Selenometionina ⁷⁵Se; Cola de Trisulfuro de Tecnicio ^{99m}Tc y Antimonio; Bicisato de Tecnicio ^{99m}Tc; Tecnicio ^{99m}Tc Disofenina; Etidronato de Tecnicio ^{99m}Tc; Exametazima de Tecnicio ^{99m}Tc; Furifosmina de Tecnicio ^{99m}Tc; Gluceptato de Tecnicio ^{99m}Tc; Lidofenina de Tecnicio ^{99m}Tc; Mebrofenina de Tecnicio ^{99m}Tc; Medronato de Tecnicio ^{99m}Tc; Medronato de Tecnicio ^{99m}Tc Disodio; Mertiata de Tecnicio ^{99m}Tc; Oxidronato de Tecnicio ^{99m}Tc; Pentetato de Tecnicio ^{99m}Tc; Pentetato de Tecnicio ^{99m}Tc Cálcico Trisódico; Tecnicio ^{99m}Tc Sestamibi; Siboroxima Tecnicio ^{99m}Tc; Tecnicio ^{99m}Tc; Succímero; Cola de Tecnicio ^{99m}Tc y Azufre; Teboroxima Tecnicio ^{99m}Tc; Tetrofosmina Tecnicio ^{99m}Tc; Tiatida Tecnicio ^{99m}Tc; Tiroxina ¹²⁵I; Tiroxina ¹³¹I; Tolpovidona ¹³¹I; Trioleína ¹²⁵I; o Trioleína ¹³¹I.

Adicionalmente, un radioisótopo se podría unir específicamente al sitio a un ligador de HSA o conjugado del ligador de HSA. Los grupos reactivos disponibles se podrían usar para conjugar agentes quelantes bifuncionales específicos del sitio para el marcaje de radioisótopos, incluyendo ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹³¹I, ^{99m}Tc, etc., ¹¹¹In, ⁶⁴Cu, ⁶⁷Cu, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ¹⁷⁷Lu, ⁹⁰Y, ⁷⁷As, ⁷²As, ⁸⁶Y, ⁸⁹Zr, ²¹¹At, ²¹²Bi, ²¹³Bi, o ²²⁵Ac.

- Los agentes terapéuticos o citotóxicos incorporados en o acoplados con un ligador de HSA o un conjugado del ligador de HSA pueden incluir además, por ejemplo, agentes potenciadores suplementarios contra el cáncer, incluyendo, pero sin limitarse a: fármacos antidepresivos tricíclicos (por ejemplo, imipramina, desipramina, amitriptilina, clomipramina, trimipramina, doxepina, nortriptilina, protriptilina, amoxapina, y maprotilina); fármacos 5 antidepresivos no tricíclicos (por ejemplo, sertralina, trazodona, y citalopram); antagonistas de Ca^{2+} (por ejemplo, verapamilo, nifedipina, nitrendipina, y caroverina); inhibidores de calmodulina (por ejemplo, prenilamina, trifluoroperazina, y clomipramina); análogos de triparanol (por ejemplo, tamoxifeno); fármacos antiarrítmicos (por ejemplo, quinidina); fármacos antihipertensivos (por ejemplo, reserpina); destructores de tiol (por ejemplo, busionina y sulfoximina), y agentes reductores de fármacos multirresistentes tales como Cromaphor EL.
- 10 Un agente de la invención que incluye un ligador de HSA, o cualquier molécula o resto conjugado a él, también se puede acoplar a o administrar con citocinas (por ejemplo, factor estimulante de colonias de granulocitos, interferón-alfa, y factor alfa de necrosis tumoral). Un ligador de HSA de la invención, o cualquier molécula o resto conjugado a él, también se puede acoplar a un agente antimetabólico. Los agentes antimetabólicos incluyen, pero no se limitan a, los siguientes compuestos y sus derivados: azatioprina, cladribina, citarabina, dacarbazine, fosfato de fludarabina, 15 fluorouracilo, clorhidrato de gencitabina, mercaptopurina, metotrexato, mitobronitol, mitotano, clorhidrato de proguanilo, pirimetamina, raltitrexed, glucuronato de trimetrexato, uretano, sulfato de vinblastina, sulfato de vincristina, etc. Más preferiblemente, un ligador de HSA o conjugado de la invención se puede acoplar a un antimetabolito de tipo ácido fólico, una clase de agentes que incluye, por ejemplo, metotrexato, clorhidrato de proguanilo, pirimetamina, trimetoprima, o glucuronato de trimetrexato, o derivados de estos compuestos.
- 20 Un ligador de HSA de la invención, o cualquier molécula o resto conjugado a él, también se puede acoplar a un miembro de la familia de antraciclinas de agentes neoplásicos, incluyendo, pero sin limitarse a, clorhidrato de aclarrubicina, clorhidrato de daunorrubicina, clorhidrato de doxorubicina, clorhidrato de epirrubicina, clorhidrato de idarrubicina, pirarrubicina, o clorhidrato de zorrubicina; una camptotecina, o sus derivados o compuestos relacionados, tales como 10,11 metilendioxicamptotecina; o un miembro de la familia de compuestos de 25 maitansinoides, que incluye una variedad de compuestos estructuralmente relacionados, por ejemplo, ansamitocina P3, maitansina, 2'-N-desmetilmaitanbutino, y maitanbiciclinol.
- Un ligador de HSA de la invención, o cualquier molécula o resto conjugado a él, también se puede acoplar directamente a un agente citotóxico o terapéutico usando métodos químicos conocidos, o se puede acoplar indirectamente a un agente citotóxico o terapéutico vía un enlazamiento indirecto. Por ejemplo, un ligador de HSA se 30 puede unir a un grupo quelante que está unido al agente citotóxico o terapéutico. Los grupos quelantes incluyen, pero no se limitan a, grupos reactivos ininocarboxílicos y poliaminopolícarboxílicos, ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA), y ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7,10-tetraacético (DOTA). Para métodos generales, véanse, por ejemplo, Liu et al., *Bioconjugate Chem.* 12(4):653, 2001; Cheng et al., documento WO 89/12631; Kieffer et al., documento WO 93/12112; Albert et al., patente U.S. nº 5.753.627; y documento WO 91/01144.
- 35 Un agente de la invención que incluye, por ejemplo, un ligador de HSA, uno o más restos de unión (con o sin conectores polipeptídicos que intervengan, como se definen aquí), y un agente terapéutico o citotóxico, se puede dirigir específicamente mediante el resto de unión (por ejemplo, anticuerpo, fragmento de anticuerpo, o receptor/ligando) a una célula o tejido, permitiendo de ese modo la destrucción selectiva de la célula o tejido diana al que se dirige el resto de unión. Por ejemplo, un agente de la invención se puede usar para dirigirlo hacia y destruir 40 células cancerosas del pulmón, mama, próstata, y colon, a fin de prevenir, estabilizar, inhibir la progresión de, o tratar cánceres que se originan en estos órganos, cuando el agente incluye un resto de unión que se une específicamente a las células cancerosas en estos órganos. También, por ejemplo, los agentes de la invención se pueden usar para dirigirlos hacia y destruir células de la vasculatura, cerebro, hígado, riñón, corazón, pulmón, próstata, colon, nasofaringe, orofaringe, laringe, bronquio, y piel, a fin de prevenir, estabilizar, inhibir la progresión de, o tratar enfermedades relacionadas con la edad, relacionadas con el tabaco, o enfermedades autoinmunitarias o 45 afecciones relacionadas con estos órganos al dirigirlos, en el caso de por ejemplo enfermedad autoinmunitaria, hacia células T autorreactivas (por ejemplo, uniéndose a y agonizando receptor 2 del factor de necrosis tumoral (TNFR2) presente en las células T autorreactivas).
- 50 Un ligador de HSA de la invención, cuando se expresa recombinantemente, se puede unir a un polipéptido citotóxico. Los polipéptidos citotóxicos, cuando se ponen en contacto con una célula diana (por ejemplo, una célula cancerosa), ejercen efectos citotóxicos o citostáticos sobre la célula. Por ejemplo, un polipéptido citotóxico, cuando se une con un ligador de HSA de la invención, puede inducir sucesos en una célula diana al unirse a la célula diana que conducen a la muerte celular mediante, por ejemplo, apoptosis, necrosis, o senescencia. Como alternativa, un polipéptido citotóxico unido con un ligador de HSA de la invención puede interferir o inhibir actividades biológicas 55 celulares normales, tales como división, metabolismo, y crecimiento, o actividades biológicas celulares anormales, tales como metástasis.
- Por ejemplo, un ligador de HSA de la invención unido a caspasa 3 se unirá a una célula diana (por ejemplo, una célula cancerosa) y sufrirá endocitosis. Una vez internalizada por la célula diana, la porción de caspasa del conjugado del ligador de HSA puede iniciar la cascada de caspasas proapoptótica, dando finalmente como resultado 60 la apoptosis de la célula diana.

En una realización preferida, un ligador de HSA de la invención incluye un polipéptido citotóxico capaz de exterminar una célula cancerosa. En otra realización de la invención, el polipéptido citotóxico inhibe el crecimiento o metástasis de una célula cancerosa. El polipéptido citotóxico unido con un ligador de HSA de la invención también se puede usar para exterminar o inhibir el crecimiento de células asociadas con, necesarias para, o beneficiosas para el crecimiento del cáncer, tales como células endoteliales que forman vasos sanguíneos que perfusionan tumores sólidos.

En una realización, un ligador de HSA de la invención puede incluir dos o más polipéptidos citotóxicos para modular (por ejemplo, incrementar) la especificidad, intensidad, o duración del efecto citotóxico o citostático en una célula diana (por ejemplo, una célula cancerosa).

10 En otra realización, el ligador de HSA de la invención está unido a una forma activable de polipéptido citotóxico (por ejemplo, un proagente biológicamente inactivo que es capaz de activarse con la escisión mediante una enzima o fármaco). En esta realización, la exposición (por ejemplo, *in vivo*) del proagente del polipéptido citotóxico a una enzima o fármaco capaz de escindir el polipéptido citotóxico hace biológicamente activo (por ejemplo, citotóxico o citostático) al polipéptido citotóxico. Un ejemplo de un polipéptido citotóxico biológicamente inactivo que se puede convertir en una forma biológicamente activa para uso con un ligador de HSA de la invención es una procaspasa (por ejemplo, procaspasa 8 o 3). Por ejemplo, el dominio de procaspasa 8 de un ligador de HSA de la invención puede ser escindido por TRAIL o FasL con la internalización por una célula diana (por ejemplo, una célula cancerosa). Una vez escindida, la caspasa 8 biológicamente activa puede promover la apoptosis de la célula diana.

20 En una realización de la invención, el polipéptido citotóxico unido a un ligador de HSA de la invención puede incluir un péptido, polipéptido, o proteína de longitud completa, o fragmento biológicamente activo del mismo (por ejemplo, un "dominio de muerte"), que se sabe que tiene propiedades citotóxicas o citostáticas. Los péptidos, polipéptidos, o proteínas con propiedades citotóxicas o citostáticas se pueden alterar (por ejemplo, realizando sustituciones, mutaciones, truncamientos, o adiciones de aminoácidos) para facilitar la incorporación de la secuencia citotóxica en un agente de la invención. Las alteraciones deseables incluyen, por ejemplo, cambios en la secuencia de aminoácidos que facilitan la expresión proteica, la longevidad, la secreción celular, y la toxicidad de la célula diana.

25 La invención también incluye una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido citotóxico como una proteína de fusión con un ligador de HSA de la invención, que incluye opcionalmente restos de unión y conectores polipeptídicos. La molécula de ácido nucleico se puede incorporar en un vector (por ejemplo, un vector de expresión), de manera que, con la expresión del ligador de HSA de la invención en una célula transfectada o transducida con el vector, el polipéptido citotóxico, el ligador de HSA, y los restos de unión, si están presentes, estén enlazados operablemente (por ejemplo, fusionados, unidos contiguamente, o amarrados juntos). Los ejemplos de péptidos, polipéptidos, y proteínas que se pueden usar como un polipéptido citotóxico de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, proteínas inductoras de la apoptosis, tales como citocromo c (SEC ID NO: 39); caspasas (por ejemplo, caspasa 3 (SEC ID NO: 36) y caspasa 8 (SEC ID NO: 37)); procaspasas, granzimas (por ejemplo, granzimas A y B (SEC ID NO: 38)); factor de necrosis tumoral (TNF) y miembros de la familia de receptores del TNF, incluyendo TNF-alfa (TNF α ; SEC ID NO: 40)), TNF-beta, Fas (SEC ID NO: 41) y ligando de Fas; enzima conversora de IL-1 β similar al dominio de muerte asociada a Fas (FLICE); TRAIL/APO2L (SEC ID NO: 45) y TWEAK/APO3L (véase, por ejemplo, la Publicación de Solicitud de Patente U.S. nº 2005/0187177; miembros proapoptóticos de la familia Bcl-2, incluyendo Bax (SEC ID NO: 46), Bid, Bik, Bad (SEC ID NO: 42), Bak, y RICK (véase, por ejemplo, la Publicación de Solicitud de Patente U.S. nº 2004/0224389); proteínas 1 y 2 inductoras de la apoptosis vasculares (VAP1 y VAP2; Masuda et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 278:197-204 (2000)); pterisina (SEC ID NO: 44; Watanabe et al., Biochemistry 96:10608-10613 (1999)); proteína inductora de apoptosis (SEC ID NO: 43; AIP; Murawaka et al., Nature 8:298-307 (2001)); polipéptido de propieza de IL-1 α (véase, por ejemplo, la patente U.S. 6.191.269); apoptina y proteínas asociadas a apoptina, tales como AAP-1 (véase, por ejemplo, la Publicación de Solicitud de Patente European nº EP 1083224); factores antiangiogénicos tales como endostatina y angiostatina; y otras proteínas inductoras de apoptosis, incluyendo aquellas descritas en las siguientes Publicaciones de Solicitud de Patentes Internacionales y U.S.: U.S. 2003/0054994, U.S. 2003/0086919, U.S. 2007/0031423, WO 2004/078112, WO 2007/012430, y WO 2006/0125001 (dominio intracelular de delta 1 y jagged 1).

50 Conjugados del Ligador de HSA de Tipo Salvaje

La presente invención también engloba un ligador de HSA de tipo salvaje de origen natural, cuyas secuencias de aminoácidos y nucleotídicas se proporcionan en SEC ID NOS: 3 y 4, respectivamente, en la formación de agentes de unión, de diagnóstico, o terapéuticos de la invención. En todas las realizaciones de la invención que utilizan un ligador de HSA o la secuencia de aminoácidos enumerada en SEC ID NO: 3, uno o más conectores polipeptídicos, como se describen anteriormente, están covalentemente unidos a los términos amino y/o carboxi del ligador de HSA, o a un resto de aminoácido en la secuencia del ligador de HSA, para facilitar la conjugación de uno o más restos de unión.

Truncamientos

La invención incluye además un conjugado que se forma usando un polipéptido de HSA de tipo salvaje truncado,

que se puede combinar con uno o más conectores polipeptídicos o restos de unión. Un polipéptido de HSA de tipo salvaje que carece de 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 50, 100, 200 o más aminoácidos de la secuencia de aminoácidos de HSA de tipo salvaje de longitud completa (es decir, SEC ID NO: 3) se puede combinar a cualquiera de los restos de unión o agentes de diagnóstico o terapéuticos descritos aquí. Los truncamientos pueden ocurrir en uno o en ambos

- 5 extremos del ligador de HSA, o pueden incluir una supresión de restos internos. El truncamiento de más de un resto de aminoácido no necesita ser lineal. Los ejemplos de ligadores de HSA de tipo salvaje de la invención incluyen aquellos que tienen, en combinación con uno o más conectores polipeptídicos o restos de unión, uno o más del dominio I (SEC ID NO: 56; restos 1-197 de SEC ID NO: 3), dominio II (SEC ID NO: 54; restos 189-385 de SEC ID NO: 3), o dominio III (SEC ID NO: 57; restos 381-585 de SEC ID NO: 3), o combinaciones de los mismos, por ejemplo, dominios I y II, I y III, y II y III.
- 10

Las velocidades de aclaramiento del suero de un conjugado de la invención (por ejemplo, un HSA-fármaco o agente que contiene un radioisótopo, biespecífico) se pueden optimizar evaluando los conjugados que contienen un ligador de HSA de tipo salvaje truncado, como se describe anteriormente.

Modificaciones del Ligador de HSA Adicionales

- 15 La invención proporciona además una modificación química específica del sitio de restos de aminoácidos en el polipéptido del ligador de HSA. La estructura terciaria correctamente plegada de HSA presenta ciertos restos de aminoácidos en la cara externa de la proteína. Los restos de aminoácidos químicamente reactivos (por ejemplo, cisteína) pueden sustituir a estos restos expuestos en la superficie para permitir la conjugación, específica del sitio, de un agente de diagnóstico o terapéutico.
- 20 La invención también proporciona la adición o eliminación de restos de asparagina, serina o treonina de una secuencia polipeptídica del ligador de HSA, para alterar la glicosilación de estos restos de aminoácidos. Los sitios de glicosilación añadidos a un ligador de HSA están preferiblemente expuestos en la superficie, como se explica aquí. Los restos de glicosilo o de otros hidratos de carbono introducidos a un ligador de HSA se pueden conjugar directamente a agentes de diagnóstico, terapéuticos, o citotóxicos.
- 25 Conjugación de Cisteína (Tiol)

- 30 La invención incluye la sustitución de restos de aminoácidos expuestos en la superficie del polipéptido del ligador de HSA con restos de cisteína para permitir la conjugación química de agentes de diagnóstico, terapéuticos, o citotóxicos. Los restos de cisteína expuestos en la superficie del polipéptido del ligador de HSA (cuando está plegado en su estructura terciaria nativa) permiten la conjugación específica de un agente de diagnóstico, terapéutico, o citotóxico a un grupo reactivo tiólico, tal como maleimida o haloacetilo. La reactividad nucleofílica de la funcionalidad de tiol de un resto de cisteína por un grupo maleimida es alrededor de 1000 veces mayor en comparación con cualquier otra funcionalidad de aminoácido en una proteína, tal como el grupo amino de un resto de lisina o el grupo amino N-terminal. La funcionalidad específica de tiol en yodoacetilo y reactivos de maleimida puede reaccionar con grupos amina, pero se requieren mayores pH (>9,0) y tiempos de reacción más prolongados (Garman, 1997, Non-Radioactive Labelling: A Practical Approach, Academic Press, Londres). La cantidad de tiol libre en una proteína se puede estimar usando el ensayo de Ellman estándar. En algunos casos, para generar el tiol libre reactivo, es necesaria la reducción de los enlaces de disulfuro con un reactivo tal como ditiotreitol (DTT) o selenol (Singh et al., Anal. Biochem. 304:147-156 (2002)).
- 35

- 40 Los sitios para la sustitución por cisteína se pueden identificar mediante análisis de accesibilidad del ligador de HSA a la superficie (por ejemplo, la identificación de restos de serina y treonina como adecuados para la sustitución se describe en el Ejemplo 1 más abajo). La accesibilidad a la superficie se puede expresar como el área superficial (por ejemplo, angstroms al cuadrado) que se puede poner en contacto por una molécula de disolvente, por ejemplo agua. El espacio ocupado de agua es aproximadamente como una esfera con un radio de 1,4 ángstrom. El software para calcular la accesibilidad de cada aminoácido de una proteína a la superficie está públicamente disponible o autorizable. Por ejemplo, el CCP4 Suite de programas de cristalográfia que emplean algoritmos para calcular la accesibilidad de cada aminoácido de una proteína a la superficie con coordenadas derivadas mediante cristalográfia de rayos X ("The CCP4 Suite: Programs for Protein Crystallography" Acta. Cryst. D50:760-763 (1994); www ccp4.ac.uk/dist/html/INDEX.html). La accesibilidad del disolvente también se puede evaluar usando el software libre DeepView Swiss PDB Viewer, descargado del Swiss Institute de Bioinformatics. La sustitución de cisteínas en sitios expuestos a la superficie permite la conjugación de la cisteína reactiva a un grupo reactivo de tiol enlazado al agente de diagnóstico o terapéutico.
- 45
- 50

Glicosilación

- 55 Además, se pueden lograr velocidades de aclaramiento del suero alteradas manipulando sitios de glicosilación en el ligador de HSA. En ciertas realizaciones, un ligador de HSA de la invención está glicosilado. La glicosilación de polipéptidos está típicamente enlazada mediante N o enlazada mediante O. Enlazada mediante N se refiere a la unión de un resto de hidrato de carbono a la cadena lateral de un resto de asparagina. Las secuencias tripeptídicas asparagina-X-serina y asparagina-X-treonina, en las que X representa cualquier aminoácido excepto prolina, son las secuencias de reconocimiento para la fijación enzimática del resto de hidrato de carbono a la cadena lateral de

asparagina. De este modo, la presencia de cualquiera de estas secuencias tripeptídicas en un polipéptido crea un sitio de glicosilación potencial. La glicosilación enlazada mediante O se refiere a la fijación de uno de los azúcares N-acetylgalactosamina, galactosa, o xilosa a un hidroxiaminoácido, más habitualmente serina o treonina, aunque también se puede usar 5-hidroxiprolina o 5-hidroxilisina.

- 5 La adición o supresión de sitios de glicosilación al ligador de HSA se logra convenientemente alterando la secuencia de aminoácidos de manera que se cree una o más de las secuencias tripeptídicas descritas anteriormente (para sitios de glicosilación enlazados mediante N). La alteración también se puede realizar mediante la adición, supresión, o sustitución de uno o más restos de serina o treonina a la secuencia del ligador de HSA original (para sitios de glicosilación enlazados mediante O). Las estructuras de hidratos de carbono resultantes en HSA también se
10 pueden usar para la conjugación, específica del sitio, de agentes citotóxicos, inmunomoduladores o citostáticos como se describen anteriormente.

Agentes del Ligador de HSA en Combinación con Agentes Terapéuticos

- 15 La invención proporciona además la administración de los agentes del ligador de HSA descritos aquí con uno o más de los agentes terapéuticos, citotóxicos, o citostáticos descritos aquí. Por ejemplo, a un paciente que sufre cáncer de mama se le puede administrar un ligador de HSA que contiene scFvs de ErbB2 y ErbB3 (por ejemplo, B2B3-1) que se puede coadministrar con, por ejemplo, doxorrubicina, ciclofosfamida, y paclitaxel, un régimen quimioterapéutico habitual para el tratamiento de cáncer de mama. En el Apéndice C se enumeran agentes biológicos y químicos adicionales útiles para el tratamiento de cáncer.

Agentes del Ligador de HSA en Combinación con Radioterapia o Cirugía

- 20 La invención proporciona la administración de un agente del ligador de HSA de la invención antes de, concurrentemente con, o después de radioterapia o cirugía. Por ejemplo, un paciente que sufre un trastorno proliferativo (por ejemplo, cáncer de mama) puede recibir un agente del ligador de HSA, solo o en combinación con otros agentes terapéuticos, citotóxicos, o citostáticos como se describen aquí, concurrentemente con radioterapia o
25 intervención quirúrgica dirigida (por ejemplo, lumpectomía o mastectomía) en el sitio del tejido canceroso. Las radioterapias adecuadas para uso en combinación con agentes del ligador de HSA de la invención incluyen braquiterapia y radioterapia intraoperatoria dirigida (TARGIT).

Composiciones Farmacéuticas

- 30 Las composiciones farmacéuticas de la invención contienen una cantidad terapéutica o diagnósticamente eficaz de un conjugado del ligador de HSA de la invención que incluye uno o más de un resto de unión (por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de anticuerpo), agente de diagnóstico (por ejemplo, radionúclido o agentes quelantes), o un agente terapéutico (por ejemplo, agentes citotóxicos o inmunomoduladores). Los ingredientes activos, un conjugado del ligador de HSA de la invención (preparado con uno o más de un resto de unión, agente de diagnóstico, o agente terapéutico), se pueden formular para uso en una variedad de sistemas de suministro de fármacos. También se pueden incluir en las composiciones, para la formulación apropiada, uno o más excipientes o
35 vehículos fisiológicamente aceptables. Las formulaciones adecuadas para uso en la presente invención se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Filadelfia, PA, 17^a ed. (1985). Para un resumen breve de métodos para el suministro de fármacos, véase Langer Science 249:1527-1533 (1990).

- 40 Las composiciones farmacéuticas están destinadas a la administración parenteral, intranasal, tópica, oral, o local, tal como por un medio transdérmico, para tratamiento profiláctico y/o terapéutico. Habitualmente, las composiciones farmacéuticas se administran parenteralmente (por ejemplo, mediante inyección intravenosa, intramuscular, o subcutánea), o mediante ingestión oral, o mediante aplicación tópica. De este modo, la invención proporciona
45 composiciones para administración parenteral que incluyen un ligador de HSA de la invención, con o sin uno o más agentes de unión, de diagnóstico, y/o terapéuticos conjugados a él, disueltos o suspendidos en un vehículo aceptable, preferiblemente un vehículo acuoso, por ejemplo agua, agua tamponada, y disolución salina, PBS, y similar. Las composiciones pueden contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables según se requiera para aproximarse a las condiciones fisiológicas, tal como agentes de ajuste del pH y tamponantes, agentes para ajustar la tonicidad, agentes humectantes, detergentes, y similares. La invención también proporciona composiciones para el suministro oral, que pueden contener ingredientes inertes tales como aglutinantes o cargas para la formulación de un comprimido, una cápsula, y similar. Además, esta invención proporciona composiciones para la administración local, que pueden contener ingredientes inertes tales como disolventes o emulsionantes para la formulación de una crema, un ungüento, y similar.

- 50 Estas composiciones se pueden esterilizar por técnicas de esterilización convencionales, o se pueden filtrar de manera estéril. Las soluciones acuosas resultantes se pueden envasar para uso como tales, o se pueden liofilizar, combinándose la preparación liofilizada con un vehículo acuoso estéril antes de la administración. El pH de las preparaciones estará típicamente entre 3 y 11, más preferiblemente entre 5 y 9, o entre 6 y 8, y lo más preferible entre 7 y 8, tal como 7 a 7,5. Las composiciones resultantes en forma sólida se pueden envasar en múltiples unidades de dosis unitaria, conteniendo cada una una cantidad fija de un conjugado del ligador de HSA (preparado con uno o más de un agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico) en un envase en escalas de comprimidos o

cápsulas, por ejemplo. La composición en forma sólida también se puede envasar en un recipiente para una cantidad flexible, tal como un tubo exprimible diseñado para una crema o ungüento aplicable tópicamente.

Las composiciones que contienen una cantidad eficaz de un conjugado del ligador de HSA (preparado con uno o más de un agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico) se pueden administrar a un mamífero (por ejemplo, un ser humano) para tratamientos profilácticos y/o terapéuticos. En aplicaciones profilácticas, las composiciones de la invención que contienen un conjugado del ligador de HSA (preparado con uno o más de un agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico) se administran a un paciente susceptible de o de otro modo en riesgo de desarrollar una enfermedad o afección (por ejemplo, un cáncer, enfermedad autoinmunitaria, o enfermedad cardiovascular). Tal cantidad se define como "dosis profilácticamente eficaz". En este uso, las cantidades precisas dependen

5 nuevamente del estado de salud del paciente, pero generalmente oscilan de alrededor de 0,5 mg a alrededor de 400 mg de un conjugado del ligador de HSA (preparado con uno o más de un agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico) por dosis (por ejemplo, 10 mg, 50 mg, 100 mg, 200 mg, 300 mg, o 400 mg por dosis) y de alrededor de 0,1 µg a alrededor de 300 mg de uno o más agentes inmunomoduladores por dosis (por ejemplo, 10 µg, 30 µg, 50 µg, 0,1 mg, 10 mg, 50 mg, 100 mg, o 200 mg por dosis). Una dosis de un conjugado del ligador de HSA (preparado

10 con uno o más de un agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico) se puede administrar profilácticamente a un paciente una o más veces por hora, día, semana, mes, o año (por ejemplo, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, o 12 veces por hora, día, semana, mes, o año). Más habitualmente, se administra una sola dosis por semana de un conjugado del

15 ligador de HSA (preparado con uno o más de un agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico).

En aplicaciones terapéuticas, una dosis de un conjugado del ligador de HSA (preparado con uno o más de un 20 agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico) se administra a un mamífero (por ejemplo, un ser humano) que ya sufre una enfermedad o afección (por ejemplo, un cáncer, enfermedad autoinmunitaria, o enfermedad cardiovascular) en una cantidad suficiente para curar o al menos parcialmente detener o aliviar uno o más de los síntomas de la enfermedad o afección y sus complicaciones. Una cantidad adecuada para lograr este fin se define 25 como una "dosis terapéuticamente eficaz". Las cantidades eficaces para este uso pueden depender de la gravedad de la enfermedad o afección y del estado general del paciente, pero generalmente oscilan de alrededor de 0,5 mg a alrededor de 400 mg de un conjugado del ligador de HSA (preparado con uno o más de un agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico) por dosis (por ejemplo, 10 mg, 50 mg, 100 mg, 200 mg, 300 mg, o 400 mg por dosis). Una dosis de un conjugado del ligador de HSA (preparado con uno o más de un agente de unión, de diagnóstico, y/o 30 terapéutico) se puede administrar terapéuticamente a un paciente una o más veces por hora, día, semana, mes, o año (por ejemplo, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, o 12 veces por hora, día, semana, mes, o año). Más habitualmente, se administra una sola dosis por semana de un conjugado del ligador de HSA (preparado con uno o más de un agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico).

En varias realizaciones, el paciente puede recibir un conjugado del ligador de HSA (preparado con uno o más de un 35 agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico) en el intervalo de alrededor de 0,5 a alrededor de 400 mg por dosis una o más veces por semana (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, ó 7 o más por semana), preferiblemente alrededor de 5 mg a alrededor de 300 mg por dosis una o más veces por semana, e incluso más preferiblemente alrededor de 5 mg a alrededor de 200 mg por dosis una o más veces por semana. El paciente también puede recibir una dosis bisemanal 40 de un conjugado del ligador de HSA (preparado con uno o más de un agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico) en el intervalo de alrededor de 50 mg a alrededor de 800 mg, o una dosis mensual de un ligador de HSA de la invención, o cualquier agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico conjugado a él, en el intervalo de alrededor de 50 mg a alrededor de 1.200 mg.

En otras realizaciones, un conjugado del ligador de HSA (preparado con uno o más de un agente de unión, de 45 diagnóstico, y/o terapéutico) se puede administrar a un paciente en un intervalo de dosificación típico de alrededor de 0,5 mg por semana a alrededor de 400 mg por semana, alrededor de 1,0 mg por semana a alrededor de 300 mg por semana, alrededor de 5 mg por semana a alrededor de 200 mg por semana, alrededor de 10 mg por semana a alrededor de 100 mg por semana, alrededor de 20 mg por semana a alrededor de 80 mg por semana, alrededor de 100 mg por semana a alrededor de 300 mg por semana, o alrededor de 100 mg por semana a alrededor de 200 mg por semana. Un conjugado del ligador de HSA (preparado con uno o más de un agente de unión, de diagnóstico, y/o 50 terapéutico) se puede administrar en el intervalo de alrededor de 0,5 mg cada dos días a alrededor de 100 mg cada dos días, preferiblemente alrededor de 5 mg cada dos días a alrededor de 75 mg cada dos días, más preferiblemente alrededor de 10 mg cada dos días a alrededor de 50 mg cada dos días, e incluso más preferiblemente 55 20 mg cada dos días a alrededor de 40 mg cada dos días. Un conjugado del ligador de HSA (preparado con uno o más de un agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico) también se puede administrar en el intervalo de alrededor de 0,5 mg tres veces por semana a alrededor de 100 mg tres veces por semana, preferiblemente alrededor de 5 mg tres veces por semana a alrededor de 75 mg tres veces por semana, más preferiblemente alrededor de 10 mg tres veces por semana a alrededor de 50 mg tres veces por semana, e incluso más preferiblemente alrededor de 20 mg tres veces por semana a alrededor de 40 mg tres veces por semana.

En realizaciones no limitantes de los métodos de la presente invención, un conjugado del ligador de HSA (preparado 60 con uno o más de un agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico) se administra a un mamífero (por ejemplo, un ser humano) continuamente durante 1, 2, 3, ó 4 horas; 1, 2, 3, ó 4 veces al día; cada dos días o cada tercer, cuarto, quinto, o sexto día; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, ó 10 veces a la semana; bisemanalmente; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, ó 30 veces al mes; bimensualmente; 1, 2, 3, 4, 5,

6, 7, 8, 9, ó 10 veces cada seis meses; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, ó 20 veces al año; o bianualmente. Un conjugado del ligador de HSA (preparado con uno o más de un agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico) se puede administrar a diferentes frecuencias durante un régimen terapéutico. En realizaciones adicionales, un conjugado del ligador de HSA (preparado con uno o más de un agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico) se puede administrar a un paciente a la misma frecuencia o a una frecuencia diferente.

5 La cantidad de uno o más agentes de diagnóstico o terapéuticos y un ligador de HSA, o cualquier agente conjugado a él, requerida para lograr el efecto terapéutico deseado depende de un número de factores, tal como el agente o agentes de diagnóstico o terapéuticos específicos escogidos, el modo de administración, y el estado clínico del receptor. Un experto será capaz de determinar las dosificaciones apropiadas de uno o más agentes de diagnóstico o terapéuticos y de un ligador de HSA, o cualquier agente conjugado a él, para lograr los resultados deseados.

10 Las administraciones individuales o múltiples de las composiciones que comprenden una cantidad eficaz de un conjugado del ligador de HSA (preparado con uno o más de un agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico) se pueden llevar a cabo con niveles de dosis y patrones que se seleccionan por el médico que esté llevando a cabo el tratamiento. El programa de dosis y de administración se puede determinar y ajustar basándose en la gravedad de la 15 enfermedad o afección en un mamífero (por ejemplo, un ser humano), que se puede monitorizar durante el transcurso del tratamiento según métodos habitualmente puestos en práctica por médicos o aquellos descritos aquí.

20 Un conjugado del ligador de HSA (preparado con uno o más de un agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico) se puede administrar a un sujeto mamífero, tal como un ser humano, directamente o en combinación con cualquier vehículo o sal farmacéuticamente aceptable conocidos en la técnica. Las sales farmacéuticamente aceptables 25 pueden incluir sales de adición de ácidos no tóxicas o complejos metálicos que se usan habitualmente en la industria farmacéutica. Los ejemplos de sales de adición de ácidos incluyen ácidos orgánicos tales como ácido acético, láctico, pamoico, maleico, cítrico, mónico, ascórbico, succínico, benzoico, palmítico, subérico, salicílico, tartárico, metanosulfónico, toluenosulfónico, o trifluoroacético, o similares; ácidos poliméricos tales como ácido tánico, carboximetilcelulosa, o similares; y ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, o similares. Los complejos metálicos incluyen cinc, hierro, y similares. Un vehículo ejemplar farmacéuticamente aceptable es disolución salina fisiológica. Otros vehículos fisiológicamente aceptables, y sus 30 formulaciones, son conocidos por un experto en la técnica, y se describen, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, (18^a edición), ed. A. Gennaro, 1990, Mack Publishing Company, Easton, PA.

Aplicaciones de Diagnóstico y Terapéuticas

30 Los conjugados del ligador de HSA de la invención, como se describen aquí, se pueden usar para aplicaciones de diagnóstico y terapéuticas en un ser humano, incluyendo, por ejemplo, el diagnóstico o tratamiento de enfermedades proliferativas (por ejemplo, cánceres, tales como melanoma, sarcoma de células claras, y cáncer renal) y enfermedades autoinmunitarias (por ejemplo, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, y uveítis). La siguiente discusión de enfermedades proliferativas y autoinmunitarias humanas pretende proporcionar al experto practicante 35 una comprensión general de cómo se pueden aplicar los conjugados del ligador de HSA de la invención en aplicaciones de diagnóstico y terapéuticas, y no pretende limitar el alcance de la presente invención.

Enfermedades Proliferativas (Cáncer)

40 Un conjugado del ligador de HSA de la invención se puede usar para diagnosticar, tratar, prevenir, o eliminar enfermedades proliferativas tales como, pero sin limitarse a, cáncer de mama, melanoma, sarcoma de células claras, cáncer renal (por ejemplo, carcinoma de células renales), cáncer de próstata, cáncer de pulmón, cáncer gástrico, y cáncer ovárico. Los restos de unión a cominir con un ligador de HSA de la invención para aplicación de diagnóstico o terapéutica en un paciente que se sospecha que tiene o sufre una enfermedad proliferativa se pueden 45 escoger basándose en su capacidad para unirse específicamente a, agonizar, activar, antagonizar, o inhibir moléculas diana (por ejemplo, receptores de la superficie celular tales como receptores de tirosina cinasas) asociadas con una enfermedad proliferativa. Los restos de unión que se dirigen, por ejemplo, al receptor del factor de crecimiento similar a insulina (IGFR, por ejemplo, IGF1R e IGF2R), al receptor del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR), al receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR), al receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR), al receptor del factor de necrosis tumoral (TNFR), al receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR, por ejemplo, ErbB2 (HER2/neu)), al receptor de Fc, al receptor de c-kit, o al receptor 50 del factor de transición epitelial mesenquimatoso (c-met; también conocido como receptor del factor de crecimiento de hepatocitos (HGFR)) se pueden cominir a un ligador de HSA de la invención para diagnosticar o tratar una enfermedad proliferativa. La unión específica de una célula cancerosa por un conjugado del ligador de HSA puede permitir la detección (por ejemplo, un ligador de HSA cominido a un marcador detectable, como se define aquí) o la destrucción (por ejemplo, un ligador de HSA cominido a un agente citotóxico) de la célula cancerosa unida. Más abajo 55 se describe la aplicación específica de conjugados del ligador de HSA de la invención para el tratamiento de cáncer de mama y renal.

Cáncer de Mama

Las formas habituales de cáncer de mama incluyen carcinoma ductal invasivo, un cáncer maligno en los conductos

de la mama, y carcinoma lobular invasivo, un cáncer maligno en los lobulillos de la mama. Se sabe que algunos tipos de células de cáncer de mama expresan de forma elevada niveles elevados de receptores del factor de crecimiento epidérmico, especialmente ErbB2 (es decir, HER2/neu). La señalización aberrante o la activación desregulada de los EGFRs se ha relacionado con el desarrollo y progresión de muchos cánceres, incluyendo cáncer

5 de mama. La proliferación celular descontrolada, mediada vía rutas de EGFR disfuncionales, se puede encontrar en una amplia variedad de tumores sólidos de origen epitelial, y los datos han relacionado la expresión, sobreexpresión y desregulación de EGFR tumoral con enfermedad avanzada, fenotipo metastásico, resistencia a quimioterapia, y un pronóstico mucho más pobre global.

10 Un ligador de HSA de la invención contiene uno o más restos de unión específicos para un EGFR (por ejemplo, anti-ErbB2; trastuzumab) se puede usar con un agente de diagnóstico (por ejemplo, un marcador detectable) o citotóxico, citostático, o terapéutico, como se describe aquí, para diagnosticar o tratar cáncer de mama. Como alternativa, se puede emplear un conjugado del ligador de HSA biespecífico que consiste en restos de unión específicos para ErbB2 y ErbB3, tal como "B2B3-1", descrito aquí más tarde, para diagnosticar o tratar cánceres, por ejemplo cánceres de mama, de riñón, ovárico, y de pulmón.

15 Como se describe anteriormente, un conjugado del ligador de HSA de la invención usado para tratar cáncer de mama se puede administrar antes de (por ejemplo, quimioterapia neoadyuvante), concurrentemente con, o después de (por ejemplo, quimioterapia adyuvante) radioterapia o intervención quirúrgica. Un conjugado del ligador de HSA también se puede coadministrar con otros compuestos (por ejemplo, agentes antineoplásicos, tales como sustancias terapéuticas biológicas o químicas) útiles para el tratamiento de cáncer de mama. Por ejemplo, se sabe que los agentes antineoplásicos enumerados en la Tabla 1, incluyendo inhibidores mitóticos (por ejemplo, taxanos), inhibidores de topoisomerasas, agentes alquilantes (incluyendo, por ejemplo, agentes a base de platino), moduladores selectivos de estrógenos (SERM), inhibidores de aromatasa, antimetabolitos, antibióticos antitumorales (por ejemplo, antibióticos antraciclinicos), agentes anti-VEGF, agentes anti-ErbB2 (HER2/neu), y agentes anti-ErbB3, son particularmente útiles para el tratamiento de cáncer de mama. Un conjugado del ligador de HSA de la invención se puede administrar por un médico en combinación con cualquier compuesto, incluyendo aquellos enunciados en el Apéndice C, que se sabe o que se piensa que son beneficiosos para el tratamiento de cáncer de mama.

20 Tabla 1: Agentes antineoplásicos ejemplares para el tratamiento de cáncer de mama en combinación con conjugados del ligador de HSA de la invención.

Clase terapéutica	Agente ejemplar (Genérico/Marca)	Dosis ejemplar
Inhibidores mitóticos	paclitaxel (TAXOL®; ABRAZANE®)	175 mg/m ²
	docetaxel (TAXOTERE®)	60-100 mg/m ²
Inhibidores de topoisomerasas	camptotecina	
	Hidrocloruro de topotecán (HYCAMTIN®)	
	etopósido (EPOSIN®)	
Agentes alquilantes	ciclofosfamida (CYTOXAN®)	600 mg/m ²
Agentes a base de platino	cisplatino	20-100 mg/m ²
	carboplatino (PARAPLATIN®))	300 mg/m ²
	nedaplatino (AQUPLA®)	
	oxaliplatino (ELOXATIN®)	65-85 mg/m ²
	satrapiplatid (SPERA®)	
	tetranitrato de triplatino	
Moduladores Selectivos de Estrogenos (SERM)	tamoxifeno (NOLVADEX®)	20-40 mg/ día
	raloxifeno (EVISTA®)	60 mg/ día
	toremifeno (PARESTON®)	
Antimetabolitos	metotrexato	40 mg/m ²
	fluorouracilo (5-FU)	500 mg/m ²

Clase terapéutica	Agente ejemplar (Genérico/Marca)	Dosis ejemplar
	raltitrexed	
Antibióticos antitumorales	doxorrubicina (ADRIAMYCIN®)	40-75 mg/m ²
	epirrubicina (ELLENCE®)	60-120 mg/m ²
Inhibidores de aromatasas	aminoglutetimida (CYTADREN®)	250-2000 mg/ día
	anastrozol (ARIMIDEX®)	1 mg/ día
	letrozol (FEMARA®)	2,5 mg/ día
	vorozol	
	exemestano (AROMASIN®)	25-50 mg/día
	testolactona	
	fadrozol (AFEMA®)	
Agentes Anti-VEGF	bevacizumab (AVASTIN®)	10 mg/kg
Agentes Anti-ErbB2 (HER2/neu)	trastuzumab (HERCEPTIN®)	2-8 mg/kg
	pertuzumab (OMNITARG®)	
Agentes Anti-ErbB3 (HER3)	U3-1287 (AMG 888)	

Cáncer Renal

Los cánceres de riñón, tales como carcinoma de células renales, son particularmente resistentes a terapias radiológicas y químicas tradicionales. Como tales, la aplicación de sustancias terapéuticas biológicas, conjuntamente con un ligador de HSA de la invención, representa una opción atractiva para pacientes que sufren estos cánceres. Por ejemplo, se puede usar un ligador de HSA couinido con restos de unión que agonizan receptores de interferón tipo I o de interleucina 2 para tratar un cáncer renal. Como tumor sólido, también se pueden usar para efecto terapéutico restos de unión que se dirigen hacia e inhiben la vascularización tumoral (por ejemplo, anticuerpos anti-factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), tales como bevacizumab).

10 Enfermedades Autoinmunitarias

Un conjugado del ligador de HSA de la invención se puede usar para diagnosticar, tratar, prevenir, o estabilizar enfermedades y trastornos autoinmunitarios en, por ejemplo, un paciente humano, tales como, por ejemplo, esclerosis múltiple (MS), diabetes mellitus insulinodependiente (IDDM), artritis reumatoide (RA), uveítis, síndrome de Sjögren, enfermedad de Grave, psoriasis, y miastenia grave. Las enfermedades y trastornos autoinmunitarios están provocados por elementos autorreactivos del sistema inmunitario (por ejemplo, células T, células B, y anticuerpos autorreactivos). Como tales, los restos de unión que inhiben, bloquean, antagonizan, o agotan (por ejemplo, globulinas anti-linfocitos o anti-timocitos; anticuerpos monocionales basiliximab, daclizumab, o muromonab-CD3) células y anticuerpos inmunitarios autorreactivos se pueden couinir con un ligador de HSA de la invención para uso terapéutico. Los restos de unión que funcionan como inhibidores de la señalización inflamatoria (ISI), como se definen aquí, se pueden couinir a un ligador de HSA de la invención para el tratamiento de autoinmunidad. Además, los restos de unión que inhiben o antagonizan la función de integrinas (por ejemplo, un antagonista de integrinas, como se define aquí) pueden mejorar o detener la progresión de la enfermedad.

En otras realizaciones de la invención, el resto de unión es un receptor de TNF soluble, tal como etanercept o lenercept; un anticuerpo dirigido contra una citocina proinflamatoria o una molécula de señalización de la superficie celular proinflamatoria, tal como adalimumab, certolizumab, infliximab, golimumab, y rituxan; una variante de citocina proinflamatoria dominante negativa, tal como XENP345, XPROTM1595, anakinra, y variantes descritas en las Publicaciones de Solicitudes de Patentes U.S. n°s 20030166559 y 20050265962; un inhibidor de las rutas de señalización aguas abajo de citocina proinflamatoria o moléculas de señalización de la superficie celular proinflamatoria, tales como DE 096, derivados de 5-amino-2-carboniltiopeno (como se describen en el documento WO2004089929), ARRY-797, BIRB 796 BS, (1-5-terc-butil-2-p-tolil-2H-pirazol-3-il)-3-[4-2(morfolin-4-il-etoxi)-naftalen-1-il]-urea, CHR-3620, CNI-1493, FR-167653 (Fujisawa Pharmaceutical, Osaka, Japón), ISIS 101757 (Isis Pharmaceuticals), ML3404, NPC31145, PD169316, PHZ1112, RJW67657, 4-(4-(4-fluorofenil)-1-(3-fenilpropil)-5-(4-piridinil)-1H-imidazol-2-il)-3-butan-1-ol, SCIO-469, SB202190, SB203580, (4-(4-fluorofenil)-2-(4-metilsulfurifénil)-5-(4-piridinil)1H-imidazol), SB239063, trans-1-(4-hidroxiciclohexil)-4-(4-fluorofenil-metoxipiridimidin-4-il)imidazol, SB242235,

SD-282, SKF-86002, TAK 715, VX702, y VX745; o un inhibidor de la enzima conversora de TNF- alfa (TACE), tal como BB-1101, BB-3103, BMS-561392, butiniloxifenil β -sulfona piperidina hidroxomatos, CH4474, DPC333, DPH-067517, GM6001, GW3333, Ro 32-7315, TAPI-1, TAPI-2, y TMI 005); o un agente anti-idiotípico, tal como anticuerpos monoclonales, LJP 394 (abetimus, RIQUENT \circledR , La Jolla Pharmaceuticals).

- 5 En otras realizaciones, el resto de unión es un interferón, como se describe aquí. Los restos de unión que se pueden combinar a un ligador de HSA de la invención incluyen, por ejemplo, interferón- β (REBIF \circledR (IFN- β -1a), A VONEX \circledR (IFN- β -1a), y BETASERON \circledR (IFN- β -1b)), interferón-t (TAUFERONTM), interferón-alfa (por ejemplo, ROFERON-A \circledR (IFN- α -2a), INTRON-A \circledR (IFN- α -2b), REBETRON \circledR (IFN- α -2b), ALFERON-N \circledR (IFN- α -n3), PEG-INTRON \circledR (IFN- α -2b conjugado covalentemente con monometoxi polietilenglicol), INFERGEN \circledR (un interferón tipo 1 de origen natural con 88% de homología con IFN- α -2b), o PEGASYS \circledR (IFN- α -1a pegilado)), y ACTIMMUNE \circledR (IFN- γ -1b).
- 10

La presente invención proporciona además conjugados del ligador de HSA con restos de unión que antagonizan estas moléculas proinflamatorias o sus receptores específicos para tratar la autoinmunidad. Más abajo se describe la aplicación específica de conjugados del ligador de HSA de la invención para el diagnóstico y tratamiento de MS y RA.

15 Esclerosis Múltiple

La esclerosis múltiple (MS) es una enfermedad neurológica caracterizada por degeneración irreversible de los nervios del sistema nervioso central (SNC). Aunque la causa subyacente no está clara, la neurodegeneración en MS es el resultado directo de la desmielinización, o la pérdida de mielina, una proteína que forra normalmente la capa exterior y aísla los nervios. Las células T desempeñan un papel principal en el desarrollo de MS. Las lesiones de MS inflamadas, pero no la materia blanca normal, pueden tener células T CD4 $^{+}$ infiltrantes que responden a抗ígenos propios presentados por moléculas enlazadas al MHC clase II, tales como HLA-DR2 humana. Las células T CD4 infiltrantes (células T_H1) producen las citocinas proinflamatorias IL-2, IFN- γ , y TNF- α , que activan células presentadoras de antígenos (APCs), tales como macrófagos, para producir citocinas proinflamatorias adicionales (por ejemplo, IL-1 β , IL-6, IL-8, y IL-12. IL-12 induce síntesis adicional de IFN- γ . El resultado es la desmielinización progresiva de las vainas neuronales, conduciendo a enfermedad humana.

20 Los conjugados del ligador de HSA se pueden usar para ayudar en el diagnóstico de MS. Los conjugados del ligador de HSA de diagnóstico que incluyen restos de unión, como se definen aquí, se dirigen específicamente a uno o más (por ejemplo, un conjugado del ligador de HSA biespecífico) marcadores de la activación celular inmunitarios (por ejemplo, CD69, CD28, HLA-DR, y CD45). Un desequilibrio de uno o más de estos mediadores de la activación de 25 cellular proinflamatorios o inmunitarios con respecto a otros factores o células se puede medir mediante un conjugado del ligador de HSA combinado con un agente de diagnóstico (por ejemplo, un radioisótopo o fluorocromo).

30 Un conjugado del ligador de HSA de la invención se puede usar para tratar una persona en riesgo de desarrollar o sufrir MS, o para prevenir, mejorar, o curar los síntomas de la enfermedad. Por ejemplo, los restos de unión, como se definen aquí, que se dirigen específicamente y antagonizan α 4 integrina (por ejemplo, natalizumab), CD52 (por ejemplo, alemtuzumab), CD80, P-selectina, receptor-1 de esfingosina-1-fosfato (S1PR1), receptor de hialuronato, 35 antígeno 1 de la función leucocitaria (LFA-1), CD11 (por ejemplo, efalizumab), CD18, CD20 (por ejemplo, rituximab), CD85, ligando de ICOS, CCR2, CXCR3, o CCR5, pueden ser útiles cuando se unen conjuntamente a un ligador de HSA de la invención para uso terapéutico en un paciente que sufre MS. De forma similar, los restos de unión que neutralizan interferones de tipo I (por ejemplo, interferones-alfa y -beta) o que antagonizan receptores de 40 interferones de tipo I (por ejemplo, IFN α R1) también se pueden unir conjuntamente a un ligador de HSA de la invención para aplicación terapéutica.

Artritis Reumatoide

45 La artritis reumatoide (RA) es un trastorno autoinmunitario inflamatorio crónico que hace que el sistema inmunitario ataque a las articulaciones. Es una afección inflamatoria discapacitante y dolorosa, que puede conducir a la pérdida sustancial de movilidad debido a dolor y destrucción de la articulación. RA es una enfermedad sistémica, que afecta a menudo a tejidos extraarticulares a lo largo de todo el cuerpo, incluyendo la piel, vasos sanguíneos, corazón, pulmones, y músculos.

50 Los pacientes que sufren RA tienen frecuentemente un incremento en la expresión celular del agrupamiento HLA-DR4/DR1. Los conjugados del ligador de HSA específicos para una o ambas de estas moléculas de la superficie celular son útiles para el diagnóstico de RA.

55 Un conjugado del ligador de HSA de la invención se puede usar para tratar una persona en riesgo de desarrollar o sufrir RA, o para prevenir, mejorar, o curar los síntomas de la enfermedad. Por ejemplo, los restos de unión, como se definen aquí, que se dirigen específicamente a y antagonizan TNF- α (por ejemplo, etanercept, infliximab, y adalimumab), IL-1 (por ejemplo, anakinra), o CTLA-4 (por ejemplo, abatacept). Los restos de unión que se dirigen específicamente a y agotan células B (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD20, tal como rituximab) también se pueden unir conjuntamente al ligador de HSA descrito aquí para tratar o prevenir RA.

Uveítis

La uveítis se refiere específicamente a la inflamación de la capa media del ojo, pero se puede referir a cualquier proceso inflamatorio que implique el interior del ojo. La uveítis puede ser de origen autoinmunitario o idiopático.

- 5 Un conjugado del ligador de HSA de la invención se puede usar para tratar una persona en riesgo de desarrollar o sufrir uveítis autoinmunitaria, o para prevenir, mejorar o curar los síntomas de la enfermedad. Por ejemplo, alfa-fetoproteína (por ejemplo, AFP humana; número de Acceso NCBI NM_001134), o sus fragmentos biológicamente activos, se pueden unir a un ligador de HSA de la invención para reducir o eliminar la inflamación asociada con uveítis autoinmunitaria o idiopática.

Kits

- 10 La invención proporciona kits que incluyen una composición farmacéutica que contiene un ligador de HSA de la invención, y uno o más de un resto de unión (por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de anticuerpo), un agente de diagnóstico (por ejemplo, radionúclido o agentes quelantes), y un agente terapéutico (por ejemplo, agentes citotóxicos o inmunomoduladores) con reactivos que se pueden usar para conjugarlos al ligador de HSA, si es necesario, y que incluye un vehículo farmacéuticamente aceptable, en una cantidad terapéuticamente eficaz para tratar una enfermedad o afección (por ejemplo, un cáncer, enfermedad autoinmunitaria, o enfermedad cardiovascular). Los kits incluyen instrucciones para permitir a la persona practicante (por ejemplo, un médico, enfermera, o paciente) administrar la composición contenida en ellos.

Preferiblemente, los kits incluyen múltiples envases de la composición o composiciones farmacéuticas monodosis que contiene una cantidad eficaz de un ligador de HSA de la invención, o cualquier conjugado de unión (por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de anticuerpo (por ejemplo, scFv)), de diagnóstico (por ejemplo, radionúclido o agentes quelantes), y/o terapéuticos (por ejemplo, agentes citotóxicos o inmunomoduladores) del mismo. Opcionalmente, en los kits se pueden incluir instrumentos o dispositivos necesarios para administrar la composición o composiciones farmacéuticas. Por ejemplo, un kit de esta invención puede proporcionar una o más jeringuillas previamente llenadas que contienen una cantidad eficaz de un ligador de HSA de la invención, o cualquier agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico conjugado a él. Además, los kits también pueden incluir componentes adicionales tales como instrucciones o programas de administración para un paciente que sufre una enfermedad o afección (por ejemplo, un cáncer, enfermedad autoinmunitaria, o enfermedad cardiovascular) para usar la composición o composiciones farmacéuticas que contienen un ligador de HSA de la invención, o cualquier agente de unión, de diagnóstico, y/o terapéutico conjugado a él.

- 20 25 30 Será manifiesto para los expertos en la técnica que se pueden realizar diversas modificaciones y variaciones en las composiciones, métodos, y kits de la presente invención sin separarse del espíritu o alcance de la invención. De este modo, se pretende que la presente invención cubra las modificaciones y variaciones de esta invención con tal de que se encuentren dentro del alcance de las reivindicaciones anexas y sus equivalentes.

EJEMPLOS

- 35 Los siguientes ejemplos se proporcionan a título de ilustración solamente, y de ningún modo a título de limitación. Los expertos en la técnica reconocerán fácilmente una variedad de parámetros no críticos que se podrían cambiar o modificar para producir esencialmente los mismos resultados o similares.

Ejemplo 1: Métodos para Identificar Restos en el Ligador de HSA para la Conjugación de Fármacos Citolíticos o Citostáticos Específica del Sitio.

- 40 Para identificar sitios para la conjugación específica de fármaco a HSA, se estudió la estructura cristalina, y se identificaron los restos de serina y treonina expuestos en la superficie. Estos aminoácidos particulares expuestos en la superficie se pueden mutar entonces a cisteína, permitiendo la conjugación del fármaco a la cisteína sustituida, usando un agente de conjugación específico de tiol, tal como maleimida. Antes de la conjugación del fármaco, puede ser necesaria la reducción suave. El número de fármacos conjugados se controla mediante el número de restos de cisteína expuestos en la superficie introducidos en HSA. La serina y treonina se seleccionan como los restos más adecuados para la mutación, ya que comparten la mayor identidad estructural con cisteína; sin embargo, otros restos expuestos en la superficie también se pueden mutar a cisteína y se pueden conjugar con éxito a fármacos citostáticos o citotóxicos.

45 50 55 La estructura cristalina de HSA se depositó en el RSCB Protein Data Bank (1bm0 - Sugio et al., "Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution", Protein Eng. 12:439-446 (1999)). Esta estructura se analizó usando el DeepView Swiss PDB Viewer bajado del Swiss Institute of Bioinformatics. Los restos de serina y treonina con una exposición en la superficie del 50%, 40%, y 30% se identificaron como los más adecuados para la mutación a cisteína (Tabla 2). Las mutaciones se pueden introducir usando procedimientos de biología molecular estándar. La conjugación de un fármaco reactivo de tiol o agente quelante a cisteínas introducidas se puede evaluar usando técnicas de química de proteínas estándar.

Tabla 2

% de exposición de la superficie	Resto
50	T496
40	S58
30	T76, T79, T83, T125, T236, S270, S273, S304, S435, T478, T506, T508

Ejemplo 2: Métodos para Identificar Restos en el Ligador de HSA para la Introducción de Sitios de Glicosilación Enlazada a Asparagina.

5 Para identificar regiones para la introducción de sitios de glicosilación enlazada a asparagina en HSA, se estudió la estructura cristalina para identificar restos de asparagina, serina y treonina expuestos (>30%) en la superficie que serían adecuados para la mutación. La glicosilación ocurre en restos de asparagina cuando está presente la secuencia de consenso asparagina-x-serina/treonina, en la que x no puede ser prolina. La Tabla 2 enumera los posibles sitios de mutación en HSA para la introducción de glicosilación enlazada a asparagina.

Tabla 3

Resto	Mutación propuesta
Gln32	Asn
Val46	Ser/Thr
Asp56	Asn
Asp63	Ser/Thr*
Glu231	Asn
Asp237	Asn
Gln268	Asn
Asp269	Ser/Thr
Glu285	Asn
Ala320	Ser/Thr*
Asp340	Asn
Glu354	Asn
Gln437	Asn
Glu425	Asn
Flu465	Asn
Asp494	Asn*

*También se ha informado que estas mutaciones se producen muy raramente en HSA (Carlson et al., "Alloalbuminemia in Sweden: Structural study and phenotypic distribution of nine albumin variants", Proc.Nat.Acad.Sci. USA 89:8225- 8229 (1992); Madison et al., "Genetic variants of human serum albumin in Italy: point mutants and a carboxyl-terminal variant", Proc.Nat.Acad.Sei. USA 91:6476-6480 (1994); Hutchinson et al., "The N-terminal sequence of albumin Redhill, a variant of human serum albumin", FEBS Lett. 193:211-212 (1985); Brennan et al., "Albumin Redhill (-1 Arg, 320 Ala-Thr): a glycoprotein variant of human serum albumin whose precursor has an aberrant signal peptidase cleavage site", Proc.Nat.Acad.Sci. USA 87:26-30 (1990); Minchietti et al., "Structural characterization of four genetic variants of human serum albumin associated with alloalbuminemia in Italy", Eur.J.Biochem. 247:476-482 (1997); Peach et al., "Structural characterization of a glycoprotein variant of human serum albumin: albumin Casebrook (494 Asp-Asn)", Biochim.Biophys.Acta 1097:49-54 (1991)).

B2B3-1 es una molécula de fusión de anticuerpo scFv biespecífica que consiste en B1D2, un anticuerpo scFv anti-ErbB2 humano (SEC ID NO: 27) y H3, un scFv anti-ErbB3 humano (SEC ID NO: 26). Los dos scFvs están unidos mediante un ligador de seroalbúmina humana (HSA) modificada. El scFv anti-ErbB3, H3, está fusionado recombinantemente al término amino del ligador de HSA que incorpora un polipéptido conector corto, y el scFv anti-ErbB2, B1D2, está fusionado recombinantemente al término carboxi del ligador de HSA modificada que incorpora un polipéptido conector corto adicional. Cada polipéptido conector se seleccionó basándose en las propiedades de resistencia a proteasas. El ligador de HSA modificada contiene dos sustituciones de aminoácidos. Un resto de cisteína en la posición 34 de HSA nativa se mutó a serina, a fin de reducir la heterogeneidad proteica potencial debido a la oxidación en este sitio. Un resto de asparagina en el aminoácido 503 de HSA nativa, que en HSA nativa es sensible a la desaminación y puede dar como resultado una semivida farmacológica menor, se mutó a glutamina. B2B3-1 se une selectivamente a tumores que sobreexpresan ErbB2 en virtud de su resto de unión de scFv anti-ErbB2 de afinidad elevada, que tiene una kD en el intervalo de 10,0 nM a 0,01 nM, y más preferiblemente una kD de alrededor de 0,3 nM. La unión subsiguiente de ErbB3 por el scFv anti-ErbB3, que tiene una kD en el intervalo de 50 a 1 nM y más preferiblemente alrededor de 16 nM, evita la fosforilación de ErbB3 inducida por HRG. El ligador de HSA modificada confiere una semivida circulante prolongada en la molécula biespecífica. B2B3-1 tiene un peso molecular de 119,6 kDa y no está glicosilado.

B2B3-1 inhibe la fosforilación de ErbB3 inducida por ligandos con una potencia subnanomolar al explotar la expresión abundante de su pareja de dimerización, ErbB2, para dirigirse específicamente hacia células cancerosas que expresan ambos receptores.

Ejemplo 4

Como se muestra en la Figura 2, variantes de B2B3-1 inhiben pErbB3 inducida por HRG en células de cáncer de mama ZR75-1. Células de cáncer de mama ZR75-1 se trataron con un intervalo de dosis de variantes de B2B3-1 durante 24 horas, seguido de la estimulación con HRG. Los niveles de pErbB3 se midieron en lisados celulares, y se calcularon los valores de IC₅₀ junto con el porcentaje de inhibición. Se muestran los valores medios de IC₅₀ (eje Y), representando las barras de error los experimentos duplicados. Los valores del porcentaje de inhibición se muestran por encima de la barra correspondiente.

Ejemplo 5

Inhibición de ErbB3 (Figuras 3A-D), AKT (Figuras 4A-D), y ERK (Figuras 5A-D) fosforiladas tras el pretratamiento durante 24 horas de variantes de B2B3-1 A5-HSA-B1D2 (panel A de Figuras 3-5), H3-HSA-B1D2 (panel B de Figuras 3-5), H3-HSA-F5B6H2 (panel C de Figuras 3-5), y F4-HSA-F5B6H2 (panel D de Figuras 3-5). Células de cáncer de mama BT474 se trataron con un intervalo de dosis de variantes de B2B3-1 durante 24 horas, seguido de la estimulación con HRG. Los niveles de pErbB3, pAKT, y pERK se midieron en lisados celulares, y se calcularon los valores de IC₅₀ junto con el porcentaje de inhibición.

Ejemplo 6

Como se muestra en la Figura 6, el tratamiento de células de tumor de mama BT474 con variantes de B2B3-1 provocó la detención del ciclo celular G1 y una disminución en la población de células en fase S. Las células BT474 se trataron con 1 μM de variantes de B2B3-1 y controles durante 72 horas. Despues del final del tratamiento, las células se tritronizaron, se resuspendieron suavemente en disolución hipotónica que contiene yoduro de propidio, y las células individuales se analizaron mediante citometría de flujo. La distribución del ciclo celular en las fases G1 y S se midió usando algoritmos de ajustes de curvas diseñados para el análisis del ciclo celular (plataforma de software de ciclo celular de FlowJo).

Ejemplo 7

B2B3-1 (SEC ID NO:16) inhibe la activación de ErbB3, utilizando la expresión abundante de su pareja de dimerización, ErbB2, para dirigirse a células tumorales. Un anticuerpo scFv anti-ErbB2 de alta afinidad, B1D2, facilita el direccionamiento de B2B3-1 a células tumorales que sobreexpresan ErbB2. B1D2 está conectado mediante un ligador de HSA modificada a un anticuerpo scFv anti-ErbB3 de menor afinidad, H3, que bloquea la unión del ligando de ErbB3, HRG, inhibiendo de ese modo la fosforilación de ErbB3 y la señalización de AKT aguas abajo. El scFv de unión a ErbB2, B1D2, deriva del scFv progenitor C6.5, que no posee actividad ni agonista ni antagonista. Por lo tanto, B1D2 probablemente funciona solamente como un agente de direccionamiento. La menor afinidad de unión del scFv que se une a ErbB3 evita la unión fuerte de B2B3-1 a tejidos normales no cancerosos que expresan ErbB3 pero poco o ningún ErbB2, reduciendo de ese modo el potencial de toxicidad no específica. En células tumorales que expresan tanto ErbB2 como ErbB3, el efecto de la avidez de B2B3-1 biespecífico que se une a ambos receptores supera a la baja afinidad de scFv de anti-ErbB3, permitiendo la fuerte inhibición de la interacción con HRG.

La capacidad de B2B3-1 para inhibir la unión de HRG a ErbB3 se investigó usando citometría de flujo (FACS). Las células de la estirpe celular de cáncer de mama BT-474-M3 (una variante de BT-474 que sobreexpresa ErbB2), se pretrataron con 1 μM de B2B3-1, y después se incubaron con 10 nM de dominio de HRG 1β EGF biotinilado. Tras el lavado a conciencia, se evaluó la unión usando el conjugado de estreptavidina-AlexaFluor 647. Todas las

incubaciones se llevaron a cabo a 4°C. La Figura 7 muestra que B2B3-1 es capaz de bloquear la unión de HRG a ErbB3.

Ejemplo 8

Después de demostrar la capacidad de B2B3-1 para bloquear la unión de HRG a ErbB3, se investigó el efecto de B2B3-1 sobre la señalización de ErbB3 *in vitro* sobre dos estirpes celulares que expresan ErbB3 y sobreexpresan ErbB2. Las estirpes celulares de cáncer de mama BT-474-M3 y ZR75-30 se privaron de suero toda la noche, se pretrataron con una dosis de B2B3-1 durante 24 horas hasta que se alcanzó el efecto deseado, y después se estimularon durante 10 minutos con 5 nM de dominio de HRG 1 β EGF. Entonces se examinó el estado de fosforilación de ErbB3 y AKT, usando un ensayo de ELISA. Los resultados muestran que B2B3-1 inhibe de una manera dependiente de la dosis la activación inducida por HRG de la fosforilación tanto de ErbB3 como de AKT, y con IC₅₀s potentes en ambas estirpes celulares (Figuras 8A-D).

Ejemplo 9

La Figura 9 muestra el efecto del tratamiento con B2B3-1 sobre proteínas de señalización en células de cáncer de mama BT474. Las células se trataron con un intervalo de dosis de B2B3-1 durante 24 horas, seguido de la estimulación con heregulina. Los niveles de pErbB2, pErbB3, pErk y pAKT, y sus niveles de proteínas totales correspondientes, se determinaron en lisados celulares mediante análisis de transferencia Western.

Ejemplo 10

La Figura 10 muestra el análisis de inmunoprecipitación y transferencia Western de células de cáncer de mama BT474 tratadas con B2B3-1. Las células se trataron con un intervalo de dosis de B2B3-1 durante 24 horas, seguido de la estimulación con heregulina. Los complejos asociados a ErbB2 se aislaron de los lisados celulares usando un anticuerpo anti-ErbB2, seguido del análisis de transferencia Western para detectar pErbB2 y pErbB3 y sus niveles de proteínas totales correspondientes.

Ejemplo 11

Se investigó *in vitro* la actividad antitumoral de B2B3-1 usando un número de ensayos. En el primer ensayo, se examinó el efecto de B2B3-1 sobre la acumulación de células BT-474 o SKBR3 en la fase G1 y la disminución concomitante en la fase S del ciclo celular. De forma breve, las células se trataron con 1 μ M de B2B3-1 o vehículo de PBS, durante 72 horas. Después del final del tratamiento, las células se tripsinizaron, se resuspendieron suavemente en disolución hipotónica que contiene yoduro de propidio, y se analizaron las células individuales mediante citometría de flujo. La distribución del ciclo celular en las fases G1 y S se midió usando algoritmos de ajustes de curvas diseñados para el análisis del ciclo celular (plataforma de software de ciclo celular de FlowJo). Se encontró que B2B3-1 disminuye de forma modesta el porcentaje de células en la fase S e incrementa la población de células en la fase G1 (Figura 11A). En un segundo experimento, se estudió el número de colonias celulares formadas tras el tratamiento con B2B3-1. Células de cáncer de mama BT-474 y SKBR3 se colocaron en placas en presencia de 1 μ M de B2B3-1, y se compararon con células colocadas en placas en medio solamente. El medio solamente o el medio que incluye tratamiento se llenó cada 3 días. Después de 14 días, se contó el número de colonias y se comparó con las células no tratadas. La Figura 11B ilustra la disminución del 40-45% en el número de colonias formadas cuando las células se tratan con B2B3-1 en comparación con células de control. Finalmente, se evaluó la capacidad de B2B3-1 para inhibir la proliferación celular en un ensayo de impedancia celular usando un sistema Sensor Electrónico Celular en Tiempo Real (RT-CES: ACEA Biosciences). Se sembraron células BT-474 en placas integradas con matrices de sensores microelectrónicos, y se trataron con una dosis de B2B3-1 o de medio solamente, durante 72 horas, hasta que se alcanzó el efecto deseado. Se recogieron cada hora durante 72 horas datos que reflejan la generación de una respuesta de impedancia del electrodo celular, y los valores de IC₅₀ se calcularon 68 horas después del tratamiento. La Figura 11C ilustra que B2B3-1 fue capaz de inhibir la impedancia de células BT-474 con una IC₅₀ de 33 nM.

Ejemplo 12

También se investigó si B2B3-1 muestra actividad agonista basada en su capacidad para simultáneamente unirse a y reticular receptores de ErbB2 y ErbB3. Células de cáncer de mama ZR75-1 privadas de suero se incubaron con 1 μ M de B2B3-1 o con vehículo de PBS, durante 24 horas. Las células también se trataron con B2B3-1 o con vehículo de PBS, durante 24 horas después de una estimulación durante 10 minutos con 5 nM del dominio de HRG 1 β EGF. Las células se lisaron, y el contenido de pErbB3 de los lisados se evaluó mediante ELISA. La Figura 12 muestra que las células tratadas con B2B3-1 solo contenían niveles comparables de ErbB3 fosforilado como las células no tratadas, indicando que B2B3-1 no es agonista.

Ejemplo 13

Se investigó mediante ELISA la capacidad de B2B3-1 para unirse con especificidad a ErbB2 y ErbB3 y no a miembros de la familia de ErbB relacionados, EGFR y ErbB4. Se revistieron placas con el dominio extracelular recombinante de ErbB2 o ErbB3. Las placas se bloquearon y se incubaron con una concentración de unión

semimáxima de B2B3-1 en presencia de una serie de diluciones de dominios extracelulares recombinantes competitivos de EGFR, ErbB2, ErbB3 o ErbB4. Los resultados muestran que solamente el dominio extracelular de ErbB2 soluble bloqueó la unión de B2B3-1 a placas revestidas con ErbB2 (Figura 13A). Igualmente, solamente el dominio extracelular de ErbB3 soluble bloqueó la unión de B2B3-1 a placas revestidas con ErbB3 (Figura 13B).

- 5 Estos resultados demuestran la especificidad del brazo de B1D2 anti-ErbB2 por ErbB2, y del brazo H3 anti-ErbB3 por ErbB3. La mayor señal observada cuando el dominio extracelular de ErbB2 soluble se incubó con B2B3-1 en la placa revestida con ErbB3 se supone que es debida a la formación de un complejo de ErbB2, ErbB3, B2B3-1 en la placa.

Ejemplo 14

- 10 Se estudió la capacidad de B2B3-1 para unirse ávidamente a células tumorales que expresan tanto ErbB2 como ErbB3. SKO2 y SKO3 son variantes de B2B3-1 que carecen de la capacidad para interactuar con ErbB2 o ErbB3, respectivamente. Células de melanoma MALME-3M, que expresan números aproximadamente iguales de receptores de ErbB2 y ErbB3, se incubaron con una serie de diluciones de B2B3-1, SKO2, o SKO3, en presencia de 15 concentraciones saturantes de anticuerpo conjugado con Alexafluor-647 anti-HSA de cabra. La unión celular se evaluó mediante citometría de flujo, y las afinidades de unión aparentes se determinaron para cada molécula. Las células del control se incubaron con anticuerpo secundario solo. No se observó unión celular medible para SKO2, que retiene sólo unión de baja afinidad a ErbB3, y carece de actividad de unión a ErbB2. SKO3, que retiene un scFv de unión a ErbB2 de alta afinidad, funcional, pero que carece de la capacidad para unirse a ErbB3 tuvo una K_D de 6,7 nM. B2B3-1 se une a células con una K_D de 0,2 nM, demostrando unión de avidez de esta molécula biespecífica 20 (Figura 14).

Ejemplo 15

- 25 La estabilidad de B2B3-1 en condiciones fisiológicas se evaluó incubando 100 nM de B2B3-1 en suero humano, de macaco, o de ratón a 37°C durante un período de 120 horas. Las muestras se retiraron a 0, 24, 48, 72, 96 y 120 horas, y se midió la capacidad de B2B3-1 para unirse tanto a ErbB2 y ErbB3 mediante ELISA. Este ELISA implica revestir una placa de 96 pocillos con el dominio extracelular de ErbB2 recombinante toda la noche después de una etapa de bloqueo, y la posterior incubación con una serie de diluciones de B2B3-1. Las placas se incuban entonces 30 con una proteína de fusión de Fc con el dominio extracelular de ErbB3, seguido de un conjugado de cabra anti-Fc humano-HRP. Las placas se desarrollaron mediante adición de sustrato quimioluminiscente Supersignal. Las Figuras 15A-C muestran que B2B3-1 permanece estable en suero procedente de estas tres especies en condiciones fisiológicas, reteniendo una capacidad comparable para unirse tanto a ErbB2 como a ErbB3 en todos los puntos de tiempo medidos.

Ejemplo 16: Respuesta Frente a la Dosis de B2B3-1 en Modelo de Xenoinjerto de Cáncer de Mama BT-474-M3.

- 35 La eficacia de B2B3-1 *in vivo* se evaluó usando ratones atípicos que poseen xenoinjertos BT-474-M3. Se trajeron diez ratones por grupo con 12 dosis de 0,3, 1, 3, 10, 30 ó 90 mg/kg de B2B3-1 cada 3 días. A los grupos de control 40 se les administró vehículo de PBS o HSA a una dosis equimolar a la dosis de B2B3-1 90 mg/kg. Todas las dosis se administraron intraperitonealmente (i.p.). El tamaño tumoral se midió dos veces por semana, y se calculó el volumen tumoral correspondiente. Los resultados muestran que el tratamiento con B2B3-1 conduce a una reducción significativa en el tamaño del tumor BT-474-M3 en comparación con el grupo de control (Figura 16). Se observaron regresiones completas en cada uno de los grupos de tratamiento con B2B3-1, excepto los ratones tratados con la dosis más baja de B2B3-1 (0,1 mg/kg).

Ejemplo 17

- 45 Como se muestra en las Figuras 17A-E, B2B3-1 es eficaz en modelos de múltiples xenoinjertos de una manera dependiente de ErbB2. B2B3-1 fue eficaz en los modelos de xenoinjertos Calu-3 (Figura 17A), SKOV-3 (Figura 17B), NCI-N87 (Figura 17C), y MDA-MB-361 (Figura 17E) que expresan ErbB2 a $> 1 \times 10^5$ receptores/célula, pero funcionó menos bien en el modelo de xenoinjerto ACHN (Figura 17D) que expresa $4,5 \times 10^4$ receptores de ErbB2/célula. Los ratones se trajeron con 30 mg/kg de B2B3-1 cada 3 días.

Ejemplo 18

- 50 La sobreexpresión de ErbB2 convierte el modelo de xenoinjerto de cáncer de mama ADrr no respondedor a B2B3-1 en un respondedor a B2B3-1 (Figuras 18A-B). ErbB2 se sobreexpresó en células de cáncer de mama ADrr usando un sistema de expresión retroviral. Las células transfectadas que expresan niveles elevados de ErbB2 (ADrr-E2) se seleccionaron usando FACS y se inyectaron subsiguientemente de forma subcutánea en ratones atípicos para establecer tumores de xenoinjerto. Los ratones se trajeron con 30 mg/kg de B2B3-1 cada 3 días. Mientras que no se observó respuesta a B2B3-1 en xenoinjertos de ADrr de tipo salvaje (Figura 18A), los xenoinjertos de ADrr-E2 55 (Figura 18B) respondieron a B2B3-1.

Ejemplo 19

Como se muestra en las Figuras 19A-B, la actividad de B2B3-1 se correlaciona positivamente con los niveles de expresión de ErbB2 *in vitro* (Figura 19A) e *in vivo* (Figura 19B). La inhibición de la fosforilación de ErbB3 por B2B3-1 se determinó en 9 estirpes celulares tumorales con niveles de expresión de ErbB2 que oscilan de 5×10^4 receptores/célula a $2,4 \times 10^6$ receptores/célula, usando un ensayo ELISA. Se encontró que el grado de la capacidad de B2B3-1 para inhibir la fosforilación de ErbB3 hasta niveles basales (% de inhibición de pErbB3) se correlaciona positivamente con los niveles de expresión de ErbB2. De forma similar, se evaluó la actividad de B2B3-1 en 10 modelos de xenoinjerto tumoral que expresan niveles bajos a altos de ErbB2. La respuesta de los xenoinjertos también se correlacionó positivamente con los niveles de expresión de ErbB2.

5

Ejemplo 20

- 10 El tratamiento de células de tumor de mama BT474-M3 con B2B3-1 da como resultado la translocación de p27^{kip1} al núcleo (Figura 20A). Se trataron células BT474-M3 con 1 μ M de B2B3-1 durante 6 horas. La localización subcelular de p27^{kip1} se evaluó usando técnicas de inmunofluorescencia. En células tratadas con B2B3-1, p27^{kip1} se translocó al núcleo, lo que se ha demostrado que da como resultado la inhibición de la proliferación celular. p27^{kip1} permaneció en el citoplasma de células no tratadas.
- 15 Para estudiar adicionalmente el efecto de B2B3-1 sobre el ciclo celular, se sondaron células BT-474-M3 tratadas con B2B3-1 durante 72 horas para el regulador del ciclo celular Ciclina D1 usando el análisis de transferencia Western (Figura 20B). En este experimento, como control de carga de proteína, se usó la proteína citoesquelética vinculina. El tratamiento con B2B3-1 dio como resultado una disminución en los niveles de Ciclina D1 en comparación con células no tratadas.

20

Ejemplo 21

- Como se muestra en las Figuras 21A-B, el tratamiento de xenoinjertos de tumor de mama BT474-M3 con B2B3-1 da como resultado la translocación de p27^{kip1} al núcleo. Se trataron xenoinjertos de tumor de mama BT474 con B2B3-1 (Figuras 21A) a una dosis de 30 mg/kg o una dosis equimolar de HSA (Figuras 21B) cada 3 días durante un total de 4 dosis. Se observó una mayor tinción nuclear para p27^{kip1} en tumores tratados con B2B3-1 en comparación con tumores del control de HSA, indicando un efecto anti-proliferativo de B2B3-1 *in vivo*.

25

Ejemplo 22

- El tratamiento con B2B3-1 da como resultado una reducción del marcador de proliferación Ki67 en tumores de xenoinjerto de cáncer de mama BT474. Se trataron xenoinjertos de tumor de mama BT474-M3 con B2B3-1 (Figura 22A) a una dosis de 30 mg/kg o con una dosis equimolar de HSA (Figura 22B) cada 3 días durante un total de 4 dosis. La tinción subsiguiente de secciones tumorales para Ki67 demostró un patrón de expresión reducida para tumores tratados con B2B3-1 en comparación con tumores tratados con HSA.

30

Ejemplo 23

- El tratamiento con B2B3-1 da como resultado una reducción de la densidad de vasos en tumores de xenoinjerto de cáncer de mama BT474-M3, según se determina mediante evaluación de la expresión de CD31 (Figuras 23A-B). Xenoinjertos de tumor de mama BT474 se trataron con B2B3-1 (Figura 23A) a una dosis de 30 mg/kg, o con una dosis equimolar de HSA (Figura 23B), cada 3 días durante un total de 4 dosis. Los tumores se tiñeron en busca de la presencia del marcador vascular CD31. Los tumores tratados con B2B3-1 muestran una disminución notable en la densidad de vasos en comparación con tumores de control tratados con HSA.

35

Ejemplo 24: B2B3-1 Inhibe la Fosforilación de ErBB3 *In Vivo*.

- 40 Se trataron tumores de xenoinjerto BT-474-M3 con 30 mg/kg de B2B3-1 o con 17,5 mg/kg de HSA cada 3 días durante un total de 4 dosis, y los tumores se cosecharon 24 horas después de la dosis final. Los tumores se lisaron y se sometieron a SDS-PAGE seguido de análisis Western, para evaluar niveles relativos de fosforilación de ErbB3 diana de B2B3-1. Se cargaron cantidades iguales de proteína en cada línea, y los niveles de proteínas totales se controlaron sondando para beta tubulina. El análisis de transferencia Western que usa anticuerpos específicos para ErbB3 fosforilado muestra que los tumores tratados con B2B3-1 contienen menos pErbB3 que los tumores tratados con HSA (Figura 24A). La densitometría del análisis de transferencia western seguida de la normalización de la intensidad de la banda integral de pErbB3 media a la intensidad de la banda integral de beta tubulina media demostró que los tumores tratados con B2B3-1 contenían significativamente menos pErbB3 que los tumores tratados con HSA de control (Figura 24B). Estos datos confirmaron que B2B3-1 inhibe la fosforilación de su diana ErbB3 *in vivo*.

45

Ejemplo 25: Actividad *In Vivo* de B2B3-1 en Xenoinjertos BT-474-M3 que Tienen Actividad de PTEN Reducida.

50

- Se aplicó la tecnología de ShRNA para genosuprimir la actividad del gen supresor de tumores homólogo de fosfatasa y tensina (PTEN) en células de cáncer de mama BT-474-M3. De forma breve, células BT-474-M3 cultivadas se transfecionaron con shPTEN o shControlRNA mediante transfección retroviral. Las células transfecionadas

con PTEN reducido se seleccionaron usando FACS y posteriormente se inyectaron subcutáneamente en el flanco derecho de ratones atípicos para establecer tumores de xenoinjertos. En el flanco derecho del mismo ratón, se inyectaron células transfectadas con un vector de control. Los ratones se trataron con 30 mg/kg de B2B3-1 cada 3 días, o con 10 mg/kg de herceptina cada semana. Se inyectó HSA como control a una dosis equimolar a B2B3-1.

5 Todas las inyecciones se realizaron i.p.

B2B3-1 y herceptina promovieron una reducción en el tamaño de los tumores formados por células de cáncer de mama BT-474-M3 (Figura 25A), mientras que solamente B2B3-1 (y no herceptina) promovió una reducción en el tamaño de tumores formados por células de cáncer de mama BT-474-M3 que carecen de expresión de PTEN (Figura 25B).

10 **Ejemplo 26: B2B3-1 Inhibe la Señalización de ErBB3 en Células de Cáncer de Mama BT-474-M3 que Tienen una Actividad de PTEN Reducida.**

Se estudió la capacidad de B2B3-1 para inhibir la fosforilación de la señalización de ErbB3 en xenoinjertos tumorales usando el modelo de BT-474-M3 deficiente en PTEN. Tumores de xenoinjertos de la estirpe celular manipulada o de la estirpe celular de control se trataron con 30 mg/kg de B2B3-1, 17,5 mg/kg de HSA cada 3 días, o con 10 mg/kg de herceptina semanalmente, y los tumores se cosecharon 24 horas después de la dosis final. Los tumores se lisaron y se sometieron a SDS-PAGE seguido del análisis Western, para evaluar niveles relativos de fosforilación de la diana de B2B3-1 ErbB3, AKT y niveles totales de PTEN. Se cargaron cantidades iguales de proteína en cada línea, y los niveles de proteínas totales se controlaron sondando para PCNA. El análisis de transferencia Western que usa anticuerpos específicos para ErbB3 fosforilado muestra que los tumores tratados con B2B3-1 contienen menos pAKT que los tumores tratados con HSA o tratados con herceptina (Figura 26A). La densitometría del análisis de transferencia Western seguido de la normalización de la intensidad de la banda integral de pAKT media a la intensidad de la banda integral de PCNA media demostró que los tumores tratados con B2B3-1 contenían significativamente menos pAKT que los tumores tratados con HSA de control y los tratados con herceptina (Figura 26B).

25 **Ejemplo 27**

Se investigaron los parámetros farmacocinéticos para B2B3-en ratones nu/nu. Los animales se distribuyeron al azar en grupos y se les administró intravenosamente (IV) una única dosis de 5, 15, 30, o 45 mg/kg de B2B3-1 (Figuras 27A-D, respectivamente). Se recogió sangre de predosis y a 0,5, 4, 8, 24, 48, 72, y 120 horas post dosis. Se usaron tres ratones para cada punto de tiempo. Los niveles séricos de B2B3-1 se midieron usando dos métodos de ELISA. El primer método requiere la unión funcional de B2B3-1 tanto a ErbB2 como a ErbB3 mientras que el segundo método mide solamente el componente de HSA de B2B3-1 en el suero. El ELISA de HSA utiliza un anticuerpo de captura polyclonal anti-HSA y un anticuerpo de detección polyclonal anti-HSA conjugado con HRP. Una reducción en la concentración sérica de B2B3-1 medida usando el método de unión a ErbB2/ErbB3 frente al método de HSA indicaría una pérdida en B2B3-1 funcional. Las Figuras 27A-D muestran que las propiedades farmacocinéticas de B2B3-1 son comparables cuando se evalúan usando cualquier método de ELISA, indicando que B2B3-1 es estable en circulación en ratones.

30 **Ejemplo 28**

40 Las concentraciones séricas de B2B3-1 se ajustaron usando un modelo biexponential de dos compartimentos, y mostraron disposición bifásica. Se calcularon las semividas terminales, que eran 17, 16, 23, y 18 h para las dosis de 5, 15, 30, ó 45 mg/kg, respectivamente, y se muestran en la Tabla 4. Los incrementos en la dosis de B2B3-1 dieron como resultado un incremento lineal en la exposición (Figura 28).

Tabla 4: Propiedades farmacocinéticas de B2B3-1 en ratones y macacos.

Dosis (mg/kg)	Especie	N	T½β (h)	AUC (h-μg/ml)	Aclaramiento (ml/h/kg)
5	Ratón (dosis única)	3	16,9	1,58E+03	3,19
15	Ratón (dosis única)	3	16,2	6,10E+03	2,47
30	Ratón (dosis única)	3	22,6	1,18E+04	2,54
45	Ratón (dosis única)	3	17,5	1,84E+04	2,46
4	Macaco (1ª dosis)	2	39,1	3,44E+03	1,17
4	Macaco (4ª dosis)	2	44,9	7,20E+03	0,60
20	Macaco (1ª dosis)	2	33,1	2,29E+04	0,88

20	Macaco (4 ^a dosis)	2	122,5	8,20E+04	0,25
200	Macaco (1 ^a dosis)	4	68,8	3,18E+05	0,64
200	Macaco (4 ^a dosis)	2	69,7	5,72E+05	0,35
200	Macaco (4 ^a dosis)*	2	66,6	5,99E+05	0,34
* animales de recuperación					

Ejemplo 29

También se obtuvieron muestras de sangre para el análisis farmacocinético a partir de un estudio toxicológico de hallazgo de intervalo de dosis en macacos hembra. En este estudio, a los animales se les infundió con 4, 20 ó 200 mg/kg de B2B3-1 administrado cada 3 días durante 4 dosis. La toma de muestras se produjo antes de y 5 minutos después de la dosificación en cada día de dosificación (días 1, 4, 7 y 10 del estudio) para proporcionar concentraciones de predosis y pico/valle, y a 1, 2, 4, 8, 24 y 48 horas después del final de la primera infusión en el día 1, y a 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72 y 120 horas después de la última infusión en el día 10. Para animales de recuperación dosificados a 200 mg/kg, también se recogieron muestras de suero a 168, 336 y 456 horas después de la última infusión.

Las muestras de suero de los macacos se evaluaron usando el método de ELISA de ErbB2/ErbB3 descrito previamente. En la Figura 29 se muestran las concentraciones séricas para cada dosis durante el transcurso de tiempo. El análisis mostró que los perfiles de concentración media/tiempo para B2B3-1 en suero tras la dosificación en los días 1 y 10 fueron cualitativamente similares a concentraciones generalmente que van disminuyendo con el tiempo desde la Cmax. Las estimaciones de la semivida media oscilaron de 38,3-67,2 horas en el día 1, y 45,0 a 121,0 horas en el día 10 (Tabla 4).

Ejemplo 30

El plásmido que codifica la proteína de fusión de anticuerpo scFv biespecífico B2B3-1 se creó combinando secuencias génicas de un scFv humano anti-ErbB3 (denominado "H3"), un scFv humano anti-ErbB2 (denominado "B1D2"), y un ligador de seroalbúmina humana (HSA) modificada. El scFv anti-ErbB3, H3, está enlazado recombinantemente al término amino del ligador de HSA vía un péptido conectar (Ala-Ala-Ser), y el scFv anti-ErbB2, B1D2, está enlazado genéticamente al término carboxi del ligador de HSA vía un péptido conectar (Ala-Ala-Ala-Leu). Los conectores peptídicos se formaron mediante la introducción de sitios de restricción durante la construcción del vector de expresión de mamífero, y se sintetizaron con uso de codones optimizado para la expresión de mamífero junto con los fragmentos de anticuerpo monocatenarios y el ligador de HSA.

El scFv de B1D2 se seleccionó a partir de una librería de presentación de fagos combinatoria creada mediante mutagénesis del scFv de unión a ErbB2 C6.5, que se seleccionó a partir de una librería de presentación de fagos no inmunitaria. El scFv de H3 se seleccionó a partir de una librería de presentación de fagos no inmunitaria obtenida originalmente por Sheets et al. Las secuencias génicas que codifican los fragmentos de anticuerpo monocatenarios B1D2 y H3 se optimizaron para las preferencias de los codones de células CHO, y se sintetizaron para la construcción subsiguiente del plásmido codificante de B2B3-1.

El ligador de HSA modificada contiene dos sustituciones de aminoácidos. Un resto de cisteína en la posición 34 se mutó a serina a fin de reducir la potencial heterogeneidad proteica debido a oxidación en este sitio. Un resto de asparagina en el aminoácido 503 se mutó a glutamina, que en HSA de tipo salvaje es sensible a desaminación y puede dar como resultado una menor semivida farmacológica.

La secuencia génica que codifica el ligador de HSA modificada se sintetizó con el uso optimizado de codones para la expresión de mamífero para la construcción subsiguiente del plásmido codificante de B2B3-1.

Ejemplo 31

La secuencia codificante de B2B3-1 se clonó en el vector base pMP10k usando técnicas de biología molecular estándar para crear el plásmido pMP10k4H3-mHSA-B1D2, mostrado en la Figura 30. Para la mayor parte, este constructo emplea elementos genéticos usados habitualmente. La expresión de B2B3-1 es conducida por el promotor GAPDH humano. Este vector utiliza elementos genéticos denominados regiones de fijación a la matriz o elementos MAR. Los elementos genéticos MAR controlan la organización dinámica de cromatina, y aislan genes cercanos del efecto de la cromatina circundante, incrementando de ese modo la expresión de genes dependiente del número de copias e independiente de la posición. Se ha mostrado que los elementos MAR mejoran la probabilidad de aislar un clón que muestra el nivel deseado de expresión para la producción de una proteína recombinante, e incrementan la estabilidad de producción. Los elementos MAR usados en los constructos de B2B3-1 son elementos MAR humanos no codificantes. Además del plásmido de B2B3-1, también se usó un plásmido de resistencia al

antibiótico neomicina (Figura 31) y un plásmido de resistencia a higromicina (Figura 32), para seleccionar transformantes estables.

Ejemplo 32: Primera Ronda de Transfección Génica

Las células de ovario de hámster chino CHO-K1 se adquirieron de ATCC (ATCC # CCL-61). La estirpe celular CHO-K1 es un subclón adherente dependiente de suero y de prolina de la estirpe celular CHO progenitora creada por T.T. Puck. Las células CHO-K1 usadas para la transfección de B2B3-1 se preadaptaron para el crecimiento en suspensión en medio libre de suero, antes de la transfección. Se usó un procedimiento de transfección iterativa para desarrollar la estirpe celular de B2B3-1. Veinticuatro horas antes de la transfección, las células CHO-K1 se subpasaron a $1,0 \times 10^6$ células/ml en medio SFM4CHO (libre de suero) (HyClone, Logan, UT) suplementado con 8 mM de L-glutamina, 0,1 mM de hipoxantina sódica, y 0,016 mM de timidina. En el día de la transfección, las células se resuspendieron en medio OptiMEM (Invitrogen Corp, Carlsbad, CA), y se colocaron 40.000 células en cada pocillo de una placa de veinticuatro pocillos. En la primera transfección, el plásmido de expresión de B2B3-1 (pMP10k4H3-mHSA-B1D2) y el plásmido de resistencia a neomicina (Figura 30; pSV2-neo (Selexis, Inc., Marlborough, MA) se mezclaron juntos usando una relación de plásmidos molar de 75:1 (B2B3-1:resistencia a neomicina). La mezcla de plásmidos se mezcló subsiguientemente con un reactivo de transfección lipídico catiónico (Lipofectamine LTX, Invitrogen Corp, Carlsbad, CA), y se dejó que se formasen complejos de lípido/ADN durante treinta minutos. El complejo de ADN/lípido se añadió entonces a las células CHO-K1 y las placas de 24 pocillos se colocaron en una incubadora de CO₂ al 5% a 37°C.

Ejemplo 33: Selección y Cribado de Productores Elevados

Los contenidos de cada pocillo de transfección se lavaron con PBS, se tripsinizaron y se distribuyeron a lo largo de dos placas de noventa y seis pocillos. El medio de crecimiento usado consistió en DMEM/F12 (Invitrogen Corp, Carlsbad, CA) con 10% de FBS (Invitrogen Corp, Carlsbad, CA) y 500 mg/l de genetina (G418; Invitrogen Corp, Carlsbad, CA). El medio en las placas de 96 pocillos se cambió en el día 4 a medio SFM4CHO suplementado con 8 mM de L-glutamina, 0,1 mM de hipoxantina sódica, 0,016 mM de timidina, y 500 mg/l de genetina. Tras dos semanas adicionales de cultivo en medio de selección, las células supervivientes habían formado colonias bien definidas. Los clones se evaluaron usando técnicas de transferencia de punto cuantitativas. Las colonias más productoras se tripsinizaron y se expandieron a un único pocillo de una placa de 24 pocillos.

Se usó un ensayo de productividad de siete días para cribar colonias muy productoras de B2B3-1. Con la expansión, se dejó que las células en las placas de 24 pocillos proliferasen durante siete días en medio SFM4CHO suplementado con 8 mM de L-glutamina, 0,1 mM de hipoxantina sódica, y 0,016 mM de timidina. Se determinó la concentración de B2B3-1 en el medio gastado. Los mejores clones de la escala de 24 pocillos se expandieron en matraces de agitación de 125 ml con placas deflectoras. Se usó un estudio de siete días en el matraz de agitación en medio SFM4CHO suplementado con 8 mM de L-glutamina, 0,1 mM de hipoxantina sódica, y 0,016 mM de timidina para identificar los conjuntos de células para crecimiento y producción de B2B3-1.

Ejemplo 34: Segunda Ronda de Transfección Génica

El conjunto de células con la producción más elevada, determinado a partir de la primera ronda de transfección (*más arriba*), se transfeció una segunda vez para incrementar la producción. Veinticuatro horas antes de la transfección, el conjunto de células se subpasó a $1,0 \times 10^6$ células/ml en medio SFM4CHO (libre de suero) suplementado con 8 mM de L-glutamina, 0,1 mM de hipoxantina sódica, y 0,016 mM de timidina. En el día de la transfección, las células se resuspendieron en medio OptiMEM (Invitrogen Corp, Carlsbad, CA), y se colocaron 40.000 células en cada pocillo de una placa de veinticuatro pocillos. En la primera transfección, el plásmido de B2B3-1 y de resistencia a higromicina (Figura 32; pTK-Hyg (Clontech, Mountain View, CA)) se mezclaron juntos usando una relación de plásmidos molar de 50:1 (B2B3-1:resistencia a higromicina). La mezcla de plásmidos se mezcló subsiguientemente con un reactivo de transfección lipídico catiónico (Lipofectamine LTX, Invitrogen Corp), y se dejó que se formasen complejos de lípido/ADN durante treinta minutos. El complejo de ADN/lípido se añadió entonces al conjunto de células, y las placas de 24 pocillos se colocaron en una incubadora de CO₂ al 5% a 37°C.

Ejemplo 35: Selección y Cribado para Productores Elevados Procedentes de la Segunda Transfección

Los contenidos de cada pocillo de transfección se lavaron con PBS, se tripsinizaron y se distribuyeron a lo largo de dos placas de 96 pocillos. El medio de crecimiento usado consistió en DMEM/F 12 suplementado con 10% de FBS y 400 mg/l de higromicina B (Invitrogen Corp). El medio en las placas de 96 pocillos se cambió en el día 4 a medio SFM4CHO de Hyclone suplementado con 8 mM de L-glutamina, 0,1 mM de hipoxantina sódica, 0,016 mM de timidina y 400 mg/l de higromicina B. Después de dos semanas adicionales de selección, las células supervivientes habían formado colonias bien definidas. Los clones se evaluaron usando técnicas de transferencia de punto cuantitativas. Las colonias más productoras se tripsinizaron y se expandieron a un único pocillo de una placa de 24 pocillos.

Se usó un ensayo de productividad de siete días para identificar colonias muy productoras de B2B3-1. Con la expansión, se dejó que las células proliferasen durante siete días, y se determinó la concentración de B2B3-1 en el medio gastado.

Los mejores clones de las placas de 24 pocillos se expandieron en matraces de agitación de 125 ml con placas deflectoras en el medio SFM4CHO de Hyclone suplementado con 8 mM de L-glutamina, 0,1 mM de hipoxantina sódica, y 0,016 mM de timidina. Se usó un estudio de siete días en matraz de agitación para identificar los conjuntos de células para el crecimiento y producción de B2B3-1. El medio gastado se cuantificó usando resina de Protein A y un instrumento de HPLC.

Ejemplo 36: Clonación por Dilución Limitante

La colonia que mejor crece y produce mayor cantidad de B2B3-1 identificada mediante el ensayo de productividad se transfirió desde el matraz agitador de 125 ml y se colocó en cinco placas de 96 pocillos a una concentración celular calculada para dar una célula/pocillo. Las placas de 96 pocillos se colocaron en una incubadora a 37°C y 5% de CO₂. Los pocillos se examinaron bisemanalmente para monitorizar la formación de colonias. Las colonias que surgen de una única célula se identificaron basándose en la forma simétrica de la colonia. Los pocillos que contienen tales colonias se marcaron para el cribado posterior mediante evaluación de 7 días en 24 pocillos, y evaluación de 7 días en matraz agitador de 125 ml.

La segunda ronda de clonación por dilución limitante se llevó a cabo de manera similar a la primera ronda. Para confirmar la elección del clon, se llevó a cabo una evaluación de lote alimentado de 100 ml adicional. Se criopreservó un banco de presiembra.

Ejemplo 37: Formulación de B2B3-1

B2B3-1 se puede administrar una vez a la semana vía infusión intravenosa durante un período de 60 ó 90 minutos, dependiendo de la tolerabilidad del paciente. B2B3-1 se puede formular en una disolución estéril de pH 6,5 de 20 mM de hidrocloruro de L-histidina, 150 mM de cloruro de sodio, a una concentración de 25 mg/ml para administración a un paciente (por ejemplo, un ser humano).

Ejemplo 38: Tratamiento de Cáncer de Mama

Un ligador de HSA de la invención (por ejemplo, B2B3-1; SEC ID NO:16) se puede administrar a un paciente diagnosticado con cáncer de mama. Por ejemplo, un paciente cuyo cáncer se ha diagnosticado que expresa niveles elevados de receptores del factor de crecimiento epidérmico, tal como ErbB2 (HER2/neu), se puede tratar con un ligador de HSA unido conjuntamente a un resto de unión de ErbB2. Un médico que proporciona cuidados a un paciente diagnosticado con un cáncer de mama puede administrar un ligador de HSA de la invención adecuado y capaz de proporcionar el mejor beneficio terapéutico al paciente. La selección de, por ejemplo, los restos de unión, unidos conjuntamente a un ligador de HSA de la invención, se puede basar en determinantes clínicos del paciente y en la variante específica del cáncer. Por ejemplo, los cribados genotípicos o histológicos de biopsias de cáncer pueden revelar mayor expresión de ErbB2, que un ligador de HSA de la invención que incorpora un resto de unión anti-ErbB2 (por ejemplo, B2B3-1) se puede usar terapéuticamente.

En una realización de la invención, B2B3-1 se puede administrar a un paciente diagnosticado con cáncer de mama una vez a la semana vía infusión intravenosa durante un período de, por ejemplo, 60 ó 90 minutos, dependiendo de la tolerabilidad del paciente. B2B3-1 se puede formular en una disolución estéril de pH 6,5 de 20 mM de hidrocloruro de L-histidina, 150 mM de cloruro de sodio, a una concentración de 25 mg/ml para administración a un paciente (por ejemplo, un ser humano). Un médico que supervise la administración de B2B3-1 o cualquier otro ligador de HSA de la invención puede seguir prácticas de formulación y dosificación habituales para determinar el curso apropiado de terapia para cualquier paciente dado.

La invención proporciona además la coadministración de uno o más fármacos o compuestos terapéuticos en combinación con el ligador de HSA de la invención (por ejemplo, B2B3-1; SEC ID NO:16), tal como el régimen quimioterapéutico habitual para el tratamiento de cáncer de mama que incluye doxorubicina, ciclofosfamida, y paclitaxel. Como alternativa, un médico puede administrar el ligador de HSA de la invención (por ejemplo, B2B3-1) en combinación con terapia quirúrgica o de radiación, para tratar cáncer de mama en un paciente que lo necesite.

Ejemplo 39: Tratamiento de Cáncer Ovárico

Un ligador de HSA de la invención se puede administrar a un paciente diagnosticado con cáncer ovárico (carcinoma ovárico); por ejemplo, un paciente cuyo cáncer se diagnostica por expresar niveles elevados de receptores del factor de crecimiento epidérmico, tal como ErbB2 (HER2/neu), se puede tratar con un ligador de HSA unido conjuntamente a un resto de unión de ErbB2. Un médico que proporciona cuidados a un paciente diagnosticado con un cáncer ovárico puede administrar un ligador de HSA de la invención adecuado y capaz de proporcionar el mejor beneficio terapéutico al paciente. La selección de, por ejemplo, los restos de unión, unidos conjuntamente a un ligador de HSA de la invención, se puede basar en determinantes clínicos del paciente y en la variante específica del cáncer. Por ejemplo, los cribados genotípicos o histológicos de biopsias de cáncer pueden revelar mayor expresión de ErbB2 u otras moléculas diana (por ejemplo, receptores o ligandos sobreexpresados específicos del cáncer), que se pueden seleccionar como dianas por un ligador de HSA de la invención que incorpora un resto de unión anti-ErbB2 (por ejemplo, B2B3-1) u otro resto de unión específico diana.

En una realización de la invención, B2B3-1 se puede administrar a un paciente diagnosticado con cáncer ovárico una vez a la semana vía infusión intravenosa durante un período de, por ejemplo, 60 ó 90 minutos, dependiendo de la tolerabilidad del paciente. B2B3-1 se puede formular en una disolución estéril de pH 6,5 de 20 mM de hidrocloruro de L-histidina, 150 mM de cloruro de sodio, a una concentración de 25 mg/ml para administración a un paciente (por ejemplo, un ser humano). Un médico que supervise la administración de B2B3-1 o cualquier otro ligador de HSA de la invención para el tratamiento de cáncer ovárico puede seguir prácticas habituales de formulación y dosificación (por ejemplo, inyección intraperitoneal) para determinar el curso apropiado de terapia para cualquier paciente dado.

La invención proporciona además la coadministración de uno o más fármacos o compuestos terapéuticos en combinación con el ligador de HSA de la invención (por ejemplo, B2B3-1; SEC ID NO:16). Como alternativa, un médico puede administrar un ligador de HSA de la invención en combinación con terapia quirúrgica o de radiación, para tratar cáncer ovárico en un paciente que lo necesite.

Ejemplo 40

Los conjugados del ligador de HSA de la invención se pueden construir usando uno o más de los elementos (grupos A-E) enumerados en la Tabla 5 más abajo. En particular, un ligador de HSA de la invención, que se muestra como Grupo C en la Tabla 5 más abajo, puede incorporar uno o más restos de unión seleccionados de los grupos A y E mostrados en la Tabla 5. Además, los conjugados del ligador de HSA también pueden incluir uno o más conectores peptídicos, que se seleccionan de los grupos B y D en la Tabla 5, en cada uno de los extremos terminales amino y carboxi del ligador de HSA. Los conectores peptídicos pueden estar repetidos o pueden estar truncados para incrementar o disminuir la longitud de la secuencia del conector.

La invención proporciona realizaciones específicas de los ligadores de HSA, conectores polipeptídicos, y restos de unión descritos anteriormente. La Tabla 6 enumera diez conjugados del ligador de HSA con restos de unión variables específicos de ErbB2 o específicos de ErbB3, así como conectores polipeptídicos, en los términos amino y carboxi de un ligador de HSA de la invención.

Tabla 6

Agente de la invención	Resto de Unión Amino Terminal	Conector N-Terminal	HSA	Conector C-Terminal	Resto de Unión Carboxi Terminal
B2B3-1 (SEC ID NO: 16)	H3 (SEC ID NO: 26)	AAS	mHSA (SEC ID NO: 1)	AAAL (SEC ID NO: 5)	B1D2 (SEC ID NO: 27)
B2B3-2 (SEC ID NO: 17)	A5 (SEC ID NO: 28)	AAS	mHSA (SEC ID NO: 1)	AAAL (SEC ID NO: 5)	B1D2 (SEC ID NO: 27)
B2B3-3 (SEC ID NO: 18)	A5 (SEC ID NO: 28)	AAS	mHSA (SEC ID NO: 1)	AAAL (SEC ID NO: 5)	F5B6H2 (SEC ID NO: 32)
B2B3-4 (SEC ID NO: 19)	A5 (SEC ID NO: 28)	AAS	mHSA (SEC ID NO: 1)	AAAL (SEC ID NO: 5)	ML3.9 (SEC ID NO: 29)
B2B3-5 (SEC ID NO: 20)	B12 (SEC ID NO: 30)	AAS	mHSA (SEC ID NO: 1)	AAAL (SEC ID NO: 5)	B1D2 (SEC ID NO: 27)
B2B3-6 (SEC ID NO: 21)	B12 (SEC ID NO: 30)	AAS	mHSA (SEC ID NO: 1)	AAAL (SEC ID NO: 5)	F5B6H2 (SEC ID NO: 32)
B2B3-7 (SEC ID NO: 22)	F4 (SEC ID NO: 31)	AAS	mHSA (SEC ID NO: 1)	AAAL (SEC ID NO: 5)	B1D2 (SEC ID NO: 27)
B2B3-8 (SEC ID NO: 23)	F4 (SEC ID NO: 31)	AAS	mHSA (SEC ID NO: 1)	AAAL (SEC ID NO: 5)	F5B6H2 (SEC ID NO: 32)
B2B3-9 (SEC ID NO: 24)	H3 (SEC ID NO: 26)	AAS	HSA (SEC ID NO: 3)	AAAL (SEC ID NO: 5)	B1D2 (SEC ID NO: 27)
B2B3-10 (SEC ID NO: 25)	H3 (SEC ID NO: 26)	AAS	mHSA (SEC ID NO: 1)	AAAL (SEC ID NO: 5)	F5B6H2 (SEC ID NO: 32)

Secuencia de aminoácidos del ligador de seroalbúmina humana (HSA) con sustituciones C34S y N503Q ("mHSA")

DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVIAFAAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAE
NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPRNECFLQHKDDNPNLPLRPEV
DVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPFYAPELFFAKRYKAATTECCQAADKAACLLP
KLDELRDEKGASSAKQRALKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAFAEVSKLVTDLTK
VHTECCCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD
LPSLAADFVESKDVKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCC
AAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPT
LVEVSRNLGKVGSKCKKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLV
NRRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQL
KAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL

SEC ID NO: 2

Secuencia nucleotídica del ligador de seroalbúmina humana (HSA) con sustituciones C34S y N503Q ("mHSA")

GACGCTACAAGAGCGAAGTGGCACATAGGTTCAAAGATCTGGCGAAGAGAACCTTA
AGGCCCTCGTCCTGATCGCTTCGCACAGTACCTCCAGCAGTCTCCCTTGAAAGATCAC
GTGAAACTGGTCAATGAGGTGACCGAATTGCCAAGACATGCGTGGCTGATGAGAGTG
CAGAAAACGTGACAAATCACTGCATACTCTTGGAGATAAGCTGTGCACCGTCGCC
ACACTCAGAGAGACTTATGGGGAAATGGCTGACTGTTGCCAAAACAGGAGCCTGAAC
GGAATGAGTGTTCCTCCAGCACAAGGATGACAACCCAAATCTGCCCCGCTCGCGA
CCTGAGGTCGATGTGATGTGACCGCCCTTCATGACAACCGAAGAGACATTCTGAAGA
AATACCTGTATGAAATTGCTCGTAGGCACCCATACTTTATGCCCGAGCTCCTGTTCT
TTGCAAAGAGATAACAAAGCTGCCTTCACTGAATGTTGCCAGGCTGATAAGGCCGC
ATGTCTCCTGCCTAAACTGGACGAGCTCCGGATGAAAGGTAAAGGCTCAGCGCCAAA
CAGCGCCTGAAGTGCCTCTCTCCAGAAGITGGCGAGCGAGCATTCAAAGCCTGGG
TGTGGCCCGTCTCAGTCAGAGGTTCCAAGGCAGAATTGCTGAGGTCTAAAAGTG
TGACCGACCTCACAAAGGTCCATACTGAGTGTGCCACGGAGATCTGCTGGAATGTGCC
GACGATAGAGCAGACCTCGCTAAATAATCTCGAGAACATCAGGATTCATTAGCTCTAA
GCTGAAAGAATGTTGCAGAACAGCCCCTCGGAAAAGAGTCATTGTTATGCCGAGGTG
GAAAACGACGAGATGCCAGCAGATCTGCCATCACTCGCTGCCACTTGTGGAATCCA
AAGATGTCTGCAAGAATTACCGAGAGGCTAACAGCTGTTCTGGGATGTTCTGTAT
GAGTACGCCCGCGTCACCCGATTATAGCGTCTGCTCTGCTCCGACTGGCAAAGAC
CTACGAAACAACTCTGGAGAAATGTTGCCTGCCAGACCCCTATGAAATGTTATGCTA
AGGTGTTGATGAGTTAACCGACTCGTGAAGAGCCCCAGAACCTGATTAACAGAA
TTGCGAACTGTTGAGCAGCTCGGTGAATACAAGTTCAGAACGCCCTGCTCGTGC
ATACCAAAAAGGTCCCTCAGGTGTCTACACCAACTCTGGTGGAGGTCAAGTAGGAATCT
GGCAAAGTGGATCAAAGTGTGAAACACCCCGAGGCAAAGAGAACATGCCCTGTGCT
5 GAAGATTACCTCTCCGCGTGAACCAGCTCGTGTGCATGAAAAGACCCAGT
CAGCGATCGGGTGACAAATGTTGCACCGAATCTCTGGTCAATGCCGACCCCTGTTCA
GTGCCCTCGAAGTGGACGAAACTTATGTCCTAAGGAGTTTCAGGCTGAAACATTCA
TTTCACGCCATATCTGCACTCTGTCCAGAAAGAAAGGAGATTAAGAAACAGACAG
CACTGGTCGAGCTCGTGAAGCATAAACCAAAGGCTACCAAGGAGCAGCTGAAAGCCGT
CATGGACGATTCGAGCTTGTGAAAGTGTGCAAAGCCGACGATAAGGAGACT
TGTTTCGAGAAGAGGGAAAAAGCTCGTGGCTGCCAGGCAGCTGGGTCTG

SEC ID NO: 3

Seroalbúmina humana (HSA)

Secuencia de aminoácidos

DAHKSEVAHRFKDI.GEENFKALVIAFAAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAC
NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRVRPEV
DVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPFYAPELLFFAKRYKAATFECQCQADKAACLLP
KLDDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAWAVARLSQRFPKAFAEVSKLVTDLTK
VHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD
LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCC
AAADPHCYAKVDFEKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPT
LVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLV
NRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQL
KAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL

SEC ID NO: 4

Seroalbúmina humana (HSA)

Secuencia nucleotídica

GATGCACACAAGAGTGAGGTTGCTATCGGTTAAAGATTGGGAGAAGAAAAATTCA
AAGCCTTGGTGTGATTGCCTTGCTCACTATCTCAGCAGTGTCCATTGAAGATCATG
TAAAATTAGTGAATGAAGTAACACTGAATTGCAAAAACATGTGAGCTGATGAGTCAGC
TGAAAATTGTGACAAATCACTCATACCCCTTTGGAGACAAATTATGCACAGTTGCAA
CTCTTCGTGAAACCTATGGTGAATGGCTGACTGCTGTGCAAAACAAGAACCTGAGAG
AAATGAATGCTCTTGCAACACAAAGATGACAACCCAAACCTCCCCGATTGGTGAGA
CCAGAGGTTGATGTGATGTGACTGCTTTCATGACAATGAAGAGACATTGGAAAAAA
ATACTTATATGAAATTGCCAGAAGACATCCTTACTTTATGCCCGAACTCCTTTCTT
TGCTAAAAGGTATAAGCTGCTTTACAGAATGTTGCCAGCTGCTGATAAAGCTGCCT
GCCTGTTGCCAAAGCTCGATGAACITCGGGATGAAGGGAAAGGCTTCGTCGCCAAACA
GAGACTCAAATGTGCCAGTCTCCAAAATTGGAGAAAGAGCTTCAAAGCATGGGCA
GTGGCTGCCCTGAGCCAGAGATTCCCAAAGCTGAGTTGAGAAGTTCCAAGTTAGT
GACAGATCITACCAAAGTCCACACGGAAATGCTGCCATGGAGATCTGCTTGAATGTGCTG
ATGACAGGGCGGACCTTGCCAAGTATATCTGTGAAAATCAGGATTGATCTCCAGTAA
ACTGAAGGAATGCTGTGAAAACCTCTGTTGGAAAATCCCAGTGCATTGCCGAAGTG
5 GAAAATGATGAGATGCCCTGCTGACTTGCCTCATTAGCTGCTGATTGTTGAAAGTAA

GGATGTTGCAAAACTATGCTGAGGCAAAGGATGTCCTCCTGGCATGTTTTGTATG
AATATGCAAGAAGGCATCTGATTACTCTGCTGCTGCTGAGACTTGCCAAGACA
TATGAAACCACTCTAGAGAAGTGCTGCTGCCGCTGCAGATCCTCATGAATGCTATGCCAA
AGTGGTCACTGAATTAAACCTTGTGGAAGAGCCTCAGAATTAAATCAAACAAA
AGTGGCTTTAAGCAGCTTGGAGAGTACAAATCCAGAATGCGTATTAGTTGTTAC
ACCAAGAAAGTACCCCAAGTGTCAACTCCAACCTCTGTAGAGGTCTCAAGAAACCTAG
GAAAAGTGGCAGCAAATGTTGAAACATCCTGAAGCAGAAAAGAATGCCCTGTGCAGA
AGACTATCTATCCGTGGCCTGAACCAGTTATGTTGCTGAGAAAACGCCAGTAA
GTGACAGAGTCACAAATGCTGCACAGAGTCCTGGTAACAGGGCAGCATGCTTT
AGCTCTGGAAAGTCGATGAAACATACGTTCCAAAGAGTTAATGCTGAAACATTCACCT
TCCATGCAGATATATGCACACTTCTGAGAAGGAGAGACAAATCAAGAAACAAACTGC
ACTTGTGAGCTTGTGAAACACAAGCCAAGGCAACAAAGAGCAACTGAAAGCTGTT
ATGGATGATTGCGAGCTTGTAGAGAAAGTGTGCAAGGCTGACGATAAGGAGACCT
GCTTGCCGAGGAGGGTAAAAACTGTTGCTGCAAGTCAAGCTGCCCTAGGCTTA

SEC ID NO: 5

Conejor polipeptídico

Secuencia de aminoácidos

10 AAAL

SEC ID NO: 6

Ligador de seroalbúmina humana (HSA) con sustituciones C34S y N503Q ("mHSA") y conector polipeptídico

Secuencia de aminoácidos

AASDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVA
DESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLP
RLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAA
DKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKGERAFKAWAVARLSQRFPKAFAE
VSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCI
AEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLL
RLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNA
LLVRYTKVPQVSTPTLVEVSRLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLH
EKTPVSDRTKCCTESLVNRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFTFHADICTLSEKERQIK
KQTALVELVKHCKPATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQA
ALGL

SEC ID NO: 7

Ligador de seroalbúmina humana (HSA) con sustituciones C34S y N503Q ("mHSA") y conector polipeptídico

Secuencia de aminoácidos

AAQDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVA
DESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLP

5

RLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAA
DKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKGERAFKAWAVARLSQRFPKAFAE
VSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCI
AEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLL
RLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNA
LLVRYTKVPQVSTPTLVEVSRLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLH
EKTPVSDRTKCCTESLVNRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFTFHADICTLSEKERQIK
KQTALVELVKHCKPATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQA
ALGL

SEC ID NO: 8

Ligador de seroalbúmina humana (HSA) con sustituciones C34S y N503Q ("mHSA") y conector polipeptídico

Secuencia de aminoácidos

DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES
AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLV
RPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADK
AACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKGERAFKAWAVARLSQRFPKAFAEV
KLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAE
VENDEMPADLPSLAADFVESKDVKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLRL
AKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNAL
VRYTKVPQVSTPTLVEVSRLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEK
TPVSDRTKCCTESLVNRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFTFHADICTLSEKERQIKQ
TALVELVKHCKPATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAAL
GLAAAL

10

SEC ID NO: 9

Ligador de seroalbúmina humana (HSA) con sustituciones C34S y N503Q ("mHSA") y conector polipeptídico

Secuencia de aminoácidos

AASDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVA
DESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLP
RLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAA
DKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKASLQKFGGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAE
VSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCI
AEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLL
RLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNA
LLVRYTCKVPQVSTPTLVEVSRLNLGVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLH
EKTPVSDRTKCCTESLVNRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFTFHADICTLSEKERQIK
KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCADDKETCFAEEGKKLVAASQA
ALGLAAAL

SEC ID NO: 10

Ligador de seroalbúmina humana (HSA) con sustituciones C34S y N503Q ("mHSA") y conector polipeptídico

Secuencia de aminoácidos

AAQDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVA
DESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLP
RLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAA
DKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKASLQKFGGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAE
VSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCI
AEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLL
RLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNA
LLVRYTCKVPQVSTPTLVEVSRLNLGVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLH
EKTPVSDRTKCCTESLVNRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFTFHADICTLSEKERQIK
KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCADDKETCFAEEGKKLVAASQA
ALGLAAAL

5

SEC ID NO: 11

Ligador de seroalbúmina humana (HSA) y conector polipeptídico

Secuencia de aminoácidos

AASDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVA
DESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLP
RLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAA
DKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKASLQKFGGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAE
VSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCI
AEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLL
RLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNA
LLVRYTCKVPQVSTPTLVEVSRLNLGVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLH
EKTPVSDRTKCCTESLVNRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFTFHADICTLSEKERQIK
KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCADDKETCFAEEGKKLVAASQA
ALGL

10 SEC ID NO: 12

Ligador de seroalbúmina humana (HSA) y conector polipeptídico

Secuencia de aminoácidos

AAQDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVA
DESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLP
RLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAA
DKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKASLQKFGGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAE
VSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCI
AEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLL
RLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNA
LLVRYTCKVPQVSTPTLVEVSRLNLGVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLH

EKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK
KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQA
ALGL

SEC ID NO: 13

Ligador de seroalbúmina humana (HSA) y conector polipeptídico

Secuencia de aminoácidos

DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES
AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLV
RPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPFYAPELLFFAKRYKAATTECCQAADK
AACCLPKLDELRDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAFAEV
KLVTDLTVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAE
VENDEMPADPSLAADFVESKDVKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLRL
AKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALL
VRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEK
TPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKK
TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAAL
5 GLAAAL

SEC ID NO: 14

Ligador de seroalbúmina humana (HSA) y conector polipeptídico

Secuencia de aminoácidos

AASDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVA
DESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNL
RLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPFYAPELLFFAKRYKAATTECCQAA
DKAACCLPKLDELRDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAFAE
VSKLVTDLTGVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSIICI
AEVENDEMPADPSI.AADFVESKDVKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLL
RLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNA
LLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLH
EKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK
KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQA
ALGLAAAL

10 SEC ID NO: 15

Ligador de seroalbúmina humana (HSA) y conector polipeptídico

Secuencia de aminoácidos

AAQDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVA
DESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNL
RLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPFYAPELLFFAKRYKAATTECCQAA
DKAACCLPKLDELRDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAFAE
VSKLVTDLTGVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCI
AEVENDEMPADPSLAADFVESKDVKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLL
RLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNA
LLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLH
EKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK
KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQA
ALGLAAAL

15 SEC ID NO: 16

Ligador de mHSA, conectores polipeptídicos, H3 (anti-ErbB3) scFv, y B1D2 (anti-ErbB2) scFv ("B2B3-1")

Secuencia de aminoácidos

QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANINRDGSA
SYYVDSVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGVGYFDLWGRGTLV
TVSSASTGGGGSGGGGSQQSALTQPASVGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNFVSWY
QQHPGKAPKLMYDVSDRPSGVSDRFSGSKSGNTASLIISGLQADDEADYYCSSYGSST
HVIFGGGTKVTVLGAASDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKL
VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNE
CFLQHKDDNPNLPRIVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPFYAPELLFFAK
RYKAATTECCQAADKAACLLPKDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKGERAFKAWAV
ARLSQRFPKAFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKL
KECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVKNYAEAKDVFGLMFLYE
YARRHPDYSVVLLRLAKTYETTLEKCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC
ELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLKGVGSKCCKHPEAKRMPCAE
DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFTF
HADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMD DFAAFV EK CCK ADD KETC
FAEEGKKLVAASQAALGLAA ALQVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAW
VRQMPGKLEYMGLIYPGDSDTKYSPSFQGQVTISVDKSVSTAYLQWSSI.KPDSAVYF
CARHDVGYCTDRTCAK WPEWLGVWGQGTLTVSSGGGGSSGGSGGGSQVLTQPP
SVSAAPGQKV TISC GSSSNIGNN YV SWY QQLPGTAPKLLIYDHTNRPAGVPDRFSGSKS
GTSASLAISGFRSEDEADYYCASWDYTLSGWVFGGGTKLTVLG

SEC ID NO: 17

B2B3-2 (A5-mHSA-B1D2)

QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFSNTYDMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSYIY
YADSVKGRFTISRDNAKNSI.YI.QMNSLRAEDTAVYYCARDGVATTPFDYWGQGTLVT
VSSGGGGSGGGSGGGGSQSVLTQPPSVGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQL
PGTAPKLLIYGNNSRPGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLALF
GGGTKLTVLGAASDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNE
VTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFL
QHKDDNPNLPRIVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPFYAPELLFFAKRYK
AAFTECCQAADKAACLLPKDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKGERAFKAWA VARL
SQRFPKAFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLA KYICENQDSISSKLKEC
CEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVK NYAEAKDVFGLMFLYEYAR
RHPDYSVVLLRLAKTYETTLEKCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC EFL
EQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLKGVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYL
SVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFTFHADI
CTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMD DFAAFV EK CCK ADD KETCFAEE
GKKLVAASQAALGLAA ALQVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQ
MPGKLEYMGLIYPGDSDTKYSPSFQGQVTISVDKSVSTAYLQWSSLKPSDSA VYFCAR
HDVGYCTDRTCAK WPEWLGVWGQGTLTVSSGGGGSSGGSGGGSQVLTQPPSVS
AAPGQKV TISC GSSSNIGNN YV SWY QQLPGTAPKLLIYDHTNRPAGVPDRFSGSKSGTS
5 ASLAISGFRSEDEADYYCASWDYTLSGWVFGGGTKLTVLG

SEC ID NO: 18

B2B3-3 (A5-mHSA-F5B6H2)

QVQLVQSGGGLVKPGGLRLSCAASGFSFNTYDMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSYIY
 YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGVATTPFDYWQGQTLVT
 VSSGGGGGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSNIGAGYDVHWYQQL
 PGTAPKLLIYGNSNRPSGPDRFGSKSGTSASLAITGLQAEDADEADYYCQSYDSSLALF
 GGGTKLTVLGAASDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNE
 VTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPECNECFL
 QHKDDNPNLPLRVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPFYAPELLFFAKRYK
 AAFTECCQAADKAACCLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKGERAFKAWAVARL
 SQRFPKAFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKEC
 CEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADPLSLAADFVESKDVKNYAEAKDVFGLMFLYEYAR
 RHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCAAADPHECYAKVDEFKPLVEEPQNLIKQNCELF
 EQLGEYKFQNALLVRYTCKVPQVSTPTLVEVSRLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYL
 SVVLNQLCVLHEKTPVSDRTKCCTESLVNRRPCSALEVDETYVPKEFQAETFTFHADI
 CTLSEKERQIKKQTALVELVHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEE
 GKKLVAASQAALGLAAALQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSYAMSWVRQ
 APGKGLEWVSAISGRGDNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA
 KMTSNAVGFDWGQGTLVTVSSGGGGGGGGSGQSVLTQPPSVSGAPGQRVTIS
 CTGRHSNIGLGYGVHWYQQLPGTAPKLLIYGNTNRPSGPDRFGFKSGTSASLAITGLQ
 AEDEADYYCQSYDRRTPGWVFGGGTKLTVLG

SEC ID NO: 19

B2B3-4 (A5-mHSA-ML3.9)

QVQLVQSGGGLVKPGGLRLSCAASGFSFNTYDMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSYIY
 YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGVATTPFDYWQGQTLVT
 VSSGGGGGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSNIGAGYDVHWYQQL
 PGTAPKLLIYGNSNRPSGPDRFGSKSGTSASLAITGLQAEDADEADYYCQSYDSSLALF
 GGGTKLTVLGAASDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNE
 VTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPECNECFL
 QHKDDNPNLPLRVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPFYAPELLFFAKRYK
 AAFTECCQAADKAACCLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKGERAFKAWAVARL
 SQRFPKAFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKEC
 CEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADPLSLAADFVESKDVKNYAEAKDVFGLMFLYEYAR
 RHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCAAADPHECYAKVDEFKPLVEEPQNLIKQNCELF
 EQLGEYKFQNALLVRYTCKVPQVSTPTLVEVSRLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYL
 SVVLNQLCVLIEKTPVSDRTKCCTESLVNRRPCSALEVDETYVPKEFQAETFTFHADI
 CTLSEKERQIKKQTALVELVHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEE
 GKKLVAASQAALGLAAALQVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQ
 MPGKLEYMGLIYPGDSDTKYSPSFQGQVTISVDKSVSTAYLQWSSLKPSDSAIFYCAR
 HDVGYCSSSNCAKWPEYFQHWGQGTLVTVSSGGGGGGGGGGSQSVLTQPPSVSA
 APGKVTISCSGSSNIGNNYSWYQQLPGTAPKLLIYDHTNRPAGVPDFSGSKSGTSA
 SLAISGFRSEDEADYYCASWDYTLGWWFGGGTKLTVLG

5

SEC ID NO: 20

B2B3-5 (B12-mHSA-B1D2)

QVQLVQSGGGLVQPGRSI.RI.SCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGI
GYADSVKGRTFISRDNAKNSLYLQMNSLRPEDTAVYYCARDLGAQWLEGFDYWGQG
TLTVSSASTGGGGGGGGGGSSYELTDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYAS
WYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSTSGNSASLTITGAQAEDAYYCNSRDS
SGNHWVFGGKVTVLGAASDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFED
HVKLNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLSHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEP
ERNECFLQHKDDNPNLPLRVPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPFYAPELL
FFAKRYKAACFLQHKDDNPNLPLRVPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPFYAPELL
FAKRYKAACFLQHKDDNPNLPLRVPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPFYAPELL
WAVARLSQRFPKAEEFAEVSKLVTDLTKVHTECCIIGDLLECADDRADLAKYICENQDSIS
SKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVKNYAEAKDVFGLMF
LYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCAAADPHECYAKVDEFKPLVEEPQNLIK
QNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRLGKVGSKCKHPEAKRMP
CAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFQAET
FTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKA VMDDFAFVEKCKADDK
ETCFAEEGKKLVAASQAALGLAAALQVQLVQSGAEVKPGESLKISCKGSGYSFTSYWI
AWVRQMPGKGLEYMLIYPGDSDTKYSPSFQGQVTISVDSVSTAYLQWSSLKPSDSA
VYFCARHDVGYCTDRTCAKWPEWLGVWGQGTLTVSSGGGGSSGGSGGGSQSVL
TQPPSVSAAPGQKVTSQSGSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDHTNRPAGVPDRFS
GSKSGTSASLAISGFRSEDEADYYCASWDYTLSGWVFGGKLTVLG

SEC ID NO: 21

B2B3-6 (B12-mHSA-F5B6H2)

QVQLVQSGGGLVQPGRSI.RI.SCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGI
GYADSVKGRTFISRDNAKNSLYLQMNSLRPEDTAVYYCARDLGAQWLEGFDYWGQG
TLTVSSASTGGGGGGGGGGSSYELTDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYAS
WYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSTSGNSASLTITGAQAEDAYYCNSRDS
SGNHWVFGGKVTVLGAASDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFED
HVKLNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLSHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEP
ERNECFLQHKDDNPNLPLRVPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPFYAPELL
FAKRYKAACFLQHKDDNPNLPLRVPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPFYAPELL
WAVARLSQRFPKAEEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSIS
SKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVKNYAEAKDVFGLMF
LYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCAAADPHECYAKVDEFKPLVEEPQNLIK
QNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRLGKVGSKCKHPEAKRMP
CAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFQAET
FTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKA VMDDFAFVEKCKADDK
ETCFAEEGKKLVAASQAALGLAAALQVQLVSGGGLVQPGGSLRI.SCAASGFTFRSYA
MSWVRQAPGKGLEWVSAISGRGDNTYYADSVKGRTFISRDNSKNTLYLQMNSLRAED
TAVYYCAKMTSNAVGFDWGQGTLTVSSGGGGSGGGSGGGSQVLTQPPSVSGA
PGQRVTISCTGRHSNIGLGYGVHWYQQLPGTAPKLLIYGNTRPSGVPDFSGFKSGTSA
SLAITGLQAEDEADYYCQSYDRRTPGWWFGGKLTVLG

5

SEC ID NO: 22

B2B3-7 (F4-mHSA-B1D2)

QVQLQESGGGLVKPGGSIRLSCAASGFTFSSYAMS WVRQAPGKGLEWVSTISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGYSSSWEVASGYWGQQ TLTVSSASTGGGGGGGGGGSAIVMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQGIRNDLG WYQQKAGAKPCLIYAASSLQSGVPSRSGSGSGTDFTLTISSLQPDDFATYFCQQAHSF PPTFGGGTKVEIKRGAASDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALV рLIAFAQYLQQSPFEDHVK LVNEVTEFAKTCVADEAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPEURN ECFLQHKDDNPNLPRVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPFYAPELLFFA KRYKAATFECQAADKAACLPKLDERDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKA WA VARLSQRFPKAЕFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSK LKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCAAADPHECYAKVDFKPLVEEPQNLIKQN CELFEQLGEYKFQNAI.LVRYTKKVPQVSTPLVEVSRNLGVGSKCKHPEAKRMPCA EDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFT FHADICTLSEKERQIKKQTALVELV рHКPKATKEQLKA VMDDFAAFVEKCKADDKET CFAEEGKKLVAASQAALGLAAALQVQLVQSGAEVKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIA WVRQAPGKGLEWVAISRGDNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKMTSNAVGFDYWGQGTLTVSSGGGGGGGGSGQSVLTQPPSVSGAPG QRVTISCTGRHSNIGI.GYGVHWYQQLPGTAPKLLIYGNTRPSGVPDFSGFKSGTSASL AITGLQAЕDEADYYCQSYDRRTPGWVFGGGTKLTVLG

SEC ID NO: 23

B2B3-8 (F4-mHSA-F5B6H2)

QVQLQESGGGLVKPGGSIRLSCAASGFTFSSYAMS WVRQAPGKGLEWVSTISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGYSSSWEVASGYWGQQ TLTVSSASTGGGGGGGGGGSAIVMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQGIRNDLG WYQQKAGAKPCLIYAASSLQSGVPSRSGSGSGTDFTLTISSLQPDDFATYFCQQAHSF PPTFGGGTKVEIKRGAASDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALV рLIAFAQYLQQSPFEDHVK LVNEVTEFAKTCVADEAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPEURN ECFLQHKDDNPNLPRVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPFYAPELLFFA KRYKAATFECQAADKAACLPKLDERDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKA WA VARLSQRFPKAЕFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSK LKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCAAADPHECYAKVDFKPLVEEPQNLIKQN CELFEQLGEYKFQNAI.LVRYTKKVPQVSTPLVEVSRNLGVGSKCKHPEAKRMPCA EDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFT FHADICTLSEKERQIKKQTALVELV рHКPKATKEQLKA VMDDFAAFVEKCKADDKET CFAEEGKKLVAASQAALGLAAALQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSYAMS WVRQAPGKGLEWVAISRGDNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKMTSNAVGFDYWGQGTLTVSSGGGGGGGGSGQSVLTQPPSVSGAPG QRVTISCTGRHSNIGI.GYGVHWYQQLPGTAPKLLIYGNTRPSGVPDFSGFKSGTSASL AITGLQAЕDEADYYCQSYDRRTPGWVFGGGTKLTVLG

5

SEC ID NO: 24

B2B3-9 (H3-HSA-B1D2)

QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANINRDGSA
 SYYVDSVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGVGYFDLWGRGTLV
 TVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNFVSWY
 QQHPGKAPKLMIFYDVSDRPSGVSDRFSGSKSGNTASLIISGLQADDEADYYCSSYGSST
 HVIFGGGTKVTVLGAASDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVIAFAQYLQQCPFEDHVK
 LVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPEERN
 ECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPFYAPELLFFA
 KRYKAATTECCQAADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKCASLQKGERAFKAWA
 VARLSQRFPKAFAEAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSK
 LKECEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCCKNYAEAKDVFGLMFLY
 EYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCAAADPHECYAKVDEFKPLVEEPQNLIKQN
 CELFEQLGEYKFQNALLVRYTCKVPQVSTPTLVEVSRLNGVGSKCKHPEAKRMPCA
 EDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCSALEVDETYVPKEFNAETFT
 FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHCKPATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKET
 CFAEEGKKLVAASQAALGLAAALQVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIA
 WVRQMPGKGLEYMLIYPGDSDTKYSPSFQGQVTISVDKSVSTAQLQWSSLKPSDSA
 YFCARHDVGYCDRTCAKWPEWLGVWGQGTLVTVSSGGGSSGGSGGGSQVLT
 QPPSVSAAPGQKVТИСГСССНИГННУВСУQQLPGTAPKLLIYDHTNRPAGVPDRFSG
 SKSGTSASLAISGFRSEDEADYYCASWDYTLSGWVFGGGTKLTVLG

SEC ID NO: 25

B2B3-10 (H3-mHSA-F5B6H2)

QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANINRDGSA
 SYYVDSVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGVGYFDLWGRGTLV
 TVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNFVSWY
 QQHPGKAPKLMIFYDVSDRPSGVSDRFSGSKSGNTASLIISGLQADDEADYYCSSYGSST
 HVIFGGGTKVTVLGAASDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVIAFAQYLQQSPFEDHVKL
 VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNE
 CFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPFYAPELLFFAK
 RYKAATTECCQAADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKCASLQKGERAFKAWAV
 ARLSQRFPKAFAEAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKL
 KECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCCKNYAEAKDVFGLMFLYE
 YARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCAAADPHECYAKVDEFKPLVEEPQNLIKQNC
 ELFEQLGEYKFQNALLVRYTCKVPQVSTPTLVEVSRLNGVGSKCKHPEAKRMPCAE
 DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCSALEVDETYVPKEFQAETFTF
 FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHCKPATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETC
 FAEEGKKLVAASQAALGLAAALQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSYAMSW
 VRQAPGKGLEWVSAISRGDNYYADSVKGRFTISRDNNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY
 YCAKMTSNAVGFDYWGQGTLTVSSGGGSSGGGGSQVLTQPPSVSGAPGQR
 VTISCTGRHSNIGLGYGVHWYQQLPGTAPKLLIYGNTRPSGVPDFSGFKSGTSASLAI
 TGLQAEDeadYYCQSYDRRTPGWVFGGGTKLTVLG

5

SEC ID NO: 26

H3 (anti-ErbB3) scFv

QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANINRDGSA
 SYYVDSVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGVGYFDLWGRGTLV
 TVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNFVSWY
 QQHPGKAPKLMIFYDVSDRPSGVSDRFSGSKSGNTASLIISGLQADDEADYYCSSYGSST
 HVIFGGGTKVTVLG

SEC ID NO: 27

10 B1D2 (anti-ErbB2)

QVQLVQSGAEVKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQMPGKGLEYMGCLIYPGDSDT
 KYSPSFQGVQTISVDKVSTAYLQWSSLKPSDSA VYFCARHDVGYCTDRTCAK WPEWL
 GVVGQGTLTVTSSGGGSSGGSGGGSQSLTQPPSVSAAPGQKV TISCGSSNIGN
 NYVSWYQQLPGTAPKLLIYDHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAISGFRSEDEADYYCA
 SWDYTLSGVFGGGTKLTVLG

SEC ID NO: 28

A5 (anti-ErbB3) scFv

QVQLVQSGGGLVKPGGLRLSCAASGFSNTYDMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSYIY
 YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARDGVATTPFDYWQGQTLVT
 VSSGGGGGGGGSGGGGSQSLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSNIGAGYDVHWYQQL
 PGTAPKLLIYGNNSRPSGV PDRFSGSKSGTSASLAITGLQA EDEADYYCQSYDSSLALF
 GGGTKLTVLG

5 SEC ID NO: 29

ML3.9 (anti-ErbB2) scFv

QVQLVQSGAEVKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQMPGKGLEYMGCLIYPGDSDT
 KYSPSFQGVQTISVDKVSTAYLQWSSLKPSDSA VYFCARHDVGYCSSNC AKWPEYFQ
 HWGQGTLTVTSSGGGSSGGSGGGSQSLTQPPSVSAAPGQKV TISCGSSNIGNNN
 YVSWYQQLPGTAPKLLIYDHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAISGFRSEDEADYYCAS
 WDYTLSGVFGGGTKLTVLG

SEC ID NO: 30

B12 (anti-ErbB3) scFv

QVQLVQSGGGLVQPGGLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGI
 GYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRPEDTA VYYCARDLGAKQWLEGFDYWQG
 TLTVSSASTGGGGGGGGGGSSYELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYAS
 WYQQKPGQAPVLYGKNRPSGV PDRFSGSTSGNSASLTITGAQAEDEADYYCNSRDS
 10 SGNHWVFGGGTKLTVLG

SEC ID NO: 31

F4 (anti-ErbB3) scFv

QVQLQESGGGLVKPGGLRLSCAASGFTFSSYAMS WVRQAPGKGLEWVSTISGGGST
 YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKGYSSSWSEVASGYWGQG
 TLTVSSASTGGGGGGGGGGSAIVMTQSPSSLASVGDRVTITCRASQGIRNDLG
 WYQQKAGKAPKLLIYASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPDDFATYFCQQAHSF
 PPTFGGGTKVEIKRG

SEC ID NO: 32

15 F5B6H2 (anti-ErbB2) scFv

QVQLVESGGGLVQPGGLRLSCAASGFTFRSYAMS WVRQAPGKGLEWVSAISGRGDNT
 YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKMTSNAVGF DYWGQGTLV
 TVSSGGGGGGGGGGGGSQSLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGRHSNIGLGYGVHWYQ
 QLPGTAPKLLIYGNTRPSGV PDRFSGFKSGTSASLAITGLQA EDEADYYCQSYDRRTPG
 WVFGGGTKLTVLG

SEC ID NO: 33

c-myc

EQKLISEEDL

20 SEC ID NO: 34

hemagglutinina

YPYDVPDYA

SEC ID NO: 35

Etiqueta de histidina (HIS₆)

HHHHHH

SEC ID NO: 36

5 Caspasa 3

Homo sapiens

CAC88866

MENTENSVDSKSIKNLEPKIIHGSESMDGMSWDTGYKMDYPEMGLCIIINNKNFHKST

GMTSRSGTDVDAANLRETFRNLKYEVRNKNDLTREEIVELMRDVSKEDHSKRSSFVCV

LLSHGEEGIIFGTNGPVDLKKITNFFRGDRCRSLTGKPFLIIQACRGTELDGIE TDGVDDDMACHKIPVDADFLYAYSTAPGYYSWRNSKDGSWFIQSLCAMLKQYADKLEFMHILT
RVNRKVATEFESFSDATFHAKKQIPCIVSMLTKELYFYI

10 SEC ID NO: 37

Caspasa 8

Homo sapiens

AAD24962

MDFSRNLYDIGEQLDSEDLASLKFLSLDYIPQRKQEPIKDALMLFQRLQEKRMLLESNLS
FLKELLFRINRLDLLITYLNTRKEEMERELQTPGRAQISAYRVMLYQISEEVSRSELRSFK
FLLQEEISKCKLDDDMNLLDIFIEMEKRVLGEKGKLDILKRVCAQINKSLLKIINDYEEFSK
ERSSSLEGPDEFNSNGEELCGVMTISDSPREQDSESQTLDKVYQMKSKPRGYCLIINHN
FAKAREKVPKLHSIRDRNGTHLDAGALTTFEELHFEIKPHDDCTVEQIYDILKIYQLMD
HSNMDCFICCIISHGDKGIIYGTDGQEPPIELTSQFTGLKCPAGKPKVFFIQACQGDN
YQKGIPVETDSEEQPYLEMDLSSPQTRYIPDEADFLLGAMTVNNCVSYRNPAEGTWYIQ
SLCQLSLRERCPRGDDILTILTEVNYEVSNKDDKKNMGKQMPQPTFTLRKKLVFPSD

15 SEC ID NO: 38

Granzyma B

Homo sapiens

AAA75490

MQPILLLAFLLLRADAGEIIGGHEAKPHSRPYMAYLMIWDQKSLKRCGGFLIQDDFVL
TAAHCWGSSINVTLGAHNIKEQEPTQQFIPVKRAIPHAYNPKNFSNDIMLLQLERKAKR
TRAQPLRLPSNKAQVKPGQTCVAGWGQTAPLGKHSHTLQEVKMTVQEDRKCESDL
RHYYDSTIELCVGDPEIKKTSFKGDSGGPLVCNKVAQGIVSYGRNNNGMPPRACTKVSSF
VHWIKKTMKRY

20 SEC ID NO: 39

Citocromo c

Homo sapiens

NP_061820

MGDVEGKKIFIMKCSQCHTVEKGGKHKTGPNLHGLFGRKTGQAPGYSYTAANKNKG
IWGEDTLMYELENPKYIPGTMIFVGKKKEERADLIYLKKATNE

25 SEC ID NO: 40

Factor alfa de Necrosis Tumoral (TNF α)

Homo sapiens

CAA26669

MSTESMIRDVELAEEALPKKTGGPQGSRRCLFI.SI.FSFLIVAGATTLCCLLHFGVIGPQRE
EFPRLDSLISPLAQAVRSSSRTPSDKPVAVVVANPQAEGQLQWLNRRANALLANGVELR
DNQLVVPSEGLYLIYSQVLFKQGCPSTHVLLHTISRIA VSYQTKVNLLSAIKSPCQRET
PEGAEAKPWYEPIYLGGVFQLEKGDRLSAEINRPDYLDFAESGQVYFGIIAL

SEC ID NO: 41

Fas

5 *Homo sapiens*

CAI13871

MLGIWTLLPLVLTSAVLSSKS VNAQVTDINSKGLELRKTVTTVETQNLEG LHHDGQFC
HKPCPPGERKARDCTVNGDEPDCVPCQEGKEYTDKAHFSSKCRRCRLCDEGHGLEVEI
NCTRTQNTKCRCKPNFFCNSTVCEHCDPCTKCEHGIKECTLTSNTKCEEVKRKEVQK
TCRKHRKENQGSHE SPTLN PTVAINLSDVDLSKYITTIAGVMTLSQVKGFVRKNGVNE
AKIDEIKNDNVQDTAEQKVQLLRNWHQLHGKKEAYDTLIKDLKKANLCTLAEKIQTIL
KDTSDSENSNFRNEIQSLV

SEC ID NO: 42

Bad (antagonista Bcl2 de muerte celular)

10 *Homo sapiens*

CAG46757

MFQIPEFEPSEQEDSSAERGLGPSPAGDGPGSGKHHRQAPGLLWDASHQQEQPTSSSH
HGGAGAVEIRSRHSSYPAGTEDDEGMGE PSPFRGRSR SAPPNLWAAQRYGRELRRMS
DEFVDSFKKGLPRPKSAGTATQMRQSSSWTRVFQSWWDRNLRGSSAPSQ

SEC ID NO: 43

Proteína inductora de apoptosis (AIP)

15 *Homo sapiens*

AAK67626

MVDHLANTEINSQRIA AVESCFGASGQPLALPGRVLLGEGVLTKECRKKAKPRIFFLFND
ILVYGSIVLNKRKYRSQHII PLEEVTLLELPETLQAKNRWMIKTAKKSFVVSAASATERQ
EWISHIEECVRRQLKATGRPPSTEHAAPWIPDKATDICMRCTQTRFSALTRRHHCRKCGF
VVCAECSRQRFLPRLSPKPVRCVSLCYRELAAQQRQEEAEEQGAGSPRQPAHLARPI
GASSGDDDSDEDKEGSRDGDWPSSVEFYASGVAWSAFHS

SEC ID NO: 44

Pierisina-1

20 *Pieris rapae*

Q9U8Q4

MADRPQYMTNGIQAA VVEWIRALDLEIISLLSRA WPMALLATSELWRPTVLTDTDN
VVRLDRRQRLVRWDRRPPNEIFLDGFVPIVTRENPDWEETDLYGFAKNNHPSIFVSTTKT
QRNKKKYVWTPRNA NGIVYQYEIYAPGGVDVNDSFSDA SPWPNQMEVA FPGGIQNIY
IRSARELHN GRIQRIWINPNFLDPGDLEPIVSSSRTPQVIWRMNHPDG GRDQRSERSASS
YDDLMYGGTGNVQEDTGF DEPNPKPIAAGEFMIESIKDKNSFLDLSKNVNGGVIHSNL
YSGGDNQIWVFSYDDNKKAYRIQS YQNSYLYLSWDSNASSKEMIRGYTNSGSNNQY
WQIEQTGKNYRLRNLLNLDMIITA QDKPSAFGGKEVIVNTEISNSNTKISQE WKMIPDF
RPIIDGDYNIFNVDLSNQVVD FS NQP DLLVGHIFCDNENQTWHFTYNSTYHAYKIWSG
RKSNLLTWDSNA ASKEMVVR AYTESRSKNQY WRIEQTGSKS YKVRNLENSSMILGLT

RVSTPYGGNLNMVEDDSDGHSDLHSDWDIKPIFYQDIPDG DYNIFNDNFPNIAIDFTNQE
 GS LIHGHNFCSSNNQKWSFVFDGKRKAYRIKSGVRSNLWLSWDSNASSKEMVL RAYTE
 SGSSNQY WRLDEANDGSYRIRNLQDYKLIALTNKNTPYGGKELIVSDNKESGNTWYL
 KKLGEVPLPNRKFRIATKLNYKKVIDSSTS YNLIITHDLNFASSIWELVYDSSKKAYNIYS
 SDINNLGWIYQNKNFFVKLGNIDGPDHGDLRYFWTIEYSM QTGCYLIRSLHD PANA VGY
 TDSESVITDTSTYSDNQLFH F ILM

SEC ID NO: 45

TRAIL (ligando inductor de la apoptosis relacionado con TNF)

Homo sapiens

5 P50591

MAMMEVQGGPSLGQTCVLIVI FTVLLQLSCVAVTYYVYFTNELKQM QDKYSKSGIACFL
 KEDDSY WDPNDEE SNSPCWQVKWQLRQLVRKMILRTSEETISTVQEKQQNISPLVRE
 RGPQRVAAHITGTRGRSNTLSSPNSKNEALGRKINSWE SRS GHSFLSNLHLRN GELVI
 HEKGFYI YSQTYFRFQEEIKENTKNDKQM VQYIYK YTSPDPILLMK SARNSCWSKDA
 EYGL YSIYQGGIFELKENDRIFV SVTNEH LIDMDHEASFFGAFLVG

SEC ID NO: 46

Bax

Homo sapiens

10 Q07812

MDGS GEQPRGGG PTSSEQIMKTG ALLLQGFIQDRA GRMGGEAPELA LD PVPQ DASTKK
 LSECLKRIGDELD S N MELQRMIAAVD TDSPREVFFRVAADMFS DGNFNWGRVVALFYF
 ASKLVLKALCTKVPELIRTI MGWTLDFLRERLLGW I QDQGGWDG LLSYFGTPTWQTVTI
 FVAGVLTASLTIWKKG

SEC ID NO: 47

Proteína Fluorescente Verde (GFP)

Aequorea victoria

15 P42212

MSKGEELFTGV VPILVELGDVNGHKFSVSGEGEGDATYGKLTLKFICTTGKLPVPWPT
 LVTTFSYGVQCFSRYPDHMKQHDFFKSAMPEGYVQERTIFFKDDGNYKTRAEVKFE GD
 TLVNRIELKGIDFKEDGNILGHKLEYN YNSHN VYIMADKQKNGIKVNFKIRHNIEDGSVQ
 LADHYQQNTPIGDGPVLLPDNHYLSTQSALS KDPNEKRDHMVLLEFVT AAGITHGMDE
 LYK

SEC ID NO: 48

Proteína Fluorescente Amarilla (YFP)

Aliivibrio fischeri

20 P21578

MF KGIVEGIGII EKIDIYTDLDKYAIRFPENMLNGIKKESSIMFNGCFLTVTSVNSNIVWFD
 IFEKEARKLDTFREYKVGDRVNLGTFPKFGAASGGHILSARISCVASIIIEIENEDYQQMW
 IQIPENFTEFIDKD YIAVDGISLTIDTIKNNQFFISLPLKIAQNTNMKWRKKGDKV NVELS
 N KINANQCW

SEC ID NO: 49

Proteína Fluorescente Ciano (CFP)

Montastraea cavernosa

25 AAL17905

MSVIKSVMKIKLMDGIVNGHKFMITGESEGKPSEGHTIILKVKEGGPLPFA YDILTTAF
 QYGNR VFTKYPKDIPDYFKQSPEGYSWERSMTFEDQGVCTVTS DIKLEGDCFFYEIRFY
 GVNFPSSGPVMQKKTLK WEPSTENMYVRDGVLLEGDKHHRCNFRSTYG
 AKKGVVLPEYHFVDHRIEILSHDKDYNTVEVYENAVARPSMLPVAKK

SEC ID NO: 50

Proteína Fluorescente Roja (RFP)

Discosoma sp. SSAL-2000

5 AAG 16224

MSCSKNVIKEFMRFK VRMEGTVNIGHFEIK GESEGKPYEGHCSVKLMVTKGGLPFAF
 DILSPQFQYGSKVVKHPADIPDYKKLSPEGFK WERVMNFEDGGVVTVSQDSSLKDQ
 CFIYEVKFIGVNFPSDGPVMQRRTGWEASSERLYPRDGVLKGDIHMALRLEGGGHYL
 VEFKSIYMVKKPSVQLPGYYYVDSKLDMTSHNEDYTVVEQYETQGRHHPFIKPLQ

SEC ID NO: 51

Luciferasa

Photinus pyralis

10 CAA59282

MEDAKNKKGPAPFYPLEDTAGEQLHKAMKRYALVPGTIAFTDAHIEVNITYAEYFEM
 SVRLAEAMKRYGLNTNHRIIVCSENSLQFFMPVLGALFIGVA VAPANDIYNEREELLNSM
 NISQPTVVVFVSKKGLQKILNVQKKLPIIQKIIIMDSKTDYQGFQSMYTFVTSHLPPGFNEY
 DFVPESFDRDKTIALIMNSSGSTGSPKGVALPHRTACVRFSHARDPIFGNQIIPDTAILS
 PFHHGFGMFTTLGYLICGFRVVLMYRFEELFLRSLQDYKIQSALLVPTLFSFFAKSTLID
 KYDLSNLHEIASGGAPLSKEVGEAVAKRFHLPGIRQGYGLTEETSAILITPEGDDKPGAV
 GKVVPPFEAKVVDLDTGKTLGVNQRGELCVRGPMIMSGYVNDPEATNALIDKDGWLH
 SGDIAYWDEDEHFFIVDRLKSLIKYKGCVAPAELESILQHPNIFDAGVAGLPGDDAGE
 LPAAVVVLLEHGKTMTKEIVDYVASQVTTAKLRGGVVFVDEVPKGLTGKLDARKIRE
 ILIKAKKGGKSKL

SEC ID NO: 52

Luciferasa

Renilla reniformis

15 AAA29804

MTSKVYDPEQRKRMITGPQWWARCKQMNVLDSFINYYDSEKHAENA VIFLHGNAASS
 YLWRHVVPHIEPVARCIIPDLIGMGKSGKSGNGSYRLLDHYKYLTAWFELLNLPKIIIFV
 GHDWGACLAFHYSYEHQDKIKAIIVHAESVVDVIESWDEWPDIEDIALIKSEECEKMVL
 ENNFFVETMILPSKIMRKLEPEEEAAYLEPFKEKGEVRRPTLSWPREIPLVKGGKPDVVQI
 VRNYNAYLRAASDDLPKMFIESDPGFFSNAIVEGAKKFPNTEFVKVKGLHFSQEDAPDEM
 GKYIKSFVERVLKNEQ

SEC ID NO: 53

Ligador de seroalbúmina humana (HSA) con sustitución C34S, Dominio I

Secuencia de aminoácidos

DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADES
 NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPRNECFLQHKDDNPNLPRLVPEV
 DVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAATTECCQAADKAACLLP
 20 KLDDELRDEGKASSAKQR

SEC ID NO: 54

Ligador de seroalbúmina humana (HSA), Dominio II

Secuencia de aminoácidos

GKASSAKQLRKASLQKGERAFKAWAVARLSQRFPKAFAEVSKLVTDLTKVHTECC
HGDLLCADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLA
ADFVESKDVKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLRLAKTYETTLEKCAA
ADPHECYAKVDEFKPLVEEPQ

SEC ID NO: 55

Ligador de seroalbúmina humana (HSA) con sustitución N503Q, Dominio III

5 Secuencia de aminoácidos

VEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKVPQVSTPTLVEVSRLNLGVGSKCCK
HPEAKRMPACAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETY
VPKEFQAEFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVE
KCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL

SEC ID NO: 56

Ligador de seroalbúmina humana (HSA), Dominio I

Secuencia de aminoácidos

DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLFIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES
AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPRNECFLQHKDDNPNLPLRV
RPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADK
AACLLPKLDELRDEGKASSAKQR

SEC ID NO: 57

Ligador de seroalbúmina humana (HSA), Dominio III

Secuencia de aminoácidos

VEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKVPQVSTPTLVEVSRLNLGVGSKCCK
HPEAKRMPACAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETY
VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVE
KCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL

SEC ID NO: 58

Alfa-fetoproteína humana

Secuencia de aminoácidos

MKWVESIFLIFLLNFNTESRTLHRNEYGIASILDSYQCTAEISLADLATIFFAQFVQEATYKE
VSKMVKDALTAEKPTGDEQSSGCLENQLPAFLEELCHEKEILEKYGHSDCCSQSEEGRH
NCFLAHKKPTPASIPLFQVPEPVTSCEAYEEDRETLMNKFIYEIARRHPFLYAPTILLWAA
RYDKIIPSCCKAENAECFQTKAAATVTKELRESSLLNQHACAVMKNFGTRTFQAITVTK
LSQKFTKVNFTEIQKLVLDAHVHEHCCRGDVLDCLQDGKEMSYICSQQDTLSNKITE
CCKLTTLERGQCIIHAENDEKPEGLSPNLNRFLGDRDFNQFSSGEKNIFLASFVHEYSRH
PQLAVSVLRLVAKGYQELLEKCFQTENPLECQDKGEEELQKYIQESQALAKRSCGLFQK
LGEYQLQNAFLVAYTKKAPQLTSELMAITRKMAATAATCCQLSEDKLLACGEGAADII
IGHLCIRHEMTPVNPGVGQCCCTSSYANRRPCFSSLVVDETYVPPAFSDKFIFHKDLCQA
QGVALQTMKQEFLINLVKQKPQITEEQLEAVIADFSGLLEKCCQGQEVCFAEEGQKLI
SKTRAALGV

20 APÉNDICE B

ALINEACIONES DE SECUENCIAS

B2B3-1 (H3-mHSA-B1D2)

1 OVQLQESGGG LVKPGGLRL SCAASGFTFS SYWMSWVRQA PGKGLEWVAN
 51 INRDGSASYY VDSVKGRFTI SRDDAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARDR
 101 GVGYFDLWGR GTLTVSSAS TGGGGSGGGG SGGGGSQSAL TQPASVSGSP
 151 GQSITISCTG TSSDVGGYNF VSWYQQHPGK APKLMYDVS DRPSGVSDRF
 201 SGSKSGNTAS LIISGLQADD EADYYCSSYG SSSTHVIFGG GTKVTVLGAA
 251 SDAHKSEVAH RFKDLGEENF KALVLIQFAQ YLQQSPFEDH VKLVNEVTEF
 301 AKTCVADESA ENCDKSLHTL FGDKLCTVAT LRETYGEMAD CCAKQEPERN
 351 ECFLQHKDDN PNLPRLVRPE VDVMCTAFHD NEETFLKKYL YEIARRHPYF
 401 YAPELLFFAK RYKAATFECQ QAADKAACLL PKLDELRLDEG KASSAKQRLK
 451 CASLQKFER AFKAWAVARL SQRFPKAQFA EVSKLVTDLT KVHTECCHGD
 501 LLECADDRAD LAKYICENQD SISSKLKECC EKPLLEKSHC IAEVENDEMP
 551 ADLPSLAADF VESKDVKKNY AEAKDVFGLM FLYEYARRHP DYSVVLRL
 601 AKTYETTLEK CCAAADPHEC YAKVFDFKP LVEEPQNLIK QNCELFEQLG
 651 EYKFQNALLV RYTKKVPQVS TP TLVEVSRN LGKVGSKCCK HPEAKRMPCA
 701 EDYLSVVINQ LCVLHEKTPV SDRVTKCCTE SLVNRRPCFS ALEVDETYVP
 751 KEFQAETFTF HADICTLSEK ERQIKKKQTL VELVKHKPKA TKEQLKAVMD
 801 DFAAFVEKCC KADDKETCFA EEGKKLVAAS QAALGLAAAL QVQLVQSGAE
 851 VKKPGESLKI SCKGSGYSFT SYWIAWVRQM PGKGLEYMGL IYPGDSDTKY
 901 SPSFQGQVTI SVDKSVSTAY LQWSSLKPSD SAVYFCARHD VGYCTDRTCA
 951 KWPEWLGVWG QGTLTVSSG GGGSSGGSG GGGSQSLTQ PPSVSAAPGQ
 1001 KVTIISCSGSS SNIGNNYVSW YQQLPGTAPK LLIYDHTNRP AGVPDRFSGS
 1051 KSGTSASLAI SGFRSEDEAD YYCASWDYTL SGWVFGGGTK LTVLG

Seroalbúmina humana modificada

Anti-ErbB3 scFv (H3)

Anti-ErbB2 scFv (B1D2)

Los bucles de CDR están destacados en H3 (azul con CDRs rosas) y B1D2 (rosa con CDRs ciano). Los conectores a HSA modificada se muestran en rojo.

Alineamientos de secuencias para variantes de B2B3/mHSA

ES 2 525 065 T3

	1	45
A5-mHSA-ML3.9	(1) QVQLVQSGGGLVKPGGLRLSCAASGFSFNTYDMNWVRQAPGKGL	
A5-mHSA-B1D2	(1) QVQLVQSGGGLVKPGGLRLSCAASGFSFNTYDMNWVRQAPGKGL	
A5-mHSA-F5B6H2	(1) QVQLVQSGGGLVKPGGLRLSCAASGFSFNTYDMNWVRQAPGKGL	
B12-mHSA-B1D2	(1) QVQLVQSGGGLVQPGGLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGL	
B12-mHSA-F5B6H2	(1) QVQLVQSGGGLVQPGGLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGL	
F4-mHSA-B1D2	(1) QVQLQESGGGLVKPGGLRLSCAASGFTFSSYAMSWSWVRQAPGKGL	
F4-mHSA-F5B6H2	(1) QVQLQESGGGLVKPGGLRLSCAASGFTFSSYAMSWSWVRQAPGKGL	
H3-mHSA-B1D2	(1) QVQLQESGGGLVKPGGLRLSCAASGFTFSSYMSWSWVRQAPGKGL	
H3-mHSA-F5B6H2	(1) QVQLQESGGGLVKPGGLRLSCAASGFTFSSYMSWSWVRQAPGKGL	
	46	90
A5-mHSA-ML3.9	(46) EWVSSI SSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAED	
A5-mHSA-B1D2	(46) EWVSSI SSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAED	
A5-mHSA-F5B6H2	(46) EWVSSI SSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAED	
B12-mHSA-B1D2	(46) EWVGSIWSNGSISGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRPED	
B12-mHSA-F5B6H2	(46) EWVGSIWSNGSISGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRPED	
F4-mHSA-B1D2	(46) EWVSTISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED	
F4-mHSA-F5B6H2	(46) EWVSTISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED	
H3-mHSA-B1D2	(46) EWVANTNRDGSAYYVDSVKGRTFISRDDAKNSLYLQMNSLRAED	
H3-mHSA-F5B6H2	(46) EWVANINRDGSASYYVDSVKGRTFISRDDAKNSLYLQMNSLRAED	
	91	135
A5-mHSA-ML3.9	(91) TAVYYCARDG---VATTPFDYWGQGTLTVS---SGGGGSGGGGS	
A5-mHSA-B1D2	(91) TAVYYCARDG---VATTPFDYWGQGTLTVS---SGGGGSGGGGS	
A5-mHSA-F5B6H2	(91) TAVYYCARDG---VATTPFDYWGQGTLTVS---SGGGGSGGGGS	
B12-mHSA-B1D2	(91) TAVYYCARDLGAKQWLEGFDYWGQGTLTVSSASTGGGGSGGGGS	
B12-mHSA-F5B6H2	(91) TAVYYCARDLGAKQWLEGFDYWGQGTLTVSSASTGGGGSGGGGS	
F4-mHSA-B1D2	(91) TAVYYCAKGYSSSWSEVASGYWGQGTLTVSSASTGGGGSGGGGS	
F4-mHSA-F5B6H2	(91) TAVYYCAKGYSSSWSEVASGYWGQGTLTVSSASTGGGGSGGGGS	
H3-mHSA-B1D2	(91) TAVYYCARDR---GVGYFDLWGRGTLTVSSASTGGGGSGGGGS	
H3-mHSA-F5B6H2	(91) TAVYYCARDR---GVGYFDLWGRGTLTVSSASTGGGGSGGGGS	
	136	180
A5-mHSA-ML3.9	(130) GGGGSQSVLTQPPS-VSGAPGQRVTISCTGSSNIGAGYDVHWYQ	
A5-mHSA-B1D2	(130) GGGGSQSVLTIQPPS-VSGAPGQRVTISCTGSSNIGAGYDVHWYQ	
A5-mHSA-F5B6H2	(130) GGGGSQSVLTQPPS-VSGAPGQRVTISCTGSSNIGAGYDVHWYQ	
B12-mHSA-B1D2	(136) GGGGSSYELTQDPA-VSVALQGTVRITCQGDSLRS---YYASWYQ	
B12-mHSA-F5B6H2	(136) GGGGSSYELTQDPA-VSVALQGTVRITCQGDSLRS---YYASWYQ	
F4-mHSA-B1D2	(136) GGGGSAIVMTQSPSSLASAVGDRVTITCRASQGIR---NDLGWYQ	
F4-mHSA-F5B6H2	(136) GGGGSAIVMTQSPSSLASAVGDRVTITCRASQGIR---NDLGWYQ	
H3-mHSA-B1D2	(132) GGGGSQSALTQPAS-VSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNFVSWYQ	
H3-mHSA-F5B6H2	(132) GGGGSQSALTQPAS-VSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNFVSWYQ	
	181	225
A5-mHSA-ML3.9	(174) QLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDFSGSKSGTSASLAITGLQAED	
A5-mHSA-B1D2	(174) QLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDFSGSKSGTSASLAITGLQAED	
A5-mHSA-F5B6H2	(174) QLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDFSGSKSGTSASLAITGLQAED	
B12-mHSA-B1D2	(177) QKPGQAPVLVIYGKNRNPSCI PDRFSGSTSNGN3ASLTITGAQAED	
B12-mHSA-F5B6H2	(177) QKPGQAPVLVIYGKNRNPSCI PDRFSGSTSNGN3ASLTITGAQAED	
F4-mHSA-B1D2	(178) QKAGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLQPDD	
F4-mHSA-F5B6H2	(178) QKAGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLQPDD	
H3-mHSA-B1D2	(176) QHPGKAPKLMYDVSDRPSGVSDRSGSKSGNTASLIISGLQADD	
H3-mHSA-F5B6H2	(176) QHPGKAPKLMYDVSDRPSGVSDRSGSKSGNTASLIISGLQADD	

ES 2 525 065 T3

	226	
A5-mHSA-ML3.9	(219) EADYYCQSYDSS-LSALFGGGTKLTVLG-AASDAHKSEVAHRFKD	
A5-mHSA-B1D2	(219) EADYYCQSYDSS-LSALFGGGTKLTVLG-AASDAHKSEVAHRFKD	
A5-mHSA-F5B6H2	(219) EADYYCQSYDSS-LSALFGGGTKLTVLG-AASDAHKSEVAHRFKD	
B12-mHSA-B1D2	(222) EADYYCNSRDSSGNHWVFGGKTVTBLG-AASDAHKSEVAHRFKD	
B12-mHSA-F5B6H2	(222) EADYYCNSRDSSGNHWVFGGKTVTBLG-AASDAHKSEVAHRFKD	
F4-mHSA-B1D2	(223) FATYFCQQAHSF--PPTFGGGTKVEIKRGAASDAHKSEVAHRFKD	
F4-mHSA-F5B6H2	(223) FATYFCQQAHSF--PPTFGGGTKVEIKRGAASDAHKSEVAHRFKD	
H3-mHSA-B1D2	(221) EADYYCSSYGSSTHVIFFGGKTVTBLG-AASDAHKSEVAHRFKD	
H3-mHSA-F5B6H2	(221) EADYYCSSYGSSTHVIFFGGKTVTBLG-AASDAHKSEVAHRFKD	
	270	
	271	315
A5-mHSA-ML3.9	(262) LGEENFKALVLIAFAAQYLQQSPFEDHVKLNEVTEFAKTCVADES	
A5-mHSA-B1D2	(262) LGEENFKALVLIAFAAQYLQQSPFEDHVKLNEVTEFAKTCVADES	
A5-mHSA-F5B6H2	(262) LGEENFKALVLIAFAAQYLQQSPFEDHVKLNEVTEFAKTCVADES	
B12-mHSA-B1D2	(266) LGEENFKALVLIAFAAQYLQQSPFEDHVKLNEVTEFAKTCVADES	
B12-mHSA-F5B6H2	(266) LGEENFKALVLIAFAAQYLQQSPFEDHVKLNEVTEFAKTCVADES	
F4-mHSA-B1D2	(266) LGEENFKALVLIAFAAQYLQQSPFEDHVKLNEVTEFAKTCVADES	
F4-mHSA-F5B6H2	(266) LGEENFKALVLIAFAAQYLQQSPFEDHVKLNEVTEFAKTCVADES	
H3-mHSA-B1D2	(265) LGEENFKALVLIAFAAQYLQQSPFEDHVKLNEVTEFAKTCVADES	
H3-mHSA-F5B6H2	(265) LGEENFKALVLIAFAAQYLQQSPFEDHVKLNEVTEFAKTCVADES	
	316	360
A5-mHSA-ML3.9	(307) AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFL	
A5-mHSA-B1D2	(307) AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFL	
A5-mHSA-F5B6H2	(307) AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFL	
B12-mHSA-B1D2	(311) AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFL	
B12-mHSA-F5B6H2	(311) AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFL	
F4-mHSA-B1D2	(311) AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFL	
F4-mHSA-F5B6H2	(311) AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFL	
H3-mHSA-B1D2	(310) AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFL	
H3-mHSA-F5B6H2	(310) AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFL	
	361	405
A5-mHSA-ML3.9	(352) QHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPY	
A5-mHSA-B1D2	(352) QHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPY	
A5-mHSA-F5B6H2	(352) QHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPY	
B12-mHSA-B1D2	(356) QHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPY	
B12-mHSA-F5B6H2	(356) QHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPY	
F4-mHSA-B1D2	(356) QHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPY	
F4-mHSA-F5B6H2	(356) QHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPY	
H3-mHSA-B1D2	(355) QHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPY	
H3-mHSA-F5B6H2	(355) QHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIARRHPY	
	406	450
A5-mHSA-ML3.9	(397) FYAPELLFFAKRYKAATFECQCQAADKAACLLPKLDEL.RDEGKASS	
A5-mHSA-B1D2	(397) FYAPELLFFAKRYKAATFECQCQAADKAACLLPKLDEL.RDEGKASS	
A5-mHSA-F5B6H2	(397) FYAPELLFFAKRYKAATFECQCQAADKAACLLPKLDEL.RDEGKASS	
B12-mHSA-B1D2	(401) FYAPELLFFAKRYKAATFECQCQAADKAACLLPKLDEL.RDEGKASS	
B12-mHSA-F5B6H2	(401) FYAPELLFFAKRYKAATFECQCQAADKAACLLPKLDEL.RDEGKASS	
F4-mHSA-B1D2	(401) FYAPELLFFAKRYKAATFECQCQAADKAACLLPKLDEL.RDEGKASS	
F4-mHSA-F5B6H2	(401) FYAPELLFFAKRYKAATFECQCQAADKAACLLPKLDEL.RDEGKASS	
H3-mHSA-B1D2	(400) FYAPELLFFAKRYKAATFECQCQAADKAACLLPKLDEL.RDEGKASS	
H3-mHSA-F5B6H2	(400) FYAPELLFFAKRYKAATFECQCQAADKAACLLPKLDEL.RDEGKASS	
	451	495
A5-mHSA-ML3.9	(442) AKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAFAEVSKLVTDL	

ES 2 525 065 T3

A5-mHSA-B1D2	(442)	AKQRLKCASTLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL	
A5-mHSA-F5B6H2	(442)	AKQRLKCASTLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL	
B12-mHSA-B1D2	(446)	AKQRLKCASTLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL	
B12-mHSA-F5B6H2	(446)	AKQRLKCASTLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL	
F4-mHSA-B1D2	(446)	AKQRLKCASTLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL	
F4-mHSA-F5B6H2	(446)	AKQRLKCASTLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL	
H3-mHSA-B1D2	(445)	AKQRLKCASTLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL	
H3-mHSA-F5B6H2	(445)	AKQRLKCASTLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL	
			496
A5-mHSA-ML3.9	(487)	TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPL	540
A5-mHSA-B1D2	(487)	TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPL	
A5-mHSA-F5B6H2	(487)	TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPL	
B12-mHSA-B1D2	(491)	TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPL	
B12-mHSA-F5B6H2	(491)	TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPL	
F4-mHSA-B1D2	(491)	TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPL	
F4-mHSA-F5B6H2	(491)	TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPL	
H3-mHSA-B1D2	(490)	TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPL	
H3-mHSA-F5B6H2	(490)	TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPL	
			541
A5-mHSA-ML3.9	(532)	LEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG	585
A5-mHSA-B1D2	(532)	LEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG	
A5-mHSA-F5B6H2	(532)	LEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG	
B12-mHSA-B1D2	(536)	LEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG	
B12-mHSA-F5B6H2	(536)	LEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG	
F4-mHSA-B1D2	(536)	LEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG	
F4-mHSA-F5B6H2	(536)	LEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG	
H3-mHSA-B1D2	(535)	LEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG	
H3-mHSA-F5B6H2	(535)	LEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG	
			586
A5-mHSA-ML3.9	(577)	MFLYEYARRIIPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV	630
A5-mHSA-B1D2	(577)	MFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV	
A5-mHSA-F5B6H2	(577)	MFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV	
B12-mHSA-B1D2	(581)	MFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV	
B12-mHSA-F5B6H2	(581)	MFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV	
F4-mHSA-B1D2	(581)	MFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV	
F4-mHSA-F5B6H2	(581)	MFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV	
H3-mHSA-B1D2	(580)	MFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV	
H3-mHSA-F5B6H2	(580)	MFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV	
			631
A5-mHSA-ML3.9	(622)	FDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQV	675
A5-mHSA-B1D2	(622)	FDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQV	
A5-mHSA-F5B6H2	(622)	FDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQV	
B12-mHSA-B1D2	(626)	FDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQV	
B12-mHSA-F5B6H2	(626)	FDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQV	
F4-mHSA-B1D2	(626)	FDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQV	
F4-mHSA-F5B6H2	(626)	FDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQV	
H3-mHSA-B1D2	(625)	FDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQV	
H3-mHSA-F5B6H2	(625)	FDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQV	
			676
A5-mHSA-ML3.9	(667)	STPTLVEVSRLNLGVGSKCCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL	720
A5-mHSA-B1D2	(667)	STPTLVEVSRLNLGVGSKCCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL	
A5-mHSA-F5B6H2	(667)	STPTLVEVSRLNLGVGSKCCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL	

ES 2 525 065 T3

B12-mHSA-B1D2	(671)	STPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL	
B12-mHSA-F5B6H2	(671)	STPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL	
F4-mHSA-B1D2	(671)	STPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL	
F4-mHSA-F5B6H2	(671)	STPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL	
H3-mHSA-B1D2	(670)	STPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL	
H3-mHSA-F5B6H2	(670)	STPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL	
			721
A5-mHSA-ML3.9	(712)	HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFT	765
A5-mHSA-B1D2	(712)	HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFT	
A5-mHSA-F5B6H2	(712)	HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFT	
B12-mHSA-B1D2	(716)	HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFT	
B12-mHSA-F5B6H2	(716)	HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFT	
F4-mHSA-B1D2	(716)	HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFT	
F4-mHSA-F5B6H2	(716)	HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFT	
H3-mHSA-B1D2	(715)	HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFT	
H3-mHSA-F5B6H2	(715)	HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFT	
			766
A5-mHSA-ML3.9	(757)	FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAA	810
A5-mHSA-B1D2	(757)	FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAA	
A5-mHSA-F5B6H2	(757)	FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAA	
B12-mHSA-B1D2	(761)	FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAA	
B12-mHSA-F5B6H2	(761)	FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAA	
F4-mHSA-B1D2	(761)	FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAA	
F4-mHSA-F5B6H2	(761)	FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAA	
H3-mHSA-B1D2	(760)	FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAA	
H3-mHSA-F5B6H2	(760)	FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAA	
			811
A5-mHSA-ML3.9	(802)	FVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAAALGLAAALQVQLVQSGA	855
A5-mHSA-B1D2	(802)	FVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAAALGLAAALQVQLVQSGA	
A5-mHSA-F5B6H2	(802)	FVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAAALGLAAALQVQLVQSGA	
B12-mHSA-B1D2	(806)	FVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAAALGLAAALQVQLVQSGA	
B12-mHSA-F5B6H2	(806)	FVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAAALGLAAALQVQLVQSGA	
F4-mHSA-B1D2	(806)	FVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAAALGLAAALQVQLVQSGA	
F4-mHSA-F5B6H2	(806)	FVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAAALGLAAALQVQLVQSGA	
H3-mHSA-B1D2	(805)	FVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAAALGLAAALQVQLVQSGA	
H3-mHSA-F5B6H2	(805)	FVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAAALGLAAALQVQLVQSGA	
			856
A5-mHSA-ML3.9	(847)	EVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQMPGKGLEYMLIYPG	900
A5-mHSA-B1D2	(847)	EVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQMPGKGLEYMLIYPG	
A5-mHSA-F5B6H2	(847)	EVQPGGSLRLSCAASGFTFRSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGR	
B12-mHSA-B1D2	(851)	EVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQMPGKGLEYMLIYPG	
B12-mHSA-F5B6H2	(851)	EVQPGGSLRLSCAASGFTFRSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGR	
F4-mHSA-B1D2	(851)	EVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQMPGKGLEYMLIYPG	
F4-mHSA-F5B6H2	(851)	EVQPGGSLRLSCAASGFTFRSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGR	
H3-mHSA-B1D2	(850)	EVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQMPGKGLEYMLIYPG	
H3-mHSA-F5B6H2	(850)	EVQPGGSLRLSCAASGFTFRSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGR	
			901
A5-mHSA-ML3.9	(892)	DSDTKYSPSFQGQVTISVDKSVSTAYLQWSSLKPSDSAVYFCARH	945
A5-mHSA-B1D2	(892)	DSDTKYSPSFQGQVTISVDKSVSTAYLQWSSLKPSDSAVYFCARH	
A5-mHSA-F5B6H2	(892)	GDNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKM	
B12-mHSA-B1D2	(896)	DSDTKYSPSFQGQVTISVDKSVSTAYLQWSSLKPSDSAVYFCARH	
B12-mHSA-F5B6H2	(896)	GDNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKM	

ES 2 525 065 T3

F4-mHSA-B1D2	(896)	DSDTKYSPSFQGQVTISVDKSVSTAYLQWSSLKPSDSAVYFCARH	
F4-mHSA-F5B6H2	(896)	GDNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKM	
H3-mHSA-B1D2	(895)	DSDTKYSPSFQGQVTISVDKSVSTAYLQWSSLKPSDSAVYFCARH	
H3-mHSA-F5B6H2	(895)	GDNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKM	
			946
A5-mHSA-ML3.9	(937)	DVGYCSSSNCAKWPEYFQHWGQGTLTVVSSGGGSGGGSGGGGS	990
A5-mHSA-B1D2	(937)	DVGYCTDRCAKWPWLGVWGQGTLTVVSSGGGSGGGSGGGGS	
A5-mHSA-F5B6H2	(937)	TSNAVG-----FDYWGQGTLTVVSSGGGSGGGSGGGGS	
B12-mHSA-B1D2	(941)	DVGYCTDRCAKWPWLGVWGQGTLTVVSSGGGSGGGSGGGGS	
B12-mHSA-F5B6H2	(941)	TSNAVG-----FDYWGQGTLTVVSSGGGSGGGSGGGGS	
F4-mHSA-B1D2	(941)	DVGYCTDRCAKWPWLGVWGQGTLTVVSSGGGSGGGSGGGGS	
F4-mHSA-F5B6H2	(941)	TS-----NAVGF DYWGQGTLTVVSSGGGSGGGSGGGSG	
H3-mHSA-B1D2	(940)	DVGYCTDRCAKWPWLGVWGQGTLTVVSSGGGSGGGSGGGGS	
H3-mHSA-F5B6H2	(940)	TSNAVG-----FDYWGQGTLTVVSSGGGSGGGSGGGSG	
			991
A5-mHSA-ML3.9	(982)	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCGSSSNIGNNNY-VSWYQQLPGTA	1035
A5-mHSA-B1D2	(982)	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCGSSSNIGNNNY-VSWYQQLPGTA	
A5-mHSA-F5B6H2	(972)	QSVLTQPPSVSGAPGQRTVISCTGRHSNIGLGYGVHWYQQLPGTA	
B12-mHSA-B1D2	(986)	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCGSSSNIGNNNY-VSWYQQLPGTA	
B12-mHSA-F5B6H2	(976)	QSVLTQPPSVSGAPGQRTVISCTGRHSNIGLGYGVHWYQQLPGTA	
F4-mHSA-B1D2	(986)	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCGSSSNIGNNNY-VSWYQQLPGTA	
F4-mHSA-F5B6H2	(976)	QSVLTQPPSVSGAPGQRTVISCTGRHSNIGLGYGVHWYQQLPGTA	
H3-mHSA-B1D2	(985)	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCGSSSNIGNNNY-VSWYQQLPGTA	
H3-mHSA-F5B6H2	(975)	QSVLTQPPSVSGAPGQRTVISCTGRHSNIGLGYGVHWYQQLPGTA	
			1036
Ab-mHSA-ML3.9	(1026)	PKLLIYDHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAIISGFRSEDEADYYC	1080
A5-mHSA-B1D2	(1026)	PKLLIYDHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAIISGFRSEDEADYYC	
A5-mHSA-F5B6H2	(1017)	PKLLIYGNTRPSGVVPDRFSGFKSGTSASLAIITGLQAEDEADYYC	
B12-mHSA-B1D2	(1030)	PKLLIYDHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAIISGFRSEDEADYYC	
B12-mHSA-F5B6H2	(1021)	PKLLIYGNTRPSGVVPDRFSGFKSGTSASLAIITGLQAEDEADYYC	
F4-mHSA-B1D2	(1030)	PKLLIYDHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAIISGFRSEDEADYYC	
F4-mHSA-F5B6H2	(1021)	PKLLIYGNTRPSGVVPDRFSGFKSGTSASLAIITGLQAEDEADYYC	
H3-mHSA-B1D2	(1029)	PKLLIYDHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAIISGFRSEDEADYYC	
H3-mHSA-F5B6H2	(1020)	PKLLIYGNTRPSGVVPDRFSGFKSGTSASLAIITGLQAEDEADYYC	
			1081
A5-mHSA-ML3.9	(1071)	ASWDYTL SGWVFGGGTKLT VLG--	1104
A5-mHSA-B1D2	(1071)	ASWDYTL SGWVFGGGTKLT VLG--	
A5-mHSA-F5B6H2	(1062)	QSYDRRT PGWVFGGGTKLT VLG--	
B12-mHSA-B1D2	(1075)	ASWDYTL SGWVFGGGTKLT VLG--	

APÉNDICE C

AGENTES ANTI-CÁNCER

<u>Agentes anticáncer para combinación con B2B3-1</u>	<u>Nombre(s) de la marca</u>	<u>Fabricante/Propietario</u>
<u>Anticuerpos anti-IGF1R</u>		
AMG 479 (mAb totalmente humanizado)		Amgen
IMCA12 (mAb totalmente humanizado)		ImClone
NSC-742460		Dyax
19D12 (mAb totalmente humanizado)		
CP751-871 (mAb totalmente humanizado)		Pfizer
H7C10 (mAb humanizado)		
alphaIR3 (ratón)		
scFV/FC (quimera de ratón/humano)		
EM/164 (ratón)		
MK-0646, F50035		Pierre Fabre Medicament, Merck

<u>Pequeñas moléculas dirigidas a IGF1R</u>		
NVP-AEW541		Novartis
BMS-536,924 (1H-benzoimidazol-2-il)-1H-piridin-2-ona)		Bristol-Myers Squibb
BMS-554,417		Bristol-Myers Squibb
Cicloligan		
TAE226		
PQ401		
<u>Anticuerpos monoclonales anti-EGFR</u>		
INCB7839		Incyte
Bevacizumab	Avastin	Genentech
Cetuximab	Erbxit®	LMCLONE
mAb 806		
Matuzumab (EMD72000)		
Nimotuzumab (TheraCIM)		
Panitumumab	Vectibix®	Amgen
<u>Sustancias terapéuticas anti-ErbB3</u>		
U3-1287 / AMG888		U3 Pharma/Amgen
MM-121		Merrimack Pharmaceuticals
<u>Sustancias terapéuticas anti-ErbB2</u>		
Trastuzumab	Herceptina	Genentech
HKI-272	Neratinib	Wyeth
KOS-953	Tanespimicina	Kosan Biosciences
<u>Inhibidores de la dimerización Her/ErbB</u>		
2C4, R1273	Pertuzumab, Omintarg	Genentech, Roche
<u>Pequeñas moléculas dirigidas a EGFR</u>		
CI-1033 (PD 183805)		Pzifer, Inc.
EKB-569		
Gefitinib	IRessa®	AstraZeneca
Lapatinib (GW572016)		GlaxoSmithKline

Lapatinib Ditosilato	Tykerb®	SmithKline Beecham
Erlotinib HCl (OSI-774)	Tarceva®	OSI Pharms
PD158780		
PKI-166		Novartis
Tirfostina AG 1478 (4-(3-Cloroanillino)-6,7-dimetoxiquinazolina)		
<u>Terapias con anticuerpos anti-cmet</u>		
AVEO (AV299)		AVEO
AMG102		Amgen
5D5 (OA-5D5)		Genentech
<u>Pequeñas moléculas dirigidas a cmet</u>		
PHA665752		
ARQ-650RP		ArQule
ARQ 197		ArQule
<u>Agentes alquilantes</u>		
BCNU→1,3-bis t2-cloroetil)-nitrosourea		
Bendamustina		
Busulfano	Myleran	GlaxoSmithKline
Carboplatino	Paraplatino	Bristol-Myers Squibb
Carboquona		
Carmustina		
CCNU→1,-(2-cloroetil)-3-ciclohexil-1-nitrosourea (metil CCNU)		
Clorambucilo	Leukeran®	Smithkline Beecham
Clormetina		
Cisplatino (Cisplatino, CDDP)	Platinol	Bristol-Myers
Ciclofosfamida	Cytoxan	Bristol-Myers Squibb
	Neosar	Teva Parenteral
Dacarbazina (DTIC)		
Fotemustina		
Hexametilmelamina (Altretamina, HMM)	Hexalen®	MGI Pharma, Inc.
Ifosfamida	Mitoxana®	ASTA Medica
Lomustina		

Mannosulfano		
Melfalano	Alkeran®	GlaxoSmithKline
Nedaplatino		
Nimustina		
Oxaliplatino	Eloxatin®	Sanofi-Aventis US
Prednimustina		
Procarbazina HCl	Matulane	Sigma-Tau Pharmaceuticals, Inc.
Inhibidor de ribonucleótido reductasa (RNR)		
Ranimustina		
Satraplatino		
Semustina		
Estreptozocina		
Temozolomida		
Treosulfano		
Triaziquona		
Trieten Melamina		
Tiotepa		Bedford, Abraxis, Teva
tetranitrato de triplatino		
Trofosfamida		
Uramustina		
<u>Antimetabolitos</u>		
5-azacitidina		
Flourouracilo (5-FU)/Capecitabina		
6-mercaptopurina		
(Mercaptopurina, 6-MP)		
6-Tioguanina (6-TG)	Purinethol®	Teva
Arabinósido de citosina (Citarabina, Ara-C)	Thioguanine®	GlaxoSmithKline
Azatioprina	Azasan®	AAIPHARMA LLC
Capecitabina	XELODA®	HLR (Roche)
Cladribina (2-CdA, 2-clorodesoxiadenosina)	Leustatin®	Ortho Biotech
5-Trifluorometil-2'-desoxiuridina		
Fosdfato de fludarabina	Fludara®	Bayer Health Care
Floxuridina (5-fluoro-2')	FUDR®	Hospira, Inc.
Metotrexato sodio	Trexall	Barr

Pemetrexed	Alimta®	Lilly
Pentostatina	Nipent®	Hospira, Inc.
Raltitrexed	Tomudex®	AstraZeneca
Tegafur		
<u>Inhibidores de aromatasas</u>		
Ketoconazol		
<u>Glucocorticoides</u>		
Dexametasona	Decadron® Dexasone, Diodex, Hexadrol, Maxidex	Wyeth, Inc.
Prednisolona		
Prednisona	Deltasone, Orasone, Liquid Pred, Sterapred®	
<u>Immunoterapéuticos</u>		
Alfa interferón		
Inhibidor de la angiogénesis	Avastin®	Genentech
IL-12 → Interleucina 12		
IL-2 → Interleucina 2 (Aldesleukin)	Proleukin ®	Chiron
<u>Inhibidores de cinasas</u>		
AMG 386		Amgen
Axitinib ((AG-013736)		Pfizer, Inc
Bosutinib (SKI-606)		Wyeth
Brivanib alalinato (BMS-582664)		BMS
Cediranib (AZD2171)	Recentin	AstraVeneca
Dasatinib (BMS-354825)	Sprycel®	Bristol-Myers Squibb
Mesilato de imatinib	Gleevec	Novartis
Lestaurtinib (CEP-701)		Cephalon
bifosfato de motesanib (AMG-706)		Amgen/Takeda
Hidrocloruro de nilotinib monohidrato	Tasigna®	Novartis
Pazopanib HCL (GW786034)	Armala	GSK
Semaxanib (SU5416)		Pharmacia,
tosilato de sorafenib	Nexavar®	Bayer
malato de sunitinib	Sutent®	Pfizer, Inc.

Vandetanib (AZD647)	Zactima	AstraZeneca
Vatalanib; PTK-787		Novartis; Bayer Schering Pharma
XL184, NSC718781		Exelixis, GSK
<u>Agentes dirigidos con microtúbulos</u>		
Docetaxel	Taxotere®	Sanofi-Aventis US
Ixabepilona	IXEMPRA™	Bristol-Myers Squibb
Larotaxel		
Ortataxel		
paclitaxel en nanopartículas (ABI-007)	Abraxane®	Abraxis BioScience, Inc.
Paclitaxel	Taxol®	Bristol-Myers Squibb
Tesetaxel		
sulfato de vinblastina	Velban®	Lilly
Vincristina	Oncovin®	Lilly
sulfato de vindesina	Eldisine®	Lilly
Vinflunina		
tartrato de vinorelbina	Navelbine®	Pierre Fabre
<u>Inhibidores de mTOR</u>		
Deforolimus (AP23573, MK 8669)		ARIAD Pharmaceuticals, Inc
Everolimus (RAD001, RAD001C)	Certican®, Afinitor	Novartis
Sirolimus (Rapamicina)	Rapamune®	Wyeth Pharma
Temsirolimus (CCI-779)	Torisel®	Wyeth Pharma
<u>Inhibidor de la síntesis de proteínas</u>		
L-asparaginasa	Elspar®	Merck & Co.
<u>Análogo de somatostatina</u>		
Acetato de octreotida	Sandostatin®	Novartis
<u>Inhibidores de topoisomerasas</u>		
Actinomicina D		
Camptotecina (CPT)		
Belotecán		
Citrato de daunorrubicina	Daunoxome®	Gilead

Hidrocloruro de doxorrubicina	Doxil®	Alza
Vepesid®	Vepesid®	Bristol-Myers Squibb
Etopósido	Etopophos	Hospira, Bedford, Teva Parenteral, Etc.
Irinotecán HCL (CPT-11)	Camptosar®	Pharmacia & Upjohn
Mitoxantrona HCL	Novantrona	EMD Serono
Rubitecán		
Tenipósido (VM-26)	Vumon®	Bristol-Myers Squibb
Topotecán HCL	Hycamtin®	GlaxoSmithKline
<u>Agentes quimioterapéuticos</u>		
Adriamicina, 5-Fluorouracilo, Citoxina, Bleomicina, Mitomicina C, Daunomicina, Carminomicina, Aminopterina, Dactinomicina, Mitomicinas, Esperamicinas Clofarabina, Mercaptopurina, Pentostatina, Tioguanina, Citarabina, Decitabina, Floxuridina, Gemcitabina (Gemzar), Enocitabina, Sapacitabina		
<u>Terapia hormonal</u>		
Abarelix	Plenaxis™	Amgen
Acetato de abiraterona	CB7630	BTG plc
Afimoxifeno	TamoGel	Ascend Therapeutics, Inc.
Anastrazol	Arimidex®	AstraZeneca
Inhibidor de aromatasas	Atamestano más toremifeno	Intarcia Therapeutics, Inc.
	Arzoxifeno	Eli Lilly & Co.
Asentar; DN-101		Novartis; Oregon Health & Science Univ.
Bicalutamida	Casodex®	AstraZeneca
Buserelina	Suprefact®	Sanofi Aventis
Cetrorelix	Cetrotide®	EMD Serono
Exemestano	Aromasin®	Pfizer
Exemestano	Xtane	Natco Pharma, Ltd.
Fadrozol (CGS 16949A)		
Flutamida	Eulexin®	Schering
Flutamida	Prostacur	Laboratorios Almirall, S.A.
Fulvestrant	Faslodex®	AstraZeneca
Acetato de goserelina	Zoladex®	AstraZeneca
Letrozol	Femara®	Novartis

Letrozol (CGS20267)	Femara	Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.
Letrozol	Estrochek	Jagsonpal Pharmaceuticals, Ltd.
Letrozol	Letrozole	Indchemie Health Specialities
Acetato de leuprolida	Eligard®	Sanofi Aventis
Acetato de leuprolida	Leopril	VHB Life Sciences, Inc.
Acetato de leuprolida	Lupron®/Lupron Depot	TAP Pharma
Acetato de leuprolida	Viador	Bayer AG
Acetato de megestrol	Megace®	Bristol-Myers Squibb
Acetato de magestrol	Valerato de Estradiol (Delestrogen)	Jagsonpal Pharmaceuticals, Ltd.
Acetato de medroxiprogesterona	Veraplex	Combiphar
MT206		Medisyn Technologies, Inc.
Nafareolina		
Decanoato de nandrolona	Zestabolín	Mankind Pharma, Ltd.
Nilutamida	Nilandron®	Aventis Pharmaceuticals
Raloxifeno HCL	Evista®	Lilly
Tamoxifeno	Taxifeno	Yung Shin Pharmaceutical
Tamoxifeno	Tomifeno	Alkem Laboratories, Ltd.
citrato de tamoxifeno	Nolvadex	AstraZeneca
citrato de tamoxifeno	Soltamox	EUSA Pharma, Inc.
citrato de tamoxifeno	Citrato de Tamoxifeno SOPHARMA	Sopharma JSCo.
citrato de toremifeno	Fareston®	GTx, Inc.
pamoato de triptorelin	Trelstar®	Watson Labs
pamoato de triptorelin	Trelstar Depot	Paladin Labs, Inc.
Inhibidor de Proteína Cinasa B (PKB)		
Inhibidor de Akt ASTEX		Astex Therapeutics
Inhibidores de Akt NERVIANO		Nerviano Medical Sciences
Inhibidor de AKT Cinase TELIK		Telik, Inc.
AKT DECIPHERA		Deciphera Pharmaceuticals, LLC
Perifosina (KRX0401, D-21266)		Keryx Biopharmaceuticals, Inc., AEterna Zentaris, Inc.
Perifosina con Docetaxel		Keryx Biopharmaceuticals, Inc., AEterna Zentaris, Inc.
Perifosina con Gemcitabina		AEterna Zentaris, Inc.
Perifosina con Paclitaxel		Keryx Biopharmaceuticals, Inc,

		AEterna Zentaris, Inc.
Inhibidor de Proteína Cinasa-B DEVELOGEN		DeveloGen AG
PX316		Oncothyreon, Inc.
RX0183		Rexahn Pharmaceuticals, Inc.
RX0201		Rexahn Pharmaceuticals, Inc.
VQD002		VioQuest Pharmaceuticals, Inc.
XL418		Exelixis, Inc.
ZEN027		AEterna Zentaris, Inc.
<u>Inhibidor de fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K)</u>		
BEZ235		Novartis AG
BGT226		Novartis AG
CAL101		Calistoga Pharmaceuticals, Inc.
CHR4432		Chroma Therapeutics, Ltd.
Inhibidores de Erk/PI3K ETERNA		AEterna Zentaris, Inc.
GDC0941		Genentech Inc./Piramed Limited/Roche Holdings, Ltd.
Enzastaurina HCL (LY317615)	Enzastaurina	Eli Lilly
LY294002/Wortmanina		
Inhibidores de PI3K SEMAFORE		Semafore Pharmaceuticals
PX866		Oncothyreon, Inc.
SF1126		Semafore Pharmaceuticals
VMD-8000		VM Discovery, Inc.
XL147		Exelixis, Inc.
XL147 con XL647		Exelixis, Inc.
XL765		Exelixis, Inc.
PI-103		Roche/Piramed
<u>Inhibidores de cinasas dependientes de ciclinas</u>		
CYC200, r-roscovitina	Seliciclib	Cyclacel Pharma
NSC-649890, L86-8275, HMR-1275	Alvocidib	NCI
<u>TLr9, CD289</u>		
IMOxine		Merck KGaA
HYB2055		Idera

IMO-2055		Isis Pharma
1018 ISS		Dynavax Technologies/UCSF
PF-3512676		Pfizer
Inhibidor de enzimas		
Lonafarnib (SCH66336)	Sarasar	SuperGen, U Arizona
<u>Anti-TRAIL</u>		
AMG-655		Aeterna Zentaris, Keryx Biopharma
Apo2L/TRAIL, AMG951		Genentech, Amgen
Apomab (mAb totalmente humanizado)		Genentech

<u>Agentes anticancer para combinación con B2B3-1</u>	<u>Diana</u>	<u>Fabricante/Propietario</u>
Otro		
Imprime PGG		Biothera
CHR-2797	AminopeptidaseM1	Chroma Therapeutics
E7820, NSC 719239	Integrin-alpha2	Eisai
INCB007839	ADAM 17, TACE	Incyte
CNF2024, BIIB021	Hsp90	Biogen Idec
MP470, HPK-56	Kit/Met/Ret	shearing-plough
SNDX-275/MS-275	HDAC	Syndax
Zamestra, Tipifamib, R115777	Ras	Janssen Pharma
Volociximab; Eos 200-4, M200	alpha5beta1 integrina	Biogen Idec; Eli Lilly/UCSF/PDL BioPharma
Apricoxib (TP2001)	Inhibidor de COX-2	Daiichi Sankyo; Tragara Pharma

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Merrimack Pharmaceuticals, Inc. et al.

<120> Ligadores de seroalbúmina humana y sus conjugados

5 <130> 06727/028W03

<150> 61/123,942

<151> 2008-04-11

<150> 61/115,797

<151> 2008-11-18

10 <160> 58

<170> PatentIn version 3.5

ES 2 525 065 T3

<210> 1
<211> 585
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 1

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

ES 2 525 065 T3

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
340 345 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

ES 2 525 065 T3

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585

<210> 2

<211> 1755

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 2

gacgctcaca agagcgaagt ggcacatagg ttcaaagatc tgggcgaaga gaactttaag 60

gccctcggtcc tgatcgctt cgcacagtagc ctccagcagt ctcccttga agatcacgtg 120

ES 2 525 065 T3

aaaactggtca	atgaggtgac	cgaatttgcc	aagacatgcg	tggctgatga	gagtgcagaa	180
aactgtgaca	aatcactgca	tactctcttt	ggagataagg	tgtgcaccgt	cgccacactc	240
agagagactt	atggggaaat	ggctgactgt	tgcgc当地	aggagcctga	acggaatgag	300
tgtttcctcc	agcacaagga	tgacaacccc	aatctgcccc	gcctcgatcg	acctgaggtc	360
gatgtgatgt	gcaccgcctt	tcatgacaac	gaagagacat	tcctgaagaa	atacctgtat	420
gaaattgctc	gtaggcaccc	atactttat	gcccccgagc	tcctgttctt	tgcaaagaga	480
tacaaagctg	ccttcactga	atgttgccag	gcagctgata	aggccgcata	tctcctgcct	540
aaactggacg	agctccggga	tgaaggtaag	gcttccagcg	ccaaacagcg	cctgaagtgc	600
gcttctctcc	agaagtttg	cgagcgagca	ttcaaagcct	gggctgtggc	ccgtctcagt	660
cagaggtttc	caaaggcaga	atttgctgag	gtctcaaaac	tggtgaccga	cctcacaaag	720
gtccatactg	agtgttgcca	cgagatctg	ctggaatgtg	ccgacgatag	agcagacctc	780
gctaaatata	tctgcgagaa	tcaggattcc	attagctcta	agctgaaaga	atgttgcgag	840
aagccctcc	tggaaaagag	tcattgtatc	gccgaggtgg	aaaacgacga	gatgccagca	900
gatctgccat	cactcgctgc	cgactttgtg	gaatccaaag	atgtctgaa	gaattacgca	960
gaggctaaag	acgtgttct	ggggatgttt	ctgtatgagt	acgccccg	tcaccccgat	1020
tatagcgtcg	tgctcctgct	ccgactggca	aagacctacg	aaacaactct	ggagaaatgt	1080
tgcgctgccc	cagaccctca	tgaatgttat	gctaagggtgt	tcgatgagtt	taagccactc	1140
gtcgaagagc	cccagaacct	gattaaacag	aattgcgaac	tgtcgagca	gctcggtgaa	1200
tacaagtttc	agaacgcct	gctcgatcg	tataccaaaa	aggccctca	ggtgtctaca	1260
ccaaactctgg	tggaggtcag	taggaatctg	ggcaaagtgg	gatcaaagtg	ttgcaaacac	1320
cccgaggcaa	agagaatgcc	ttgtgctgaa	gattacctct	ccgtcgatcg	gaaccagctc	1380
tgcgtgctgc	atgaaaagac	cccagtcagc	gatcggtgt	caaaatgtt	caccgaatct	1440
ctgggtcaatc	gccgaccctg	tttcaatgtcc	ctcgatgtt	acgaaactta	tgtgcctaag	1500
gagtttcagg	ctgaaacatt	cacccatcac	gccgatatact	gcactctgtc	cgagaaagaa	1560
aggcagatta	agaaaacagac	agcactggtc	gagctcgat	agcataaacc	aaaggctacc	1620
aaggagcagc	tgaaagccgt	catggacgt	ttcgcagctt	ttgtggaaaa	gtgtgc当地	1680
gccgacgata	aggagacttg	tttgcagaa	gagggaaaaa	agctcgatggc	tgccagccag	1740
gcagctctgg	gtctg					1755
<210>	3					
<211>	585					
<212>	PRT					
5 <213>	Homo sapiens					
<400>	3					

ES 2 525 065 T3

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

ES 2 525 065 T3

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
340 345 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp

ES 2 525 065 T3

500

505

510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585

<210> 4

<211> 1755

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 4

gatgcacaca agagttaggt tgctcatcg tttaaagatt tggagaaga aaatttcaaa	60
gccttgtgt tgattgcct tgctcagtt cttagcagt gtccattga agatcatgt	120
aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg tagctgtatgt gtcagctgaa	180
aattgtgaca aatcacttca taccctttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt	240
cgtgaaacct atggtaaat ggctgactgc tgcataaaac aagaacctga gagaaatgaa	300
tgcttcttgc aacacaaga tgacaaccca aaccccccc gattggtag accagagg	360
gatgtatgt gcactgcatt tcatgacaat gaagagacat ttttaaaaa atacttat	420
gaaattgcc aagacatcc ttactttat gccccggAAC tcctttctt tgctaaaagg	480
tataaagctg ctttacaga atgtgcctt gctgctgata aagctgcctg cctgtgc	540
aagctcgatg aacttcggg tgaaggaaag gcttcgtctg ccaaacagag actcaaatgt	600
gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct tccaaagcat gggcagtggc tcgcctgagc	660
cagagatttc ccaaagctga gttgcagaa gtttcaagt tagtgcacaga tcttacaaa	720
gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg cttgaatgtg ctgatgacag ggccggac	780
gccaagtata tctgtaaaa tcaggattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa	840
aaacctctgt tggaaaaatc ccactgcatt gccgaagtgg aaaatgtatgt gatgcctgct	900
gacttgcctt cattagctgc tgattttgtt gaaagtaagg atgttgcaa aaactatgt	960
gaggcaaagg atgtcttcc tggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcattctgat	1020

ES 2 525 065 T3

	tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc	1080
	tgtgccgctg cagatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaaacctt	1140
	gtggaagagc ctcagaattt aatcaaacaa aactgtgagc ttttaagca gctggagag	1200
	tacaaattcc agaatgcgtt attagttcgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact	1260
	ccaactcttg tagaggtctc aagaaaccta ggaaaagtgg gcagcaaatg ttgtaaacat	1320
	cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtcagaa gactatctat ccgtggcct gaaccagtta	1380
	tgtgtgtgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca caaaatgctg cacagagtcc	1440
	ttggtaaca ggcgaccatg ctttcagct ctgaaagtgc atgaaacata cgccccaaa	1500
	gagtttaatg ctgaaacatt cacccat gcagatatat gcacacttc tgagaaggag	1560
	agacaaatca agaaacaaac tgcacttgtt gagcttgta aacacaagcc caaggcaaca	1620
	aaagagcaac tgaaagctgt tatggatgat ttgcagctt ttgttagagaa gtgctgcaag	1680
	gctgacgata aggagacctg cttgccgag gaggtaaaa aacttgtgc tgcaagtcaa	1740
	gctgccttag gctta	1755
5	<210> 5	
	<211> 4	
	<212> PRT	
5	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Construcción sintética	
	<400> 5	
	Ala Ala Ala Leu	
10	1	
	<210> 6	
	<211> 588	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Construcción sintética	
	<400> 6	
	Ala Ala Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp	
	1 5 10 15	
	Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln	
	20 25 30	
	Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu	
	35 40 45	

ES 2 525 065 T3

Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn
50 55 60

Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val
65 70 75 80

Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys
85 90 95

Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn
100 105 110

Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr
115 120 125

Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu
130 135 140

Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe
145 150 155 160

Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp
165 170 175

Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly
180 185 190

Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys
195 200 205

Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln
210 215 220

Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp
225 230 235 240

Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys
245 250 255

Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp
260 265 270

Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu
275 280 285

Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp
290 295 300

ES 2 525 065 T3

Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys
305 310 315 320

Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu
325 330 335

Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu
340 345 350

Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp
355 360 365

Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val
370 375 380

Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln
385 390 395 400

Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys
405 410 415

Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn
420 425 430

Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg
435 440 445

Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys
450 455 460

Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys
465 470 475 480

Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val
485 490 495

Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe
500 505 510

His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys
515 520 525

Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys
530 535 540

Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
545 550 555 560

Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys
565 570 575

Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 7

<211> 588

ES 2 525 065 T3

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

5 <400> 7

Ala Ala Gln Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp
1 5 10 15

Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln
20 25 30

Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu
35 40 45

Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn
50 55 60

Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val
65 70 75 80

Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys
85 90 95

Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn
100 105 110

Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr
115 120 125

Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu
130 135 140

Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe
145 150 155 160

Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp
165 170 175

ES 2 525 065 T3

Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly
180 185 190

Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys
195 200 205

Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln
210 215 220

Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp
225 230 235 240

Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys
245 250 255

Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp
260 265 270

Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu
275 280 285

Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp
290 295 300

Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys
305 310 315 320

Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu
325 330 335

Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu
340 345 350

Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp
355 360 365

Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val
370 375 380

Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln
385 390 395 400

Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys
405 410 415

Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn
420 425 430

ES 2 525 065 T3

Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg
435 440 445

Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys
450 455 460

Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys
465 470 475 480

Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val
485 490 495

Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe
500 505 510

His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys
515 520 525

Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys
530 535 540

Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
545 550 555 560

Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys
565 570 575

Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 8

<211> 589

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 8

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

ES 2 525 065 T3

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

ES 2 525 065 T3

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
340 345 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu
580 585

<210> 9

ES 2 525 065 T3

<211> 592
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
5 <223> Construcción sintética
<400> 9

Ala Ala Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp
1 5 10 15

Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln
20 25 30

Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu
35 40 45

Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn
50 55 60

Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val
65 70 75 80

Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys
85 90 95

Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn
100 105 110

Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr
115 120 125

Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu
130 135 140

Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe
145 150 155 160

Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp
165 170 175

ES 2 525 065 T3

Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly
180 185 190

Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys
195 200 205

Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln
210 215 220

Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp
225 230 235 240

Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys
245 250 255

Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp
260 265 270

Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu
275 280 285

Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp
290 295 300

Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys
305 310 315 320

Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu
325 330 335

Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu
340 345 350

Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp
355 360 365

Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val
370 375 380

Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln
385 390 395 400

Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys
405 410 415

Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn

ES 2 525 065 T3

420

425

430

Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg
435 440 445

Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys
450 455 460

Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys
465 470 475 480

Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val
485 490 495

Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe
500 505 510

His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys
515 520 525

Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys
530 535 540

Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
545 550 555 560

Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys
565 570 575

Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu
580 585 590

<210> 10

<211> 592

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 10

Ala Ala Gln Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp
1 5 10 15

Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln
20 25 30

Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu
35 40 45

ES 2 525 065 T3

Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn
50 55 60

Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val
65 70 75 80

Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys
85 90 95

Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn
100 105 110

Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr
115 120 125

Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu
130 135 140

Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe
145 150 155 160

Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp
165 170 175

Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly
180 185 190

Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys
195 200 205

Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln
210 215 220

Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp
225 230 235 240

Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys
245 250 255

Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp
260 265 270

Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu
275 280 285

Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp

ES 2 525 065 T3

290

295

300

Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys
 305 310 315 320

Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu
 325 330 335

Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu
 340 345 350

Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp
 355 360 365

Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val
 370 375 380

Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln
 385 390 395 400

Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys
 405 410 415

Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn
 420 425 430

Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg
 435 440 445

Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys
 450 455 460

Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys
 465 470 475 480

Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val
 485 490 495

Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe
 500 505 510

His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys
 515 520 525

Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys
 530 535 540

Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
 545 550 555 560

Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys
 565 570 575

Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu
 580 585 590

ES 2 525 065 T3

<210> 11
<211> 588
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 11

Ala Ala Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp
1 5 10 15

Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln
20 25 30

Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu
35 40 45

Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn
50 55 60

Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val
65 70 75 80

Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys
85 90 95

Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn
100 105 110

Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr
115 120 125

Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu
130 135 140

Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe
145 150 155 160

Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp

ES 2 525 065 T3

165

170

175

Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly
180 185 190

Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys
195 200 205

Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln
210 215 220

Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp
225 230 235 240

Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys
245 250 255

Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp
260 265 270

Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu
275 280 285

Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp
290 295 300

Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys
305 310 315 320

Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu
325 330 335

Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu
340 345 350

Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp
355 360 365

Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val
370 375 380

Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln
385 390 395 400

Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys
405 410 415

ES 2 525 065 T3

Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn
420 425 430

Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg
435 440 445

Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys
450 455 460

Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys
465 470 475 480

Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val
485 490 495

Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe
500 505 510

His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys
515 520 525

Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys
530 535 540

Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
545 550 555 560

Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys
565 570 575

Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 12

<211> 588

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 12

Ala Ala Gln Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp
1 5 10 15

Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln
20 25 30

Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu

ES 2 525 065 T3

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

ES 2 525 065 T3

Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp
 290 295 300

 Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys
 305 310 315 320

 Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu
 325 330 335

 Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu
 340 345 350

 Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp
 355 360 365

 Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val
 370 375 380

 Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln
 385 390 395 400

 Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys
 405 410 415

 Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn
 420 425 430

 Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg
 435 440 445

 Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys
 450 455 460

 Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys
 465 470 475 480

 Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val
 485 490 495

 Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe
 500 505 510

 His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys
 515 520 525

 Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys
 530 535 540

 Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Ly
 545 550 555 560

 Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Ly
 565 570 575

 Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585

ES 2 525 065 T3

<210> 13

<211> 589

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Construcción sintética

<400> 13

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

ES 2 525 065 T3

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
340 345 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

ES 2 525 065 T3

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu
580 585

<210> 14

<211> 592

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 14

Ala Ala Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp
1 5 10 15

Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln
20 25 30

ES 2 525 065 T3

Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu
35 40 45

Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn
50 55 60

Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val
65 70 75 80

Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys
85 90 95

Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn
100 105 110

Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr
115 120 125

Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu
130 135 140

Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe
145 150 155 160

Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp
165 170 175

Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly
180 185 190

Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys
195 200 205

Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln
210 215 220

Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp
225 230 235 240

Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys
245 250 255

Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp
260 265 270

Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu
275 280 285

ES 2 525 065 T3

Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp
290 295 300

Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys	Lys
305					310					315					320

Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu
 325 330 335

Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu
 340 345 350

Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp
355 360 365

Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val
 370 375 380

Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln
 385 390 395 400

Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys
405 410 415

Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn
420 425 430

Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg
435 440 445

Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys
450 455 460

Val	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg	Val	Thr	Lys	Cys	Cys
465					470					475					480

Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val
485 490 495

Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe
500 505 510

His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys
515 520 525

Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys
530 535 540

Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
545 550 555 560

Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys
 565 570 575

Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu
580 585 590

ES 2 525 065 T3

<210> 15
<211> 592
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 15

Ala Ala Gln Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp
1 5 10 15

Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln
20 25 30

Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu
35 40 45

Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn
50 55 60

Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val
65 70 75 80

Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys
85 90 95

Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn
100 105 110

Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr
115 120 125

Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu
130 135 140

Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe
145 150 155 160

ES 2 525 065 T3

Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp
165 170 175

Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly
180 185 190

Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys
195 200 205

Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln
210 215 220

Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp
225 230 235 240

Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys
245 250 255

Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp
260 265 270

Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu
275 280 285

Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp
290 295 300

Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys
305 310 315 320

Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu
325 330 335

Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu
340 345 350

Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp
355 360 365

Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val
370 375 380

Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln
385 390 395 400

Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys
405 410 415

ES 2 525 065 T3

Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn
420 425 430

Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg
435 440 445

Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys
450 455 460

Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys
465 470 475 480

Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val
485 490 495

Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe
500 505 510

His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys
515 520 525

Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys
530 535 540

Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
545 550 555 560

Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys
565 570 575

Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu
580 585 590

<210> 16

<211> 1095

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 16

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

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

ES 2 525 065 T3

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

Ala Asn Ile Asn Arg Asp Gly Ser Ala Ser Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala
130 135 140

Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly
145 150 155 160

Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln
165 170 175

His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Asp Val Ser Asp Arg
180 185 190

Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr
195 200 205

Ala Ser Leu Ile Ile Ser Gly Leu Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr
210 215 220

Tyr Cys Ser Ser Tyr Gly Ser Ser Ser Thr His Val Ile Phe Gly Gly
225 230 235 240

Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ala Ala Ser Asp Ala His Lys Ser
245 250 255

Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala
260 265 270

Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu
275 280 285

ES 2 525 065 T3

Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys
290 295 300

Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu
305 310 315 320

Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly
325 330 335

Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys
340 345 350

Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg
355 360 365

Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr
370 375 380

Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe
385 390 395 400

Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe
405 410 415

Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys
420 425 430

Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg
435 440 445

Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala
450 455 460

Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala
465 470 475 480

Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys
485 490 495

Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala
500 505 510

Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu
515 520 525

Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val

ES 2 525 065 T3

530

535

540

Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe
545 550 555 560

Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val
565 570 575

Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr
580 585 590

Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu
595 600 605

Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val
610 615 620

Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys
625 630 635 640

Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn
645 650 655

Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro
660 665 670

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

Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu
690 695 700

Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val
705 710 715 720

Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg
725 730 735

Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu
740 745 750

Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser
755 760 765

Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val
770 775 780

ES 2 525 065 T3

Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp
785 790 795 800

Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu
805 810 815

Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala
820 825 830

Ala Leu Gly Leu Ala Ala Leu Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly
835 840 845

Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly
850 855 860

Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln Met
865 870 875 880

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Met Gly Leu Ile Tyr Pro Gly Asp Ser
885 890 895

Asp Thr Lys Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Val
900 905 910

Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Pro
915 920 925

Ser Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg His Asp Val Gly Tyr Cys
930 935 940

Thr Asp Arg Thr Cys Ala Lys Trp Pro Glu Trp Leu Gly Val Trp Gly
945 950 955 960

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly
965 970 975

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro
980 985 990

Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly
995 1000 1005

Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln
1010 1015 1020

Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp His Thr Asn
1025 1030 1035

ES 2 525 065 T3

Arg Pro Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly
1040 1045 1050

Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Phe Arg Ser Glu Asp Glu
1055 1060 1065

Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Tyr Thr Leu Ser Gly Trp
1070 1075 1080

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
1085 1090 1095

<210> 17

<211> 1092

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 17

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

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

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

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

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val
130 135 140

ES 2 525 065 T3

Ser Gly Ala Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser
145 150 155 160

Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro
165 170 175

Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser
180 185 190

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser
195 200 205

Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
210 215 220

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Ala Leu Phe Gly Gly Thr Lys
225 230 235 240

Leu Thr Val Leu Gly Ala Ala Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala
245 250 255

His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu
260 265 270

Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val
275 280 285

Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp
290 295 300

Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp
305 310 315 320

Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala
325 330 335

Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln
340 345 350

His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val
355 360 365

Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys
370 375 380

Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro
385 390 395 400

ES 2 525 065 T3

Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys
405 410 415

Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu
420 425 430

Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys
435 440 445

Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val
450 455 460

Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser
465 470 475

Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly
485 490 495

Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile
500 505 510

Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu
515 520 525

Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp
530 535 540

Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser
545 550 555 560

Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly
565 570 575

Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val
580 585 590

Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys
595 600 605

Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu
610 615 620

Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys
625 630 635 640

Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu
645 650 655

ES 2 525 065 T3

Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val
660 665 670

Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His
675 680 685

Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val
690 695 700

Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg
705 710 715 720

Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe
725 730 735

Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Gln Ala
740 745 750

Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu
755 760 765

Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys
770 775 780

Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala
785 790 795 800

Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe
805 810 815

Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly
820 825 830

Leu Ala Ala Ala Leu Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
835 840 845

Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr
850 855 860 865

Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys
865 870 875 880

Gly Leu Glu Tyr Met Gly Leu Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Lys
885 890 895

Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser

ES 2 525 065 T3

900	905	910
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Pro Ser Asp Ser		
915	920	925
Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg His Asp Val Gly Tyr Cys Thr Asp Arg		
930	935	940
Thr Cys Ala Lys Trp Pro Glu Trp Leu Gly Val Trp Gly Gln Gly Thr		
945	950	955
960		
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser		
965	970	975
Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser		
980	985	990
Ala Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser		
995	1000	1005
Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly		
1010	1015	1020
Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp His Thr Asn Arg Pro Ala		
1025	1030	1035
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala		
1040	1045	1050
Ser Leu Ala Ile Ser Gly Phe Arg Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr		
1055	1060	1065
Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Tyr Thr Leu Ser Gly Trp Val Phe Gly		
1070	1075	1080
Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly		
1085	1090	
<210> 18		
<211> 1083		
<212> PRT		
<213> Secuencia artificial		
<220>		
<223> Construcción sintética		
<400> 18		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly		
1	5	10
15		

ES 2 525 065 T3

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

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

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

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val
130 135 140

Ser Gly Ala Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser
145 150 155 160

Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro
165 170 175

Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser
180 185 190

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser
195 200 205

Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
210 215 220

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Ala Leu Phe Gly Gly Thr Lys
225 230 235 240

Leu Thr Val Leu Gly Ala Ala Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala
245 250 255

His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu

ES 2 525 065 T3

260

265

270

Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val
275 280 285

Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp
290 295 300

Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp
305 310 315 320

Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala
325 330 335

Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln
340 345 350

His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val
355 360 365

Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys
370 375 380

Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro
385 390 395 400

Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys
405 410 415

Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu
420 425 430

Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys
435 440 445

Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val
450 455 460

Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser
465 470 475 480

Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly
485 490 495

Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile
500 505 510

ES 2 525 065 T3

Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu
515 520 525

Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp
530 535 540

Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser
545 550 555 560

Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly
565 570 575

Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val
580 585 590

Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys
595 600 605

Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu
610 615 620

Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys
625 630 635 640

Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu
645 650 655

Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val
660 665 670

Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His
675 680 685

Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val
690 695 700

Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg
705 710 715 720

Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe
725 730 735

Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Gln Ala
740 745 750

Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu
755 760 765

ES 2 525 065 T3

Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys
770 775 780

Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala
785 790 795 800

Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe
805 810 815

Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly
820 825 830

Leu Ala Ala Ala Leu Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
835 840 845

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
850 855 860

Thr Phe Arg Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
865 870 875 880

Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Arg Gly Asp Asn Thr Tyr
885 890 895

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser
900 905 910

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
915 920 925

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Met Thr Ser Asn Ala Val Gly Phe Asp
930 935 940

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
945 950 955 960

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gln Ser Val Leu Thr
965 970 975

Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser
980 985 990

Cys Thr Gly Arg His Ser Asn Ile Gly Leu Gly Tyr Gly Val His Trp
995 1000 1005

Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly
1010 1015 1020

ES 2 525 065 T3

Asn Thr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Phe
1025 1030 1035

Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln Ala
1040 1045 1050

Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Arg Thr
1055 1060 1065

Pro Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
1070 1075 1080

<210> 19

<211> 1092

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<400> 19

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

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

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

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

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val
130 135 140

Ser Gly Ala Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser
145 150 155 160

ES 2 525 065 T3

Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro
165 170 175

Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser
180 185 190

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser
195 200 205

Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
210 215 220

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Ala Leu Phe Gly Gly Thr Lys
225 230 235 240

Leu Thr Val Leu Gly Ala Ala Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala
245 250 255

His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu
260 265 270

Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val
275 280 285

Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp
290 295 300

Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp
305 310 315 320

Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala
325 330 335

Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln
340 345 350

His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val
355 360 365

Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys
370 375 380

Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro
385 390 395 400

Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys

ES 2 525 065 T3

405

410

415

Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu
 420 425 430

Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys
 435 440 445

Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val
 450 455 460

Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser
 465 470 475 480

Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly
 485 490 495

Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile
 500 505 510

Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu
 515 520 525

Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp
 530 535 540

Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser
 545 550 555 560

Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly
 565 570 575

Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val
 580 585 590

Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys
 595 600 605

Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu
 610 615 620

Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys
 625 630 635 640

Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu
 645 650 655

ES 2 525 065 T3

Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val
660 665 670

Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His
675 680 685

Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val
690 695 700

Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg
705 710 715 720

Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe
725 730 735

Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Gln Ala
740 745 750

Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu
755 760 765

Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys
770 775 780

Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala
785 790 795 800

Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe
805 810 815

Ala Glu Glu Gly Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly
820 825 830

Leu Ala Ala Ala Leu Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
835 840 845

Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr
850 855 860

Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys
865 870 875 880

Gly Leu Glu Tyr Met Gly Leu Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Lys
885 890 895

Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser
900 905 910

ES 2 525 065 T3

Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Pro Ser Asp Ser
915 920 925

Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg His Asp Val Gly Tyr Cys Ser Ser Ser
930 935 940

Asn Cys Ala Lys Trp Pro Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr
945 950 955 960

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser
965 970 975

Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser
980 985 990

Ala Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser
995 1000 1005

Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly
1010 1015 1020

Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp His Thr Asn Arg Pro Ala
1025 1030 1035

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala
1040 1045 1050

Ser Leu Ala Ile Ser Gly Phe Arg Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr
1055 1060 1065

Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Tyr Thr Leu Ser Gly Trp Val Phe Gly
1070 1075 1080

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
1085 1090

<210> 20

<211> 1096

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 20

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

ES 2 525 065 T3

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

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

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Leu Gly Ala Lys Gln Trp Leu Glu Gly Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu
130 135 140

Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile
145 150 155 160

Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Gly Lys Asn Asn
180 185 190

Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asn
195 200 205

Ser Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp
210 215 220

Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His Trp Val Phe Gly
225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ala Ala Ser Asp Ala His Lys
245 250 255

Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys
260 265 270

ES 2 525 065 T3

Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe
275 280 285

Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr
290 295 300

Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr
305 310 315 320

Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr
325 330 335

Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu
340 345 350

Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val
355 360 365

Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu
370 375 380

Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr
385 390 395 400

Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala
405 410 415

Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro
420 425 430

Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln
435 440 445

Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys
450 455 460

Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe
465 470 475 480

Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu
485 490 495

Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu
500 505 510

Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys
515 520 525

ES 2 525 065 T3

Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu
530 535 540

Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp
545 550 555 560

Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp
565 570 575

Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp
580 585 590

Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr
595 600 605

Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys
610 615 620

Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile
625 630 635 640

Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln
645 650 655

Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr
660 665 670

Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys
675 680 685

Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr
690 695 700

Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro
705 710 715 720

Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg
725 730 735

Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys
740 745 750

Glu Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu
755 760 765

Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu

ES 2 525 065 T3

770

775

780

Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met
 785 790 795 800

Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys
 805 810 815

Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln
 820 825 830

Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ala Leu Gln Val Gln Leu Val Gln Ser
 835 840 845

Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys
 850 855 860

Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln
 865 870 875 880

Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Met Gly Leu Ile Tyr Pro Gly Asp
 885 890 895

Ser Asp Thr Lys Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser
 900 905 910

Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys
 915 920 925

Pro Ser Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg His Asp Val Gly Tyr
 930 935 940

Cys Thr Asp Arg Thr Cys Ala Lys Trp Pro Glu Trp Leu Gly Val Trp
 945 950 955 960

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser
 965 970 975

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro
 980 985 990

Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser
 995 1000 1005

Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln
 1010 1015 1020

ES 2 525 065 T3

Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp His Thr
1025 1030 1035

Asn Arg Pro Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser
1040 1045 1050

Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Phe Arg Ser Glu Asp
1055 1060 1065

Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Tyr Thr Leu Ser Gly
1070 1075 1080

Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
1085 1090 1095

<210> 21

<211> 1086

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 21

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

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

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

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Leu Gly Ala Lys Gln Trp Leu Glu Gly Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu

ES 2 525 065 T3

130

135

140

Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile
145 150 155 160

Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Gly Lys Asn Asn
180 185 190

Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asn
195 200 205

Ser Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp
210 215 220

Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His Trp Val Phe Gly
225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ala Ala Ser Asp Ala His Lys
245 250 255

Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys
260 265 270

Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe
275 280 285

Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr
290 295 300

Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr
305 310 315 320

Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr
325 330 335

Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu
340 345 350

Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val
355 360 365

Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu
370 375 380

ES 2 525 065 T3

Thr Phe Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe
385 390 395 400

Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe
405 410 415

Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys
420 425 430

Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg
435 440 445

Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala
450 455 460

Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala
465 470 475 480

Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys
485 490 495

Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala
500 505 510

Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu
515 520 525

Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val
530 535 540

Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe
545 550 555 560

Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val
565 570 575

Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr
580 585 590

Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu
595 600 605

Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val
610 615 620

Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys
625 630 635 640

ES 2 525 065 T3

Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn
645 650 655

Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro
660 665 670

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

Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu
690 695 700

Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val
705 710 715 720

Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg
725 730 735

Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu
740 745 750

Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser
755 760 765

Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val
770 775 780

Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp
785 790 795 800

Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu
805 810 815

Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala
820 825 830

Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
835 840 845

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
850 855 860

Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala
865 870 875 880

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Arg Gly Asp
885 890 895

ES 2 525 065 T3

Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
900 905 910

Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
915 920 925

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Met Thr Ser Asn Ala Val
930 935 940

Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
945 950 955 960

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gln Ser
965 970 975

Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln Arg Val
980 985 990

Thr Ile Ser Cys Thr Gly Arg His Ser Asn Ile Gly Leu Gly Tyr Gly
995 1000 1005

Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
1010 1015 1020

Ile Tyr Gly Asn Thr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
1025 1030 1035

Ser Gly Phe Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly
1040 1045 1050

Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp
1055 1060 1065

Arg Arg Thr Pro Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
1070 1075 1080

Val Leu Gly
1085

<210> 22

<211> 1096

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 22

ES 2 525 065 T3

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Tyr Ser Ser Ser Trp Ser Glu Val Ala Ser Gly Tyr Trp
100 105

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ile Val Met
130 135 140

Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
145 150 155 160

Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr
165 170 175

Gln Gln Lys Ala Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser
180 185 190

Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala
210 215 220

Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Ala His Ser Phe Pro Pro Thr Phe Gly Gly
225 230 235 240

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Ala Ala Ser Asp Ala His Lys
245 250 255

ES 2 525 065 T3

Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys
260 265 270

Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe
275 280 285

Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr
290 295 300

Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr
305 310 315 320

Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr
325 330 335

Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu
340 345 350

Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val
355 360 365

Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu
370 375 380

Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr
385 390 395 400

Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala
405 410 415

Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro
420 425 430

Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln
435 440 445

Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys
450 455 460

Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe
465 470 475 480

Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu
485 490 495

Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu

ES 2 525 065 T3

500

505

510

Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys
515 520 525

Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu
530 535 540

Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp
545 550 555 560

Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp
565 570 575

Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp
580 585 590

Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr
595 600 605

Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys
610 615 620

Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile
625 630 635 640

Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln
645 650 655

Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr
660 665 670

Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys
675 680 685

Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr
690 695 700

Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro
705 710 715 720

Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg
725 730 735

Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys
740 745 750

ES 2 525 065 T3

Glu Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu
755 760 765

Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu
770 775 780

Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met
785 790 795 800

Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys
805 810 815

Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln
820 825 830

Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ala Leu Gln Val Gln Leu Val Gln Ser
835 840 845

Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys
850 855 860

Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln
865 870 875 880

Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Met Gly Leu Ile Tyr Pro Gly Asp
885 890 895

Ser Asp Thr Lys Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser
900 905 910

Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys
915 920 925

Pro Ser Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg His Asp Val Gly Tyr
930 935 940

Cys Thr Asp Arg Thr Cys Ala Lys Trp Pro Glu Trp Leu Gly Val Trp
945 950 955 960

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser
965 970 975

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro
980 985 990

Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser
995 1000 1005

ES 2 525 065 T3

Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln
1010 1015 1020

Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp His Thr
1025 1030 1035

Asn Arg Pro Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser
1040 1045 1050

Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Phe Arg Ser Glu Asp
1055 1060 1065

Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Tyr Thr Leu Ser Gly
1070 1075 1080

Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
1085 1090 1095

<210> 23

<211> 1087

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 23

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Tyr Ser Ser Ser Trp Ser Glu Val Ala Ser Gly Tyr Trp
100 105 110

ES 2 525 065 T3

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ile Val Met
130 135 140

Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
145 150 155 160

Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr
165 170 175

Gln Gln Lys Ala Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser
180 185 190

Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala
210 215 220

Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Ala His Ser Phe Pro Pro Thr Phe Gly Gly
225 230 235 240

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Ala Ala Ser Asp Ala His Lys
245 250 255

Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys
260 265 270

Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe
275 280 285

Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr
290 295 300

Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr
305 310 315 320

Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr
325 330 335

Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu
340 345 350

Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val
355 360 365

ES 2 525 065 T3

Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu
370 375 380

Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr
385 390 395 400

Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala
405 410 415

Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro
420 425 430

Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln
435 440 445

Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys
450 455 460

Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe
465 470 475 480

Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu
485 490 495

Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu
500 505 510

Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys
515 520 525

Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu
530 535 540

Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp
545 550 555 560

Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp
565 570 575

Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp
580 585 590

Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr
595 600 605

Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys
610 615 620

ES 2 525 065 T3

Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile
625 630 635 640

Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln
645 650 655

Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr
660 665 670

Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys
675 680 685

Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr
690 695 700

Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro
705 710 715 720

Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg
725 730 735

Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys
740 745 750

Glu Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr His Ala Asp Ile Cys Thr Leu
755 760 765

Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu
770 775 780

Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met
785 790 795 800

Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys
805 810 815

Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln
820 825 830

Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ala Leu Gln Val Gln Leu Val Glu Ser
835 840 845

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
850 855 860

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln

ES 2 525 065 T3

865

870

875

880

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Arg Gly
885 890 895

Asp Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
900 905 910

Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
915 920 925

Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Met Thr Ser Asn Ala
930 935 940

Val Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
945 950 955 960

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gln
965 970 975

Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln Arg
980 985 990

Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Arg His Ser Asn Ile Gly Leu Gly Tyr
995 1000 1005

Gly Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
1010 1015 1020

Leu Ile Tyr Gly Asn Thr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg
1025 1030 1035

Phe Ser Gly Phe Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr
1040 1045 1050

Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr
1055 1060 1065

Asp Arg Arg Thr Pro Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
1070 1075 1080

Thr Val Leu Gly
1085

<210> 24

<211> 1095

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 24

ES 2 525 065 T3

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

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

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

Ala Asn Ile Asn Arg Asp Gly Ser Ala Ser Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala
130 135 140

Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly
145 150 155 160

Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln
165 170 175

His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Asp Val Ser Asp Arg
180 185 190

Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr
195 200 205

Ala Ser Leu Ile Ile Ser Gly Leu Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr
210 215 220

Tyr Cys Ser Ser Tyr Gly Ser Ser Ser Thr His Val Ile Phe Gly Gly

ES 2 525 065 T3

225

230

235

240

Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ala Ala Ser Asp Ala His Lys Ser
245 250 255

Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala
260 265 270

Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu
275 280 285

Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys
290 295 300

Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu
305 310 315 320

Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly
325 330 335

Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys
340 345 350

Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg
355 360 365

Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr
370 375 380

Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe
385 390 395 400

Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe
405 410 415

Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys
420 425 430

Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg
435 440 445

Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala
450 455 460

Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala
465 470 475 480

ES 2 525 065 T3

Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys
485 490 495

Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala
500 505 510

Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu
515 520 525

Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val
530 535 540

Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe
545 550 555 560

Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val
565 570 575

Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr
580 585 590

Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu
595 600 605

Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val
610 615 620

Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys
625 630 635 640

Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn
645 650 655

Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro
660 665 670

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

Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu
690 695 700

Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val
705 710 715 720

Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg
725 730 735

ES 2 525 065 T3

Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu
740 745 750

Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser
755 760 765

Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val
770 775 780

Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp
785 790 795 800

Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu
805 810 815

Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala
820 825 830

Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly
835 840 845

Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly
850 855 860

Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln Met
865 870 875 880

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Met Gly Leu Ile Tyr Pro Gly Asp Ser
885 890 895

Asp Thr Lys Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Val
900 905 910

Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Pro
915 920 925

Ser Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg His Asp Val Gly Tyr Cys
930 935 940

Thr Asp Arg Thr Cys Ala Lys Trp Pro Glu Trp Leu Gly Val Trp Gly
945 950 955 960

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly
965 970 975

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro
980 985 990

ES 2 525 065 T3

Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly
995 1000 1005

Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln
1010 1015 1020

Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp His Thr Asn
1025 1030 1035

Arg Pro Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly
1040 1045 1050

Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Phe Arg Ser Glu Asp Glu
1055 1060 1065

Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Tyr Thr Leu Ser Gly Trp
1070 1075 1080

Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
1085 1090 1095

<210> 25

<211> 1086

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 25

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

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

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

Ala Asn Ile Asn Arg Asp Gly Ser Ala Ser Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

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

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

ES 2 525 065 T3

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

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala
130 135 140

Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly
145 150 155 160

Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln
165 170 175

His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Asp Val Ser Asp Arg
180 185 190

Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr
195 200 205

Ala Ser Leu Ile Ile Ser Gly Leu Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr
210 215 220

Tyr Cys Ser Ser Tyr Gly Ser Ser Ser Thr His Val Ile Phe Gly Gly
225 230 235 240

Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ala Ala Ser Asp Ala His Lys Ser
245 250 255

Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala
260 265 270

Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu
275 280 285

Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys
290 295 300

Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu
305 310 315 320

Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly
325 330 335

Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys
340 345 350

ES 2 525 065 T3

Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg
355 360 365

Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr
370 375 380

Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe
385 390 395 400

Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe
405 410 415

Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys
420 425 430

Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg
435 440 445

Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala
450 455 460

Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala
465 470 475 480

Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys
485 490 495

Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala
500 505 510

Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu
515 520 525

Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val
530 535 540

Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe
545 550 555 560

Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val
565 570 575

Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr
580 585 590

Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu

ES 2 525 065 T3

595 600 605

Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val
610 615 620

Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys
625 630 635 640

Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn
645 650 655

Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro
660 665 670

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

Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu
690 695 700

Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val
705 710 715 720

Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg
725 730 735

Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu
740 745 750

Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser
755 760 765

Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val
770 775 780

Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp
785 790 795 800

Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu
805 810 815

Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala
820 825 830

Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ala Leu Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
835 840 845

ES 2 525 065 T3

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
850 855 860

Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala
865 870 875 880

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Arg Gly Asp
885 890 895

Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
900 905 910

Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
915 920 925

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Met Thr Ser Asn Ala Val
930 935 940

Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
945 950 955 960

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gln Ser
965 970 975

Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln Arg Val
980 985 990

Thr Ile Ser Cys Thr Gly Arg His Ser Asn Ile Gly Leu Gly Tyr Gly
995 1000 1005

Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
1010 1015 1020

Ile Tyr Gly Asn Thr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
1025 1030 1035

Ser Gly Phe Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly
1040 1045 1050

Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp
1055 1060 1065

Arg Arg Thr Pro Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
1070 1075 1080

Val Leu Gly
1085

<210> 26

<211> 248

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

ES 2 525 065 T3

<400> 26

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

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

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

Ala Asn Ile Asn Arg Asp Gly Ser Ala Ser Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala
130 135 140

Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly
145 150 155 160

Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln
165 170 175

His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Asp Val Ser Asp Arg
180 185 190

Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr
195 200 205

Ala Ser Leu Ile Ile Ser Gly Leu Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr
210 215 220

Tyr Cys Ser Ser Tyr Gly Ser Ser Ser Thr His Val Ile Phe Gly Gly
225 230 235 240

Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
245

<210> 27

5 <211> 255

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 525 065 T3

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 27

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

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

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

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

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Pro Ser Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg His Asp Val Gly Tyr Cys Thr Asp Arg Thr Cys Ala Lys Trp
100 105 110

Pro Glu Trp Leu Gly Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
145 150 155 160

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
165 170 175

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
180 185 190

Ile Tyr Asp His Thr Asn Arg Pro Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
195 200 205

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Phe Arg
210 215 220

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Tyr Thr Leu
225 230 235 240

5 Ser Gly Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
 245 250 255

<210> 28

ES 2 525 065 T3

<211> 245
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
5 <223> Construcción sintética
<400> 28

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

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

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

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

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

ES 2 525 065 T3

Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val
130 135 140

Ser Gly Ala Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser
145 150 155 160

Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro
165 170 175

Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser
180 185 190

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser
195 200 205

Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
210 215 220

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Ala Leu Phe Gly Gly Thr Lys
225 230 235 240

Leu Thr Val Leu Gly
245

<210> 29

<211> 255

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 29

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

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

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

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

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

ES 2 525 065 T3

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Pro Ser Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg His Asp Val Gly Tyr Cys Ser Ser Ser Asn Cys Ala Lys Trp
100 105 110

Pro Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
145 150 155 160

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
165 170 175

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
180 185 190

Ile Tyr Asp His Thr Asn Arg Pro Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
195 200 205

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Phe Arg
210 215 220

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Tyr Thr Leu
225 230 235 240

Ser Gly Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
245 250 255

<210> 30

<211> 249

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 30

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

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

ES 2 525 065 T3

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

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Leu Gly Ala Lys Gln Trp Leu Glu Gly Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu
130 135 140

Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile
145 150 155 160

Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Gly Lys Asn Asn
180 185 190

Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asn
195 200 205

Ser Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp
210 215 220

Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His Trp Val Phe Gly
225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
245

<210> 31

<211> 249

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 31

ES 2 525 065 T3

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Tyr Ser Ser Ser Trp Ser Glu Val Ala Ser Gly Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ile Val Met
130 135 140

Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
145 150 155 160

Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr
165 170 175

Gln Gln Lys Ala Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser
180 185 190

Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala
210 215 220

Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Ala His Ser Phe Pro Pro Thr Phe Gly Gly
225 230 235 240

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly
245

<210> 32

<211> 246

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 525 065 T3

<223> Construcción sintética

<400> 32

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

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

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

Ser Ala Ile Ser Gly Arg Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Met Thr Ser Asn Ala Val Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val
130 135 140

Ser Gly Ala Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Arg His
145 150 155 160

Ser Asn Ile Gly Leu Gly Tyr Gly Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro
165 170 175

Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Thr Asn Arg Pro Ser
180 185 190

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Phe Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser
195 200 205

Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
210 215 220

Gln Ser Tyr Asp Arg Arg Thr Pro Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
225 230 235 240

Lys Leu Thr Val Leu Gly
245

5 <210> 33

<211> 10

<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 33

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
1 5 10

5 <210> 34
<211> 9
<212> PRT
<213> Orthomxyoviridue
<400> 34

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
1 5

10 <210> 35
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Construcción sintética
<400> 35

His His His His His His
1 5

<210> 36

20 <211> 277
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 36

Met Glu Asn Thr Glu Asn Ser Val Asp Ser Lys Ser Ile Lys Asn Leu
1 5 10 15

Glu Pro Lys Ile Ile His Gly Ser Glu Ser Met Asp Ser Gly Met Ser

ES 2 525 065 T3

20

25

30

Trp Asp Thr Gly Tyr Lys Met Asp Tyr Pro Glu Met Gly Leu Cys Ile
 35 40 45

Ile Ile Asn Asn Lys Asn Phe His Lys Ser Thr Gly Met Thr Ser Arg
 50 55 60

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

Leu Lys Tyr Glu Val Arg Asn Lys Asn Asp Leu Thr Arg Glu Glu Ile
 85 90 95

Val Glu Leu Met Arg Asp Val Ser Lys Glu Asp His Ser Lys Arg Ser
 100 105 110

Ser Phe Val Cys Val Leu Leu Ser His Gly Glu Glu Gly Ile Ile Phe
 115 120 125

Gly Thr Asn Gly Pro Val Asp Leu Lys Lys Ile Thr Asn Phe Phe Arg
 130 135 140

Gly Asp Arg Cys Arg Ser Leu Thr Gly Lys Pro Lys Leu Phe Ile Ile
 145 150 155 160

Gln Ala Cys Arg Gly Thr Glu Leu Asp Cys Gly Ile Glu Thr Asp Ser
 165 170 175

Gly Val Asp Asp Asp Met Ala Cys His Lys Ile Pro Val Asp Ala Asp
 180 185 190

Phe Leu Tyr Ala Tyr Ser Thr Ala Pro Gly Tyr Tyr Ser Trp Arg Asn
 195 200 205

Ser Lys Asp Gly Ser Trp Phe Ile Gln Ser Leu Cys Ala Met Leu Lys
 210 215 220

Gln Tyr Ala Asp Lys Leu Glu Phe Met His Ile Leu Thr Arg Val Asn
 225 230 235 240

Arg Lys Val Ala Thr Glu Phe Glu Ser Phe Ser Phe Asp Ala Thr Phe
 245 250 255

His Ala Lys Lys Gln Ile Pro Cys Ile Val Ser Met Leu Thr Lys Glu
 260 265 270

Leu Tyr Phe Tyr His
 275

<210> 37

<211> 479

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

ES 2 525 065 T3

<400> 37

Met Asp Phe Ser Arg Asn Leu Tyr Asp Ile Gly Glu Gln Leu Asp Ser
1 5 10 15

Glu Asp Leu Ala Ser Leu Lys Phe Leu Ser Leu Asp Tyr Ile Pro Gln
20 25 30

Arg Lys Gln Glu Pro Ile Lys Asp Ala Leu Met Leu Phe Gln Arg Leu
35 40 45

Gln Glu Lys Arg Met Leu Glu Glu Ser Asn Leu Ser Phe Leu Lys Glu
50 55 60

Leu Leu Phe Arg Ile Asn Arg Leu Asp Leu Leu Ile Thr Tyr Leu Asn
65 70 75 80

Thr Arg Lys Glu Glu Met Glu Arg Glu Leu Gln Thr Pro Gly Arg Ala
85 90 95

Gln Ile Ser Ala Tyr Arg Val Met Leu Tyr Gln Ile Ser Glu Glu Val
100 105 110

Ser Arg Ser Glu Leu Arg Ser Phe Lys Phe Leu Leu Gln Glu Glu Ile
115 120 125

Ser Lys Cys Lys Leu Asp Asp Asp Met Asn Leu Leu Asp Ile Phe Ile
130 135 140

Glu Met Glu Lys Arg Val Ile Leu Gly Glu Gly Lys Leu Asp Ile Leu
145 150 155 160

Lys Arg Val Cys Ala Gln Ile Asn Lys Ser Leu Leu Lys Ile Ile Asn
165 170 175

Asp Tyr Glu Glu Phe Ser Lys Glu Arg Ser Ser Ser Leu Glu Gly Ser
180 185 190

Pro Asp Glu Phe Ser Asn Gly Glu Glu Leu Cys Gly Val Met Thr Ile
195 200 205

ES 2 525 065 T3

Ser Asp Ser Pro Arg Glu Gln Asp Ser Glu Ser Gln Thr Leu Asp Lys
210 215 220

Val Tyr Gln Met Lys Ser Lys Pro Arg Gly Tyr Cys Leu Ile Ile Asn
225 230 235 240

Asn His Asn Phe Ala Lys Ala Arg Glu Lys Val Pro Lys Leu His Ser
245 250 255

Ile Arg Asp Arg Asn Gly Thr His Leu Asp Ala Gly Ala Leu Thr Thr
260 265 270

Thr Phe Glu Glu Leu His Phe Glu Ile Lys Pro His Asp Asp Cys Thr
275 280 285

Val Glu Gln Ile Tyr Asp Ile Leu Lys Ile Tyr Gln Leu Met Asp His
290 295 300

Ser Asn Met Asp Cys Phe Ile Cys Cys Ile Leu Ser His Gly Asp Lys
305 310 315 320

Gly Ile Ile Tyr Gly Thr Asp Gly Gln Glu Pro Pro Ile Tyr Glu Leu
325 330 335

Thr Ser Gln Phe Thr Gly Leu Lys Cys Pro Ser Leu Ala Gly Lys Pro
340 345 350

Lys Val Phe Phe Ile Gln Ala Cys Gln Gly Asp Asn Tyr Gln Lys Gly
355 360 365

Ile Pro Val Glu Thr Asp Ser Glu Glu Gln Pro Tyr Leu Glu Met Asp
370 375 380

Leu Ser Ser Pro Gln Thr Arg Tyr Ile Pro Asp Glu Ala Asp Phe Leu
385 390 395 400

Leu Gly Met Ala Thr Val Asn Asn Cys Val Ser Tyr Arg Asn Pro Ala
405 410 415

Glu Gly Thr Trp Tyr Ile Gln Ser Leu Cys Gln Ser Leu Arg Glu Arg
420 425 430

Cys Pro Arg Gly Asp Asp Ile Leu Thr Ile Leu Thr Glu Val Asn Tyr
435 440 445

Glu Val Ser Asn Lys Asp Asp Lys Lys Asn Met Gly Lys Gln Met Pro
450 455 460

Gln Pro Thr Phe Thr Leu Arg Lys Lys Leu Val Phe Pro Ser Asp
465 470 475

<210> 38

<211> 247

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

ES 2 525 065 T3

<400> 38

Met Gln Pro Ile Leu Leu Leu Ala Phe Leu Leu Leu Pro Arg Ala
1 5 10 15

Asp Ala Gly Glu Ile Ile Gly Gly His Glu Ala Lys Pro His Ser Arg
20 25 30

Pro Tyr Met Ala Tyr Leu Met Ile Trp Asp Gln Lys Ser Leu Lys Arg
35 40 45

Cys Gly Gly Phe Leu Ile Gln Asp Asp Phe Val Leu Thr Ala Ala His
50 55 60

Cys Trp Gly Ser Ser Ile Asn Val Thr Leu Gly Ala His Asn Ile Lys
65 70 75 80

Glu Gln Glu Pro Thr Gln Gln Phe Ile Pro Val Lys Arg Ala Ile Pro
85 90 95

His Pro Ala Tyr Asn Pro Lys Asn Phe Ser Asn Asp Ile Met Leu Leu
100 105 110

Gln Leu Glu Arg Lys Ala Lys Arg Thr Arg Ala Val Gln Pro Leu Arg
115 120 125

Leu Pro Ser Asn Lys Ala Gln Val Lys Pro Gly Gln Thr Cys Ser Val
130 135 140

Ala Gly Trp Gly Gln Thr Ala Pro Leu Gly Lys His Ser His Thr Leu
145 150 155 160

Gln Glu Val Lys Met Thr Val Gln Glu Asp Arg Lys Cys Glu Ser Asp
165 170 175

Leu Arg His Tyr Tyr Asp Ser Thr Ile Glu Leu Cys Val Gly Asp Pro
180 185 190

Glu Ile Lys Lys Thr Ser Phe Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val
195 200 205

Cys Asn Lys Val Ala Gln Gly Ile Val Ser Tyr Gly Arg Asn Asn Gly
210 215 220

Met Pro Pro Arg Ala Cys Thr Lys Val Ser Ser Phe Val His Trp Ile
225 230 235 240

Lys Lys Thr Met Lys Arg Tyr
245

<210> 39

5 <211> 105

<212> PRT

<213> Homo sapiens

ES 2 525 065 T3

<400> 39

Met Gly Asp Val Glu Lys Gly Lys Lys Ile Phe Ile Met Lys Cys Ser
1 5 10 15

Gln Cys His Thr Val Glu Lys Gly Lys His Lys Thr Gly Pro Asn
20 25 30

Leu His Gly Leu Phe Gly Arg Lys Thr Gly Gln Ala Pro Gly Tyr Ser
35 40 45

Tyr Thr Ala Ala Asn Lys Asn Lys Gly Ile Ile Trp Gly Glu Asp Thr
50 55 60

Leu Met Glu Tyr Leu Glu Asn Pro Lys Lys Tyr Ile Pro Gly Thr Lys
65 70 75 80

Met Ile Phe Val Gly Ile Lys Lys Glu Glu Arg Ala Asp Leu Ile
85 90 95

Ala Tyr Leu Lys Lys Ala Thr Asn Glu
100 105

<210> 40

<211> 233

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

Met Ser Thr Glu Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Ala
1 5 10 15

Leu Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Gln Gly Ser Arg Arg Cys Leu Phe
20 25 30

ES 2 525 065 T3

Leu Ser Leu Phe Ser Phe Leu Ile Val Ala Gly Ala Thr Thr Leu Phe
35 40 45

Cys Leu Leu His Phe Gly Val Ile Gly Pro Gln Arg Glu Glu Phe Pro
50 55 60

Arg Asp Leu Ser Leu Ile Ser Pro Leu Ala Gln Ala Val Arg Ser Ser
65 70 75 80

Ser Arg Thr Pro Ser Asp Lys Pro Val Ala His Val Val Ala Asn Pro
85 90 95

Gln Ala Glu Gly Gln Leu Gln Trp Leu Asn Arg Arg Ala Asn Ala Leu
100 105 110

Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val Val Pro Ser
115 120 125

Glu Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Ser Gln Val Leu Phe Lys Gly Gln Gly
130 135 140

Cys Pro Ser Thr His Val Leu Leu Thr His Thr Ile Ser Arg Ile Ala
145 150 155 160

Val Ser Tyr Gln Thr Lys Val Asn Leu Leu Ser Ala Ile Lys Ser Pro
165 170 175

Cys Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro Trp Tyr Glu
180 185 190

Pro Ile Tyr Leu Gly Gly Val Phe Gln Leu Glu Lys Gly Asp Arg Leu
195 200 205

Ser Ala Glu Ile Asn Arg Pro Asp Tyr Leu Asp Phe Ala Glu Ser Gly
210 215 220

Gln Val Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu
225 230

<210> 41

<211> 314

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 41

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

ES 2 525 065 T3

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

Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Thr Val Glu Thr Gln Asn
35 40 45

Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro
50 55 60

Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro
65 70 75 80

Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His
85 90 95

Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly
100 105 110

Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg
115 120 125

Cys Lys Pro Asn Phe Phe Cys Asn Ser Thr Val Cys Glu His Cys Asp
130 135 140

Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr
145 150 155 160

Ser Asn Thr Lys Cys Lys Glu Glu Val Lys Arg Lys Glu Val Gln Lys
165 170 175

Thr Cys Arg Lys His Arg Lys Glu Asn Gln Gly Ser His Glu Ser Pro
180 185 190

Thr Leu Asn Pro Glu Thr Val Ala Ile Asn Leu Ser Asp Val Asp Leu
195 200 205

Ser Lys Tyr Ile Thr Thr Ile Ala Gly Val Met Thr Leu Ser Gln Val
210 215 220

Lys Gly Phe Val Arg Lys Asn Gly Val Asn Glu Ala Lys Ile Asp Glu
225 230 235 240

Ile Lys Asn Asp Asn Val Gln Asp Thr Ala Glu Gln Lys Val Gln Leu
245 250 255

Leu Arg Asn Trp His Gln Leu His Gly Lys Lys Glu Ala Tyr Asp Thr
260 265 270

Leu Ile Lys Asp Leu Lys Lys Ala Asn Leu Cys Thr Leu Ala Glu Lys
275 280 285

Ile Gln Thr Ile Ile Leu Lys Asp Ile Thr Ser Asp Ser Glu Asn Ser
290 295 300

Asn Phe Arg Asn Glu Ile Gln Ser Leu Val
305 310

ES 2 525 065 T3

<210> 42
<211> 168
<212> PRT
<213> Homo sapiens

5 <400> 42

Met Phe Gln Ile Pro Glu Phe Glu Pro Ser Glu Gln Glu Asp Ser Ser
1 5 10 15

Ser Ala Glu Arg Gly Leu Gly Pro Ser Pro Ala Gly Asp Gly Pro Ser
20 25 30

Gly Ser Gly Lys His His Arg Gln Ala Pro Gly Leu Leu Trp Asp Ala
35 40 45

Ser His Gln Gln Glu Gln Pro Thr Ser Ser Ser His His Gly Gly Ala
50 55 60

Gly Ala Val Glu Ile Arg Ser Arg His Ser Ser Tyr Pro Ala Gly Thr
65 70 75 80

Glu Asp Asp Glu Gly Met Gly Glu Glu Pro Ser Pro Phe Arg Gly Arg
85 90 95

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

Glu Leu Arg Arg Met Ser Asp Glu Phe Val Asp Ser Phe Lys Lys Gly
115 120 125

Leu Pro Arg Pro Lys Ser Ala Gly Thr Ala Thr Gln Met Arg Gln Ser
130 135 140

Ser Ser Trp Thr Arg Val Phe Gln Ser Trp Trp Asp Arg Asn Leu Gly
145 150 155 160

Arg Gly Ser Ser Ala Pro Ser Gln
165

<210> 43
<211> 279
<212> PRT

10 <213> Homo sapiens
<400> 43

ES 2 525 065 T3

Met Val Asp His Leu Ala Asn Thr Glu Ile Asn Ser Gln Arg Ile Ala
1 5 10 15

Ala Val Glu Ser Cys Phe Gly Ala Ser Gly Gln Pro Leu Ala Leu Pro
20 25 30

Gly Arg Val Leu Leu Gly Glu Gly Val Leu Thr Lys Glu Cys Arg Lys
35 40 45

Lys Ala Lys Pro Arg Ile Phe Phe Leu Phe Asn Asp Ile Leu Val Tyr
50 55 60

Gly Ser Ile Val Leu Asn Lys Arg Lys Tyr Arg Ser Gln His Ile Ile
65 70 75 80

Pro Leu Glu Glu Val Thr Leu Glu Leu Leu Pro Glu Thr Leu Gln Ala
85 90 95

Lys Asn Arg Trp Met Ile Lys Thr Ala Lys Lys Ser Phe Val Val Ser
100 105 110

Ala Ala Ser Ala Thr Glu Arg Gln Glu Trp Ile Ser His Ile Glu Glu
115 120 125

Cys Val Arg Arg Gln Leu Lys Ala Thr Gly Arg Pro Pro Ser Thr Glu
130 135 140

His Ala Ala Pro Trp Ile Pro Asp Lys Ala Thr Asp Ile Cys Met Arg
145 150 155 160

Cys Thr Gln Thr Arg Phe Ser Ala Leu Thr Arg Arg His His Cys Arg
165 170 175

Lys Cys Gly Phe Val Val Cys Ala Glu Cys Ser Arg Gln Arg Phe Leu
180 185 190

Leu Pro Arg Leu Ser Pro Lys Pro Val Arg Val Cys Ser Leu Cys Tyr
195 200 205

Arg Glu Leu Ala Ala Gln Gln Arg Gln Glu Glu Ala Glu Glu Gln Gly
210 215 220

Ala Gly Ser Pro Arg Gln Pro Ala His Leu Ala Arg Pro Ile Cys Gly
225 230 235 240

Ala Ser Ser Gly Asp Asp Asp Asp Ser Asp Glu Asp Lys Glu Gly Ser
245 250 255

Arg Asp Gly Asp Trp Pro Ser Ser Val Glu Phe Tyr Ala Ser Gly Val
260 265 270

Ala Trp Ser Ala Phe His Ser
275

<210> 44

ES 2 525 065 T3

<211> 850

<212> PRT

<213> Pieris rapae

<400> 44

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

Val Glu Trp Ile Arg Ala Leu Asp Leu Glu Ile Ile Ser Leu Leu Leu
20 25 30

Ser Arg Ala Trp Pro Met Ala Leu Leu Ala Thr Ser Glu Leu Arg Trp
35 40 45

Arg Pro Thr Val Leu Thr Asp Thr Asp Asn Val Val Arg Leu Asp Arg
50 55 60

Arg Gln Arg Leu Val Arg Trp Asp Arg Arg Pro Pro Asn Glu Ile Phe
65 70 75 80

Leu Asp Gly Phe Val Pro Ile Val Thr Arg Glu Asn Pro Asp Trp Glu
85 90 95

Glu Thr Asp Leu Tyr Gly Phe Ala Lys Asn Asn His Pro Ser Ile Phe
100 105 110

Val Ser Thr Thr Lys Thr Gln Arg Asn Lys Lys Tyr Val Trp Thr
115 120 125

Pro Arg Asn Ala Asn Arg Gly Ile Val Tyr Gln Tyr Glu Ile Tyr Ala
130 135 140

Pro Gly Gly Val Asp Val Asn Asp Ser Phe Ser Asp Ala Ser Pro Trp
145 150 155 160

ES 2 525 065 T3

Pro Asn Gln Met Glu Val Ala Phe Pro Gly Gly Ile Gln Asn Ile Tyr
165 170 175

Ile Arg Ser Ala Arg Glu Leu His Asn Gly Arg Ile Gln Arg Ile Trp
180 185 190

Ile Asn Pro Asn Phe Leu Asp Pro Gly Asp Leu Glu Pro Ile Val Ser
195 200 205

Ser Ser Arg Thr Pro Gln Val Ile Trp Arg Met Asn His Pro Asp Gly
210 215 220

Gly His Arg Asp Gln Arg Ser Glu Arg Ser Ala Ser Ser Tyr Asp Asp
225 230 235 240

Leu Met Tyr Gly Gly Thr Gly Asn Val Gln Glu Asp Thr Phe Gly Asp
245 250 255

Glu Pro Asn Asn Pro Lys Pro Ile Ala Ala Gly Glu Phe Met Ile Glu
260 265 270

Ser Ile Lys Asp Lys Asn Ser Phe Leu Asp Leu Ser Lys Asn Val Asn
275 280 285

Gly Gly Val Ile His Ser Asn Leu Tyr Ser Gly Gly Asp Asn Gln Ile
290 295 300

Trp Val Phe Ser Tyr Asp Asp Asn Lys Lys Ala Tyr Arg Ile Gln Ser
305 310 315 320

Tyr Gln Asn Ser Tyr Leu Tyr Leu Ser Trp Asp Ser Asn Ala Ser Ser
325 330 335

Lys Glu Met Ile Leu Arg Gly Tyr Thr Asn Ser Gly Ser Asn Asn Gln
340 345 350

Tyr Trp Gln Ile Glu Gln Thr Gly Lys Asn Tyr Arg Leu Arg Asn Leu
355 360 365

Leu Asn Leu Asp Met Ile Ile Thr Ala Gln Asp Lys Pro Ser Ala Phe
370 375 380

Gly Gly Lys Glu Val Ile Val Asn Thr Glu Ile Ser Asn Ser Asn Thr
385 390 395 400

Lys Ile Ser Gln Glu Trp Lys Met Ile Pro Phe Asp Phe Arg Pro Ile
405 410 415

ES 2 525 065 T3

Ile Asp Gly Asp Tyr Asn Ile Phe Asn Val Asp Leu Ser Asn Gln Val
420 425 430

Val Asp Phe Ser Asn Gln Pro Asp Leu Leu Val His Gly His Ile Phe
435 440 445

Cys Asp Asn Glu Asn Gln Thr Trp His Phe Thr Tyr Asn Ser Thr Tyr
450 455 460

His Ala Tyr Lys Ile Trp Ser Gly Arg Lys Ser Asn Leu Leu Leu Thr
465 470 475 480

Trp Asp Ser Asn Ala Ala Ser Lys Glu Met Val Val Arg Ala Tyr Thr
485 490 495

Glu Ser Arg Ser Lys Asn Gln Tyr Trp Arg Ile Glu Gln Thr Gly Ser
500 505 510

Lys Ser Tyr Lys Val Arg Asn Leu Glu Asn Ser Ser Met Ile Leu Gly
515 520 525

Leu Thr Arg Val Ser Thr Pro Tyr Gly Gly Leu Asn Leu Met Val Glu
530 535 540

Asp Asp Ser Asp Gly His Ser Asp Leu His Ser Asp Trp Asp Ile Lys
545 550 555 560

Pro Ile Phe Tyr Gln Asp Ile Pro Asp Gly Asp Tyr Asn Ile Phe Asn
565 570 575

Asp Asn Phe Pro Asn Ile Ala Ile Asp Phe Thr Asn Gln Glu Gly Ser
580 585 590

Leu Ile His Gly His Asn Phe Cys Ser Asn Asn Asn Gln Lys Trp Ser
595 600 605

Phe Val Phe Asp Gly Lys Arg Lys Ala Tyr Arg Ile Lys Ser Gly Val
610 615 620

Arg Ser Asn Leu Trp Leu Ser Trp Asp Ser Asn Ala Ser Ser Lys Glu
625 630 635 640

Met Val Leu Arg Ala Tyr Thr Glu Ser Gly Ser Ser Asn Gln Tyr Trp
645 650 655

Arg Leu Asp Glu Ala Asn Asp Gly Ser Tyr Arg Ile Arg Asn Leu Gln

ES 2 525 065 T3

660

665

670

Asp Tyr Tyr Lys Leu Ile Ala Leu Thr Asn Lys Asn Thr Pro Tyr Gly
675 680 685

Gly Lys Glu Leu Ile Val Ser Asp Asn Lys Glu Ser Gly Asn Thr Trp
690 695 700

Tyr Leu Lys Lys Leu Gly Glu Val Pro Leu Pro Asn Arg Lys Phe Arg
705 710 715 720

Ile Ala Thr Lys Leu Asn Tyr Lys Val Ile Asp Ser Ser Thr Ser
725 730 735

Tyr Asn Leu Ile Ile Thr His Asp Leu Asn Phe Ala Ser Ser Ile Trp
740 745 750

Glu Leu Val Tyr Asp Ser Ser Lys Lys Ala Tyr Asn Ile Tyr Ser Ser
755 760 765

Asp Ile Asn Asn Leu Gly Trp Ile Tyr Gln Asn Lys Asn Phe Phe Val
770 775 780

Lys Leu Gly Asn Ile Asp Gly Pro Asp His Gly Asp Leu Arg Tyr Phe
785 790 795 800

Trp Thr Ile Glu Tyr Ser Met Gln Thr Gly Cys Tyr Leu Ile Arg Ser
805 810 815

Leu His Asp Pro Ala Asn Ala Val Gly Tyr Thr Asp Ser Glu Ser Val
820 825 830

Ile Thr Asp Thr Ser Thr Tyr Ser Asp Asn Gln Leu Phe His Phe Ile
835 840 845

Leu Met
850

<210> 45

<211> 281

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 45

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

Val Leu Ile Val Ile Phe Thr Val Leu Leu Gln Ser Leu Cys Val Ala

ES 2 525 065 T3

20

25

30

Val Thr Tyr Val Tyr Phe Thr Asn Glu Leu Lys Gln Met Gln Asp Lys
 35 40 45

Tyr Ser Lys Ser Gly Ile Ala Cys Phe Leu Lys Glu Asp Asp Ser Tyr
 50 55 60

Trp Asp Pro Asn Asp Glu Glu Ser Met Asn Ser Pro Cys Trp Gln Val
 65 70 75 80

Lys Trp Gln Leu Arg Gln Leu Val Arg Lys Met Ile Leu Arg Thr Ser
 85 90 95

Glu Glu Thr Ile Ser Thr Val Gln Glu Lys Gln Gln Asn Ile Ser Pro
 100 105 110

Leu Val Arg Glu Arg Gly Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly
 115 120 125

Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu
 130 135 140

Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly
 145 150 155 160

His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile
 165 170 175

His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe
 180 185 190

Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln
 195 200 205

Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys
 210 215 220

Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr
 225 230 235 240

Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile
 245 250 255

Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala
 260 265 270

Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly
 275 280

<210> 46

<211> 192

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

ES 2 525 065 T3

<400> 46

Met Asp Gly Ser Gly Glu Gln Pro Arg Gly Gly Pro Thr Ser Ser
1 5 10 15

Glu Gln Ile Met Lys Thr Gly Ala Leu Leu Leu Gln Gly Phe Ile Gln
20 25 30

Asp Arg Ala Gly Arg Met Gly Gly Glu Ala Pro Glu Leu Ala Leu Asp
35 40 45

Pro Val Pro Gln Asp Ala Ser Thr Lys Lys Leu Ser Glu Cys Leu Lys
50 55 60

Arg Ile Gly Asp Glu Leu Asp Ser Asn Met Glu Leu Gln Arg Met Ile
65 70 75 80

Ala Ala Val Asp Thr Asp Ser Pro Arg Glu Val Phe Phe Arg Val Ala
85 90 95

Ala Asp Met Phe Ser Asp Gly Asn Phe Asn Trp Gly Arg Val Val Ala
100 105 110

Leu Phe Tyr Phe Ala Ser Lys Leu Val Leu Lys Ala Leu Cys Thr Lys
115 120 125

Val Pro Glu Leu Ile Arg Thr Ile Met Gly Trp Thr Leu Asp Phe Leu
130 135 140

Arg Glu Arg Leu Leu Gly Trp Ile Gln Asp Gln Gly Gly Trp Asp Gly
145 150 155 160

Leu Leu Ser Tyr Phe Gly Thr Pro Thr Trp Gln Thr Val Thr Ile Phe
165 170 175

Val Ala Gly Val Leu Thr Ala Ser Leu Thr Ile Trp Lys Lys Met Gly
180 185 190

<210> 47

<211> 238

5 <212> PRT

<213> *Aequorea victoria*

<400> 47

ES 2 525 065 T3

Met Ser Lys Gly Glu Glu Leu Phe Thr Gly Val Val Pro Ile Leu Val
1 5 10 15

Glu Leu Asp Gly Asp Val Asn Gly His Lys Phe Ser Val Ser Gly Glu
20 25 30

Gly Glu Gly Asp Ala Thr Tyr Gly Lys Leu Thr Leu Lys Phe Ile Cys
35 40 45

Thr Thr Gly Lys Leu Pro Val Pro Trp Pro Thr Leu Val Thr Thr Phe
50 55 60

Ser Tyr Gly Val Gln Cys Phe Ser Arg Tyr Pro Asp His Met Lys Gln
65 70 75 80

His Asp Phe Phe Lys Ser Ala Met Pro Glu Gly Tyr Val Gln Glu Arg
85 90 95

Thr Ile Phe Phe Lys Asp Asp Gly Asn Tyr Lys Thr Arg Ala Glu Val
100 105 110

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

Asp Phe Lys Glu Asp Gly Asn Ile Leu Gly His Lys Leu Glu Tyr Asn
130 135 140

Tyr Asn Ser His Asn Val Tyr Ile Met Ala Asp Lys Gln Lys Asn Gly
145 150 155 160

Ile Lys Val Asn Phe Lys Ile Arg His Asn Ile Glu Asp Gly Ser Val
165 170 175

Gln Leu Ala Asp His Tyr Gln Gln Asn Thr Pro Ile Gly Asp Gly Pro
180 185 190

Val Leu Leu Pro Asp Asn His Tyr Leu Ser Thr Gln Ser Ala Leu Ser
195 200 205

Lys Asp Pro Asn Glu Lys Arg Asp His Met Val Leu Leu Glu Phe Val
210 215 220

Thr Ala Ala Gly Ile Thr His Gly Met Asp Glu Leu Tyr Lys
225 230 235

<210> 48

<211> 194

<212> PRT

5 <213> *Aliivibrio fischeri*

<400> 48

ES 2 525 065 T3

Met Phe Lys Gly Ile Val Glu Gly Ile Gly Ile Ile Glu Lys Ile Asp
1 5 10 15

Ile Tyr Thr Asp Leu Asp Lys Tyr Ala Ile Arg Phe Pro Glu Asn Met
20 25 30

Leu Asn Gly Ile Lys Lys Glu Ser Ser Ile Met Phe Asn Gly Cys Phe
35 40 45

Leu Thr Val Thr Ser Val Asn Ser Asn Ile Val Trp Phe Asp Ile Phe
50 55 60

Glu Lys Glu Ala Arg Lys Leu Asp Thr Phe Arg Glu Tyr Lys Val Gly
65 70 75 80

Asp Arg Val Asn Leu Gly Thr Phe Pro Lys Phe Gly Ala Ala Ser Gly
85 90 95

Gly His Ile Leu Ser Ala Arg Ile Ser Cys Val Ala Ser Ile Ile Glu
100 105 110

Ile Ile Glu Asn Glu Asp Tyr Gln Gln Met Trp Ile Gln Ile Pro Glu
115 120 125

Asn Phe Thr Glu Phe Leu Ile Asp Lys Asp Tyr Ile Ala Val Asp Gly
130 135 140

Ile Ser Leu Thr Ile Asp Thr Ile Lys Asn Asn Gln Phe Phe Ile Ser
145 150 155 160

Leu Pro Leu Lys Ile Ala Gln Asn Thr Asn Met Lys Trp Arg Lys Lys
165 170 175

Gly Asp Lys Val Asn Val Glu Leu Ser Asn Lys Ile Asn Ala Asn Gln
180 185 190

Cys Trp

<210> 49

<211> 225

<212> PRT

5 <213> *Montastraea cavernosa*

<400> 49

ES 2 525 065 T3

Met Ser Val Ile Lys Ser Val Met Lys Ile Lys Leu Arg Met Asp Gly
1 5 10 15

Ile Val Asn Gly His Lys Phe Met Ile Thr Gly Glu Gly Glu Gly Lys
20 25 30

Pro Phe Glu Gly Thr His Thr Ile Ile Leu Lys Val Lys Glu Gly Gly
35 40 45

Pro Leu Pro Phe Ala Tyr Asp Ile Leu Thr Thr Ala Phe Gln Tyr Gly
50 55 60

Asn Arg Val Phe Thr Lys Tyr Pro Lys Asp Ile Pro Asp Tyr Phe Lys
65 70 75 80

Gln Ser Phe Pro Glu Gly Tyr Ser Trp Glu Arg Ser Met Thr Phe Glu
85 90 95

Asp Gln Gly Val Cys Thr Val Thr Ser Asp Ile Lys Leu Glu Gly Asp
100 105 110

Cys Phe Phe Tyr Glu Ile Arg Phe Tyr Gly Val Asn Phe Pro Ser Ser
115 120 125

Gly Pro Val Met Gln Lys Lys Thr Leu Lys Trp Glu Pro Ser Thr Glu
130 135 140

Asn Met Tyr Val Arg Asp Gly Val Leu Leu Gly Asp Val Ser Arg Thr
145 150 155 160

Leu Leu Leu Glu Gly Asp Lys His His Arg Cys Asn Phe Arg Ser Thr
165 170 175

Tyr Gly Ala Lys Lys Gly Val Val Leu Pro Glu Tyr His Phe Val Asp
180 185 190

His Arg Ile Glu Ile Leu Ser His Asp Lys Asp Tyr Asn Thr Val Glu
195 200 205

Val Tyr Glu Asn Ala Val Ala Arg Pro Ser Met Leu Pro Val Lys Ala
210 215 220

Lys
225

<210> 50

<211> 230

<212> PRT

5 <213> *Discosoma* sp.

<400> 50

ES 2 525 065 T3

Met Ser Cys Ser Lys Asn Val Ile Lys Glu Phe Met Arg Phe Lys Val
1 5 10 15

Arg Met Glu Gly Thr Val Asn Gly His Glu Phe Glu Ile Lys Gly Glu
20 25 30

Gly Glu Gly Arg Pro Tyr Glu Gly His Cys Ser Val Lys Leu Met Val
35 40 45

Thr Lys Gly Gly Pro Leu Pro Phe Ala Phe Asp Ile Leu Ser Pro Gln
50 55 60

Phe Gln Tyr Gly Ser Lys Val Tyr Val Lys His Pro Ala Asp Ile Pro
65 70 75 80

Asp Tyr Lys Lys Leu Ser Phe Pro Glu Gly Phe Lys Trp Glu Arg Val
85 90 95

Met Asn Phe Glu Asp Gly Gly Val Val Thr Val Ser Gln Asp Ser Ser
100 105 110

Leu Lys Asp Gly Cys Phe Ile Tyr Glu Val Lys Phe Ile Gly Val Asn
115 120 125

Phe Pro Ser Asp Gly Pro Val Met Gln Arg Arg Thr Arg Gly Trp Glu
130 135 140

Ala Ser Ser Glu Arg Leu Tyr Pro Arg Asp Gly Val Leu Lys Gly Asp
145 150 155 160

Ile His Met Ala Leu Arg Leu Glu Gly Gly His Tyr Leu Val Glu
165 170 175

Phe Lys Ser Ile Tyr Met Val Lys Lys Pro Ser Val Gln Leu Pro Gly
180 185 190

Tyr Tyr Tyr Val Asp Ser Lys Leu Asp Met Thr Ser His Asn Glu Asp
195 200 205

Tyr Thr Val Val Glu Gln Tyr Glu Lys Thr Gln Gly Arg His His Pro
210 215 220

Phe Ile Lys Pro Leu Gln
225 230

<210> 51

<211> 550

5 <212> PRT

<213> *Photinus pyralis*

<400> 51

ES 2 525 065 T3

Met Glu Asp Ala Lys Asn Ile Lys Lys Gly Pro Ala Pro Phe Tyr Pro
1 5 10 15

Leu Glu Asp Gly Thr Ala Gly Glu Gln Leu His Lys Ala Met Lys Arg
20 25 30

Tyr Ala Leu Val Pro Gly Thr Ile Ala Phe Thr Asp Ala His Ile Glu
35 40 45

Val Asn Ile Thr Tyr Ala Glu Tyr Phe Glu Met Ser Val Arg Leu Ala
50 55 60

Glu Ala Met Lys Arg Tyr Gly Leu Asn Thr Asn His Arg Ile Val Val
65 70 75 80

Cys Ser Glu Asn Ser Leu Gln Phe Phe Met Pro Val Leu Gly Ala Leu
85 90 95

Phe Ile Gly Val Ala Val Ala Pro Ala Asn Asp Ile Tyr Asn Glu Arg
100 105 110

Glu Leu Leu Asn Ser Met Asn Ile Ser Gln Pro Thr Val Val Phe Val
115 120 125

Ser Lys Lys Gly Leu Gln Lys Ile Leu Asn Val Gln Lys Lys Leu Pro
130 135 140

Ile Ile Gln Lys Ile Ile Met Asp Ser Lys Thr Asp Tyr Gln Gly
145 150 155 160

Phe Gln Ser Met Tyr Thr Phe Val Thr Ser His Leu Pro Pro Gly Phe
165 170 175

Asn Glu Tyr Asp Phe Val Pro Glu Ser Phe Asp Arg Asp Lys Thr Ile
180 185 190

Ala Leu Ile Met Asn Ser Ser Gly Ser Thr Gly Ser Pro Lys Gly Val
195 200 205

ES 2 525 065 T3

Ala Leu Pro His Arg Thr Ala Cys Val Arg Phe Ser His Ala Arg Asp
210 215 220

Pro Ile Phe Gly Asn Gln Ile Ile Pro Asp Thr Ala Ile Leu Ser Val
225 230 235 240

Val Pro Phe His His Gly Phe Gly Met Phe Thr Thr Leu Gly Tyr Leu
245 250 255

Ile Cys Gly Phe Arg Val Val Leu Met Tyr Arg Phe Glu Glu Glu Leu
260 265 270

Phe Leu Arg Ser Leu Gln Asp Tyr Lys Ile Gln Ser Ala Leu Leu Val
275 280 285

Pro Thr Leu Phe Ser Phe Phe Ala Lys Ser Thr Leu Ile Asp Lys Tyr
290 295 300

Asp Leu Ser Asn Leu His Glu Ile Ala Ser Gly Gly Ala Pro Leu Ser
305 310 315 320

Lys Glu Val Gly Glu Ala Val Ala Lys Arg Phe His Leu Pro Gly Ile
325 330 335

Arg Gln Gly Tyr Gly Leu Thr Glu Thr Thr Ser Ala Ile Leu Ile Thr
340 345 350

Pro Glu Gly Asp Asp Lys Pro Gly Ala Val Gly Lys Val Val Pro Phe
355 360 365

Phe Glu Ala Lys Val Val Asp Leu Asp Thr Gly Lys Thr Leu Gly Val
370 375 380

Asn Gln Arg Gly Glu Leu Cys Val Arg Gly Pro Met Ile Met Ser Gly
385 390 395 400

Tyr Val Asn Asp Pro Glu Ala Thr Asn Ala Leu Ile Asp Lys Asp Gly
405 410 415

Trp Leu His Ser Gly Asp Ile Ala Tyr Trp Asp Glu Asp Glu His Phe
420 425 430

Phe Ile Val Asp Arg Leu Lys Ser Leu Ile Lys Tyr Lys Gly Cys Gln
435 440 445

Val Ala Pro Ala Glu Leu Glu Ser Ile Leu Leu Gln His Pro Asn Ile
450 455 460

ES 2 525 065 T3

Phe Asp Ala Gly Val Ala Gly Leu Pro Gly Asp Asp Ala Gly Glu Leu
465 470 475 480

Pro Ala Ala Val Val Val Leu Glu His Gly Lys Thr Met Thr Glu Lys
485 490 495

Glu Ile Val Asp Tyr Val Ala Ser Gln Val Thr Thr Ala Lys Lys Leu
500 505 510

Arg Gly Gly Val Val Phe Val Asp Glu Val Pro Lys Gly Leu Thr Gly
515 520 525

Lys Leu Asp Ala Arg Lys Ile Arg Glu Ile Leu Ile Lys Ala Lys Lys
530 535 540

Gly Gly Lys Ser Lys Leu
545 550

<210> 52

<211> 311

<212> PRT

5 <213> *Renilla reniformis*

<400> 52

Met Thr Ser Lys Val Tyr Asp Pro Glu Gln Arg Lys Arg Met Ile Thr
1 5 10 15

Gly Pro Gln Trp Trp Ala Arg Cys Lys Gln Met Asn Val Leu Asp Ser
20 25 30

Phe Ile Asn Tyr Tyr Asp Ser Glu Lys His Ala Glu Asn Ala Val Ile
35 40 45

Phe Leu His Gly Asn Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Trp Arg His Val Val
50 55 60

Pro His Ile Glu Pro Val Ala Arg Cys Ile Ile Pro Asp Leu Ile Gly
65 70 75 80

Met Gly Lys Ser Gly Lys Ser Gly Asn Gly Ser Tyr Arg Leu Leu Asp
85 90 95

His Tyr Lys Tyr Leu Thr Ala Trp Phe Glu Leu Leu Asn Leu Pro Lys
100 105 110

Lys Ile Ile Phe Val Gly His Asp Trp Gly Ala Cys Leu Ala Phe His
115 120 125

ES 2 525 065 T3

Tyr Ser Tyr Glu His Gln Asp Lys Ile Lys Ala Ile Val His Ala Glu
130 135 140

Ser Val Val Asp Val Ile Glu Ser Trp Asp Glu Trp Pro Asp Ile Glu
145 150 155 160

Glu Asp Ile Ala Leu Ile Lys Ser Glu Glu Gly Glu Lys Met Val Leu
165 170 175

Glu Asn Asn Phe Phe Val Glu Thr Met Leu Pro Ser Lys Ile Met Arg
180 185 190

Lys Leu Glu Pro Glu Glu Phe Ala Ala Tyr Leu Glu Pro Phe Lys Glu
195 200 205

Lys Gly Glu Val Arg Arg Pro Thr Leu Ser Trp Pro Arg Glu Ile Pro
210 215 220

Leu Val Lys Gly Gly Lys Pro Asp Val Val Gln Ile Val Arg Asn Tyr
225 230 235 240

Asn Ala Tyr Leu Arg Ala Ser Asp Asp Leu Pro Lys Met Phe Ile Glu
245 250 255

Ser Asp Pro Gly Phe Phe Ser Asn Ala Ile Val Glu Gly Ala Lys Lys
260 265 270

Phe Pro Asn Thr Glu Phe Val Lys Val Lys Gly Leu His Phe Ser Gln
275 280 285

Glu Asp Ala Pro Asp Glu Met Gly Lys Tyr Ile Lys Ser Phe Val Glu
290 295 300

Arg Val Leu Lys Asn Glu Gln
305 310

<210> 53

<211> 197

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 53

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

ES 2 525 065 T3

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg
195

<210> 54

<211> 197

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 54

Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln
1 5 10 15

Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser
20 25 30

ES 2 525 065 T3

Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr
35 40 45

Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu
50 55 60

Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln
65 70 75 80

Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu
85 90 95

Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala
100 105 110

Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys
115 120 125

Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr
130 135 140

Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg
145 150 155 160

Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala
165 170 175

Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu
180 185 190

Val Glu Glu Pro Gln
195

<210> 55

<211> 205

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 55

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

Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr
20 25 30

Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg

ES 2 525 065 T3

35	40	45
Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys		
50	55	60
Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu		
65	70	75
Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys		
85	90	95
Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu		
100	105	110
Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr		
115	120	125
Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys		
130	135	140
Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr		
145	150	155
Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu		
165	170	175
Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly		
180	185	190
Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu		
195	200	205
<210> 56		
<211> 197		
<212> PRT		
5	<213> Homo sapiens	
<400> 56		
Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu		
1	5	10
15		
Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln		
20	25	30
Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu		
35	40	45
Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys		

ES 2 525 065 T3

50

55

60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg
195

<210> 57

<211> 205

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 57

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

Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr
20 25 30

Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg
35 40 45

Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys
50 55 60

Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu

ES 2 525 065 T3

65

70

75

80

Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys
85 90 95

Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu
100 105 110

Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr
115 120 125

Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys
130 135 140

Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr
145 150 155 160

Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu
165 170 175

Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly
180 185 190

Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
195 200 205

<210> 58

<211> 609

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 58

Met Lys Trp Val Glu Ser Ile Phe Leu Ile Phe Leu Leu Asn Phe Thr
1 5 10 15

Glu Ser Arg Thr Leu His Arg Asn Glu Tyr Gly Ile Ala Ser Ile Leu
20 25 30

Asp Ser Tyr Gln Cys Thr Ala Glu Ile Ser Leu Ala Asp Leu Ala Thr
35 40 45

Ile Phe Phe Ala Gln Phe Val Gln Glu Ala Thr Tyr Lys Glu Val Ser
50 55 60

Lys Met Val Lys Asp Ala Leu Thr Ala Ile Glu Lys Pro Thr Gly Asp
65 70 75 80

Glu Gln Ser Ser Gly Cys Leu Glu Asn Gln Leu Pro Ala Phe Leu Glu

ES 2 525 065 T3

85

90

95

Glu Leu Cys His Glu Lys Glu Ile Leu Glu Lys Tyr Gly His Ser Asp
 100 105 110

Cys Cys Ser Gln Ser Glu Glu Gly Arg His Asn Cys Phe Leu Ala His
 115 120 125

Lys Lys Pro Thr Pro Ala Ser Ile Pro Leu Phe Gln Val Pro Glu Pro
 130 135 140

Val Thr Ser Cys Glu Ala Tyr Glu Glu Asp Arg Glu Thr Phe Met Asn
 145 150 155 160

Lys Phe Ile Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Phe Leu Tyr Ala Pro
 165 170 175

Thr Ile Leu Leu Trp Ala Ala Arg Tyr Asp Lys Ile Ile Pro Ser Cys
 180 185 190

Cys Lys Ala Glu Asn Ala Val Glu Cys Phe Gln Thr Lys Ala Ala Thr
 195 200 205

Val Thr Lys Glu Leu Arg Glu Ser Ser Leu Leu Asn Gln His Ala Cys
 210 215 220

Ala Val Met Lys Asn Phe Gly Thr Arg Thr Phe Gln Ala Ile Thr Val
 225 230 235 240

Thr Lys Leu Ser Gln Lys Phe Thr Lys Val Asn Phe Thr Glu Ile Gln
 245 250 255

Lys Leu Val Leu Asp Val Ala His Val His Glu His Cys Cys Arg Gly
 260 265 270

Asp Val Leu Asp Cys Leu Gln Asp Gly Glu Lys Ile Met Ser Tyr Ile
 275 280 285

Cys Ser Gln Gln Asp Thr Leu Ser Asn Lys Ile Thr Glu Cys Cys Lys
 290 295 300

Leu Thr Thr Leu Glu Arg Gly Gln Cys Ile Ile His Ala Glu Asn Asp
 305 310 315 320

Glu Lys Pro Glu Gly Leu Ser Pro Asn Leu Asn Arg Phe Leu Gly Asp
 325 330 335

ES 2 525 065 T3

Arg Asp Phe Asn Gln Phe Ser Ser Gly Glu Lys Asn Ile Phe Leu Ala
340 345 350

Ser Phe Val His Glu Tyr Ser Arg Arg His Pro Gln Leu Ala Val Ser
355 360 365

Val Ile Leu Arg Val Ala Lys Gly Tyr Gln Glu Leu Leu Glu Lys Cys
370 375 380

Phe Gln Thr Glu Asn Pro Leu Glu Cys Gln Asp Lys Gly Glu Glu Glu
385 390 395 400

Leu Gln Lys Tyr Ile Gln Glu Ser Gln Ala Leu Ala Lys Arg Ser Cys
405 410 415

Gly Leu Phe Gln Lys Leu Gly Glu Tyr Tyr Leu Gln Asn Ala Phe Leu
420 425 430

Val Ala Tyr Thr Lys Lys Ala Pro Gln Leu Thr Ser Ser Glu Leu Met
435 440 445

Ala Ile Thr Arg Lys Met Ala Ala Thr Ala Ala Thr Cys Cys Gln Leu
450 455 460

Ser Glu Asp Lys Leu Leu Ala Cys Gly Glu Gly Ala Ala Asp Ile Ile
465 470 475 480

Ile Gly His Leu Cys Ile Arg His Glu Met Thr Pro Val Asn Pro Gly
485 490 495

Val Gly Gln Cys Cys Thr Ser Ser Tyr Ala Asn Arg Arg Pro Cys Phe
500 505 510

Ser Ser Leu Val Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Pro Ala Phe Ser Asp
515 520 525

Asp Lys Phe Ile Phe His Lys Asp Leu Cys Gln Ala Gln Gly Val Ala
530 535 540

Leu Gln Thr Met Lys Gln Glu Phe Leu Ile Asn Leu Val Lys Gln Lys
545 550 555 560

Pro Gln Ile Thr Glu Glu Gln Leu Glu Ala Val Ile Ala Asp Phe Ser
565 570 575

Gly Leu Leu Glu Lys Cys Cys Gln Gly Gln Glu Gln Glu Val Cys Phe
580 585 590

Ala Glu Glu Gly Gln Lys Leu Ile Ser Lys Thr Arg Ala Ala Leu Gly
595 600 605

Val

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un agente que comprende un ligador de seroalbúmina humana (HSA) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia expuesta en SEC ID NO: 1, y que comprende un primer resto de unión enlazado al término amino de dicho ligador de HSA y un segundo resto de unión enlazado al término carboxi de dicho ligador de HSA, en el que cada uno de dichos restos de unión primero y segundo se une específicamente a ErbB2 o ErbB3, y en el que:
- i) si dicho primer resto de unión se une específicamente a ErbB3, dicho segundo resto de unión se une específicamente a ErbB2; y
 - 10 ii) si dicho primer resto de unión se une específicamente a ErbB2, dicho segundo resto de unión se une específicamente a ErbB3.
- 15 2. El agente de la reivindicación 1, en el que dicha secuencia de aminoácidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 1.
- 20 3. El agente de la reivindicación 1 ó 2, que comprende además conectores polipeptídicos en los términos amino y/o carboxi de dicho ligador de HSA que enlazan covalentemente a dicho primer y/o segundo resto de unión a dicho ligador de HSA, en el que preferiblemente cada uno de dichos conectores polipeptídicos comprende 2 a 20 restos de aminoácidos.
- 25 4. El agente de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho primer resto de unión se une específicamente a ErbB2, y dicho segundo resto de unión se une específicamente a ErbB3.
- 30 5. El agente de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho primer resto de unión se une específicamente a ErbB3, y dicho segundo resto de unión se une específicamente a ErbB2.
- 35 6. El agente de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicho primer o segundo resto de unión es una molécula de Fv monocatenario, en el que preferiblemente dicha molécula de Fv monocatenario es humana o humanizada.
- 40 7. El agente de la reivindicación 5, en el que dicho primer resto de unión se une a ErbB3 con una K_d en el intervalo de alrededor de 1 nM a alrededor de 50 nM, preferiblemente dicho K_d es alrededor de 16 nM, y dicho segundo resto de unión se une a ErbB2 con una K_d en el intervalo de alrededor de 0,01 nM a alrededor de 10 nM, preferiblemente dicha K_d es alrededor de 0,3 nM.
- 45 8. El agente de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que dicho primer resto de unión tiene al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC ID NO: 26 y dicho segundo resto de unión tiene al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC ID NO: 27.
- 50 9. El agente de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que dicho primer resto de unión se une específicamente a ErbB2 y es un scFv que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEC ID NOS: 27, 29, y 32, y en el que dicho segundo resto de unión se une específicamente a ErbB3 y es un scFv que comprende la secuencia de una cualquiera de SEC ID NOS: 26, 28, 30, y 31.
- 55 10. El agente de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que dicho primer resto de unión se une específicamente a ErbB3 y es un scFv que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEC ID NOS: 26, 28, 30, y 31, y en el que dicho segundo resto de unión se une específicamente a ErbB2 y es un scFv que comprende la secuencia de una cualquiera de SEC ID NOS: 27, 29, y 32; en el que preferiblemente (i) dicho agente comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 16; en el que dicho agente permanece estable, reteniendo capacidad comparable para unirse tanto a ErbB2 como a ErbB3 antes y después de la incubación en suero humano a 37°C durante 120 horas.
- 60 11. El agente de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que dicho agente:
- i) se mezcla con un vehículo, excipiente, o diluyente farmacéuticamente aceptable; y/o
 - 65 ii) es capaz de unirse a y extirpar una célula tumoral, o inhibir la proliferación de células tumorales; y/o
 - 70 iii) muestra una semivida *in vivo* de entre 6 horas y 7 días; y/o
 - 75 iv) muestra una semivida *in vivo* mayor que 8 horas; y/o
 - 80 v) se formula para administración con uno o más agentes terapéuticos seleccionados del grupo que consiste en ciclofosfamida, camptotecina, homocamtotecina, colchicina, combrestatina, combrestatina, rizoxina, dolistatina, ansamitocina p3, maitansinoide, auristatina, calicheamicina, metotrexato, 5-fluorouracilo (5-FU), doxorubicina, paclitaxel, docetaxel, cisplatino, carboplatino, tamoxifeno, raloxifeno, letrozol, epirubicina,

bevacizumab, pertuzumab, trastuzumab, en el que preferiblemente dicho uno o más agentes terapéuticos es trastuzumab; y/o

5 vi) comprende dicho ligador de HSA que comprende restos de aminoácidos 25-44 y restos de aminoácidos 494-513 de SEC ID NO: 1, en el que preferiblemente dicho ligador de HSA comprende restos de aminoácidos 25-70 y restos de aminoácidos 450-513 de SEC ID NO: 1, o restos de aminoácidos 15-100 y restos de aminoácidos 400-520 de SEC ID NO: 1, o restos de aminoácidos 10-200 y restos de aminoácidos 300-575 de SEC ID NO: 1, o restos de aminoácidos 5-250 y 275-580 de SEC ID NO: 1.

10 12. Un kit que comprende el agente de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 e instrucciones para administrar dicho agente a un paciente, en el que preferiblemente dicho paciente tiene una enfermedad proliferativa, tal como melanoma, sarcoma de células claras, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de vejiga, cáncer de mama, en el que preferiblemente dicho cáncer de mama expresa ErbB2 y opcionalmente dicho cáncer de mama sobreexpresa ErbB2, cáncer de colon, cáncer ovárico, cáncer endometrial, cáncer gástrico, cáncer pancreático, cáncer renal, cáncer de próstata, cáncer de la glándula salival, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, cáncer de piel, o cáncer de cerebro.

15 13. El agente de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para uso en el tratamiento de un mamífero que tiene una enfermedad proliferativa.

14. El agente para uso según la reivindicación 13, en el que:

i) dicho mamífero es un ser humano; y/o

ii) dicha enfermedad proliferativa está asociada con señalización celular a través de un receptor de la superficie celular; y/o

20 iii) dicha enfermedad proliferativa es melanoma, sarcoma de células claras, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer ovárico, cáncer endometrial, cáncer gástrico, cáncer pancreático, cáncer renal, cáncer de próstata, cáncer de la glándula salival, cáncer de pulmón, cáncer hepático, cáncer de piel, o cáncer de cerebro, en el que preferiblemente dicho cáncer de mama expresa ErbB2 y opcionalmente dicho cáncer de mama sobreexpresa ErbB2; y/o

25 iv) dicha enfermedad proliferativa es tumor sólido; y/o

v) dicho uso comprende administración en combinación con uno o más agentes terapéuticos seleccionados del grupo que consiste en ciclofosfamida, camptotecina, homocamptotecina, colchicina, combrestatina, rizoxina, dolistatina, ansamitocina p3, maitansinoide, auristatina, calicheamicina, metotrexato, 5-fluorouracilo (5-FU), doxorrubicina, paclitaxel, docetaxel, cisplatino, carboplatino, tamoxifeno, raloxifeno, letrozol, epirrubicina, bevacizumab, pertuzumab, trastuzumab, natalizumab, infliximab, adalimumab, rituximab, alemtuzumab, daclizumab, efalizumab, golimumab, certolizumab, abatacept, etanercept, cetuximab, panitumumab, anakinra, daunurubicina, etopósido, irinotecán, mitoxantrona, tenipósido, topotecán, gefitinib, lapatinib, ditosilato de lapatinib, erlotinib, neratinib, tanespimicina, busulfán, clorambicilo, hexametilmelamina, ifosfamida, melfalán, procarbazina, 6-tioguanina, arabinósido de citosina, azatioprina, capecitabina, cladribina, fludarabina, floxuridina, pemetrexed, pentostatina, raltitrexed, dexametasona, prednisona, aldesleukina, cediranib, dasatinib, imatinib, nilotinib, pazopanib, sorafenib, sunitinib, vandetanib, ixabepilona, nanopartícula, paclitaxel, vinblastina, vincristina, vindesina, vinerrelbina, everolimus, sirolimus, temsirolimus, 1-asparaginasa, octreotida, abarelix, afimoxifeno, anastrazol, bicalutamida, buserelina, cetrorelix, exemestano, flutamida, fulvestrant, goserelina, leuprolida, megastrol, estradiol, medroxiprogesterona, nandrolona, nilutamida, toremifeno, pamoato de triptorelinna, enzastaurina, roscovitina, alvocidib, y lonafarnib, en el que preferiblemente dicho uno o más agentes terapéuticos se seleccionan del grupo que consiste en ciclofosfamida, camptotecina, homocamptotecina, colchicina, combrestatina, rizoxina, dolistatina, ansamitocina p3, maitansinoide, auristatina, calicheamicina, metotrexato, 5-fluorouracilo (5-FU), doxorrubicina, paclitaxel, docetaxel, cisplatino, carboplatino, tamoxifeno, raloxifeno, letrozol, epirrubicina, bevacizumab, pertuzumab, y es preferiblemente trastuzumab.

40 45 15. Un método para obtener el agente de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, que comprende expresar una molécula polinucleotídica que codifica dicho agente en una célula bacteriana, de insecto, de levadura, o de mamífero, o en un tejido, órgano u organismo de mamífero no humano, en el que preferiblemente dicha molécula polinucleotídica se expresa en dicha célula de mamífero.

Figura 1

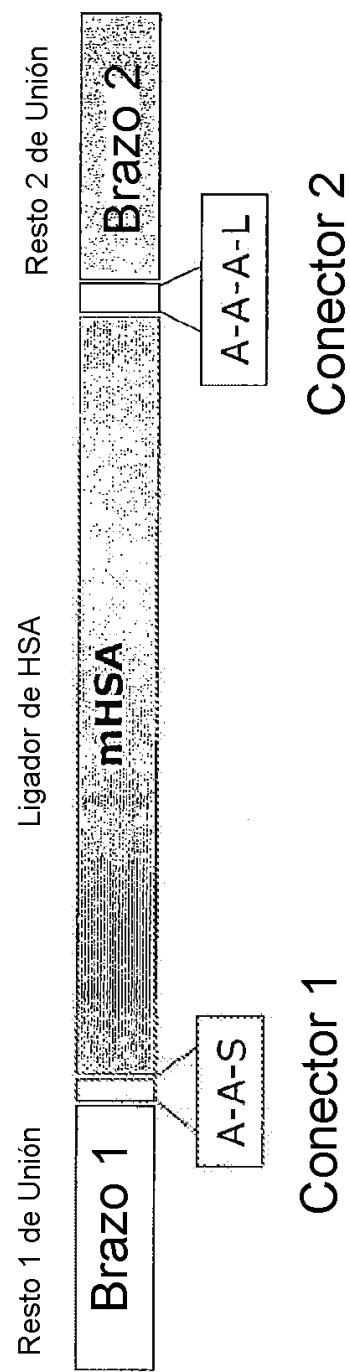


Figura 2

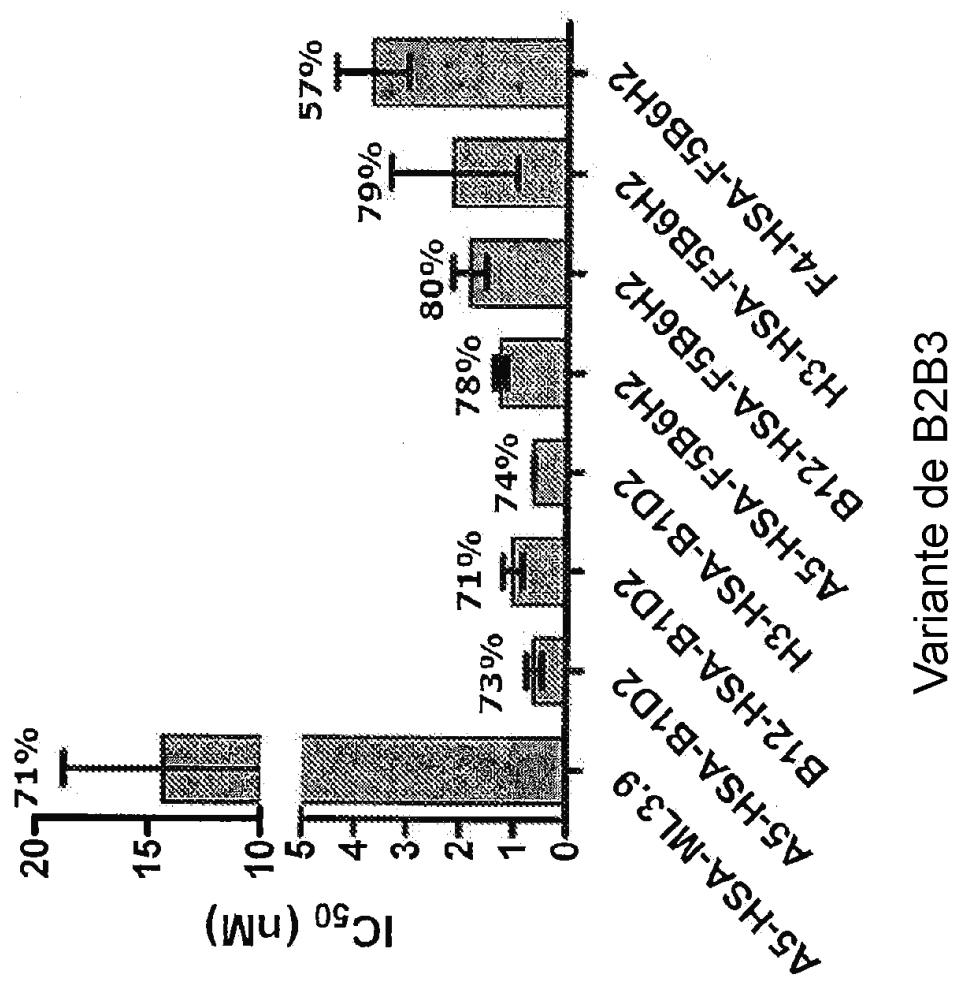


Figura 3

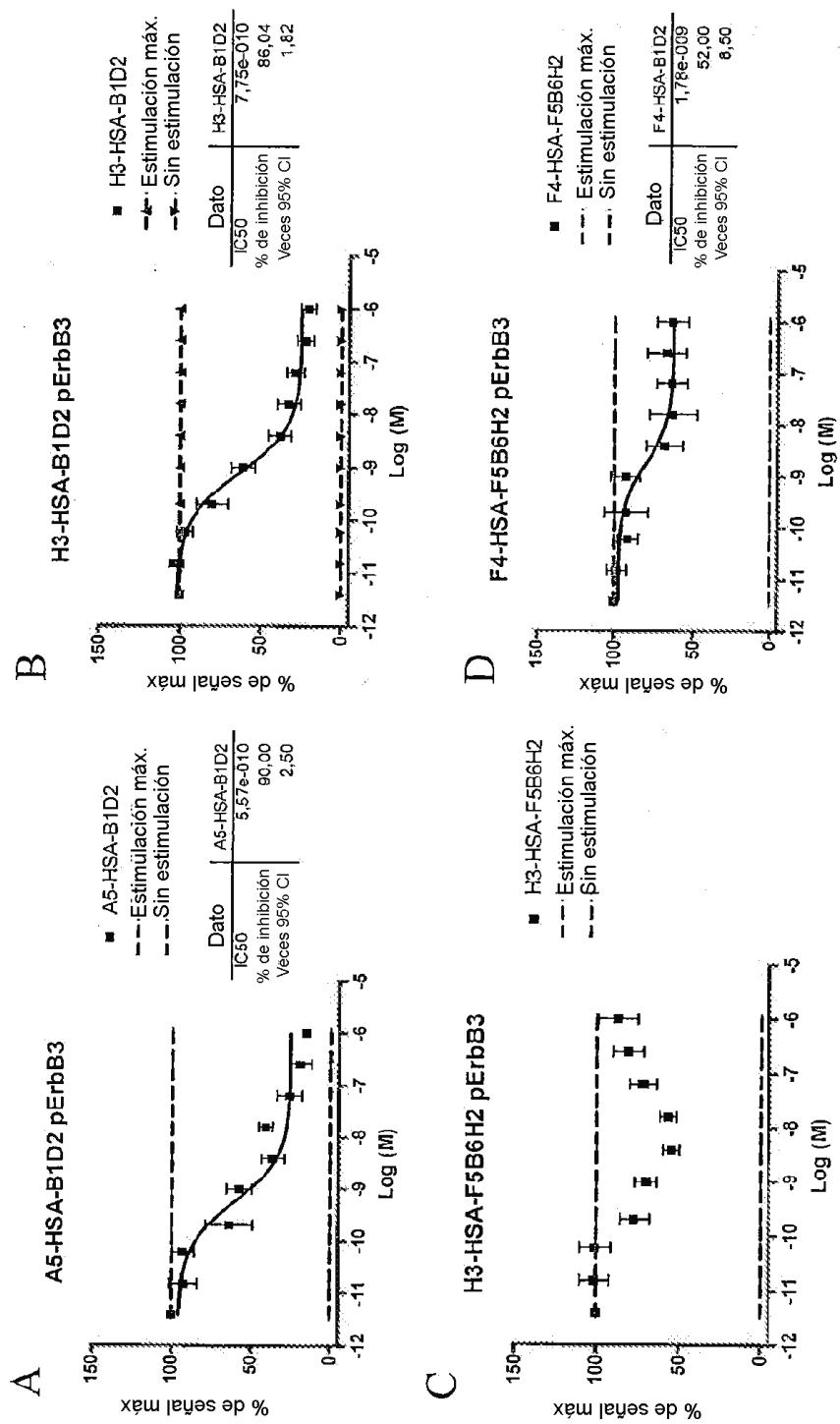


Figura 4

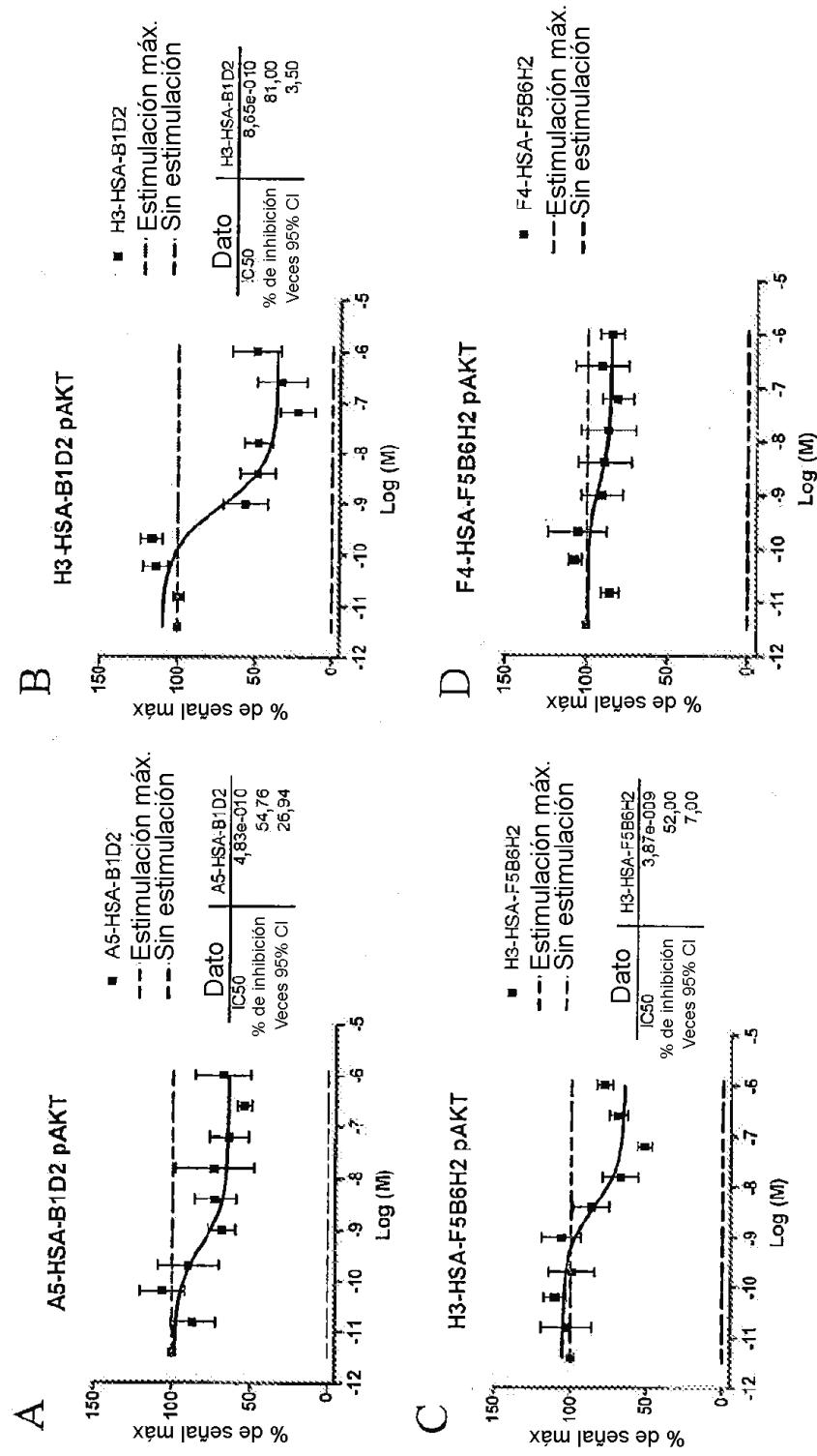


Figura 5

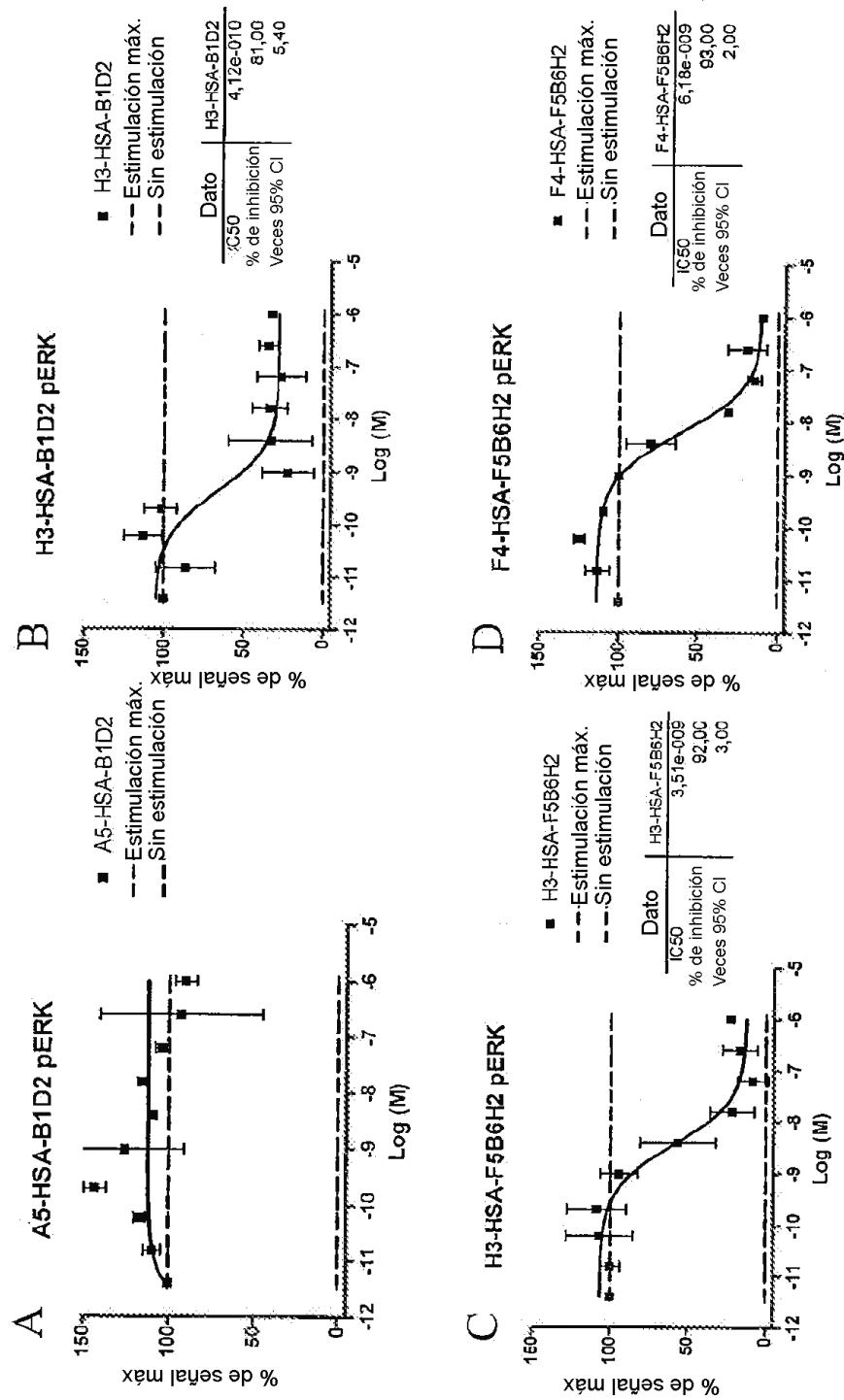


Figura 6

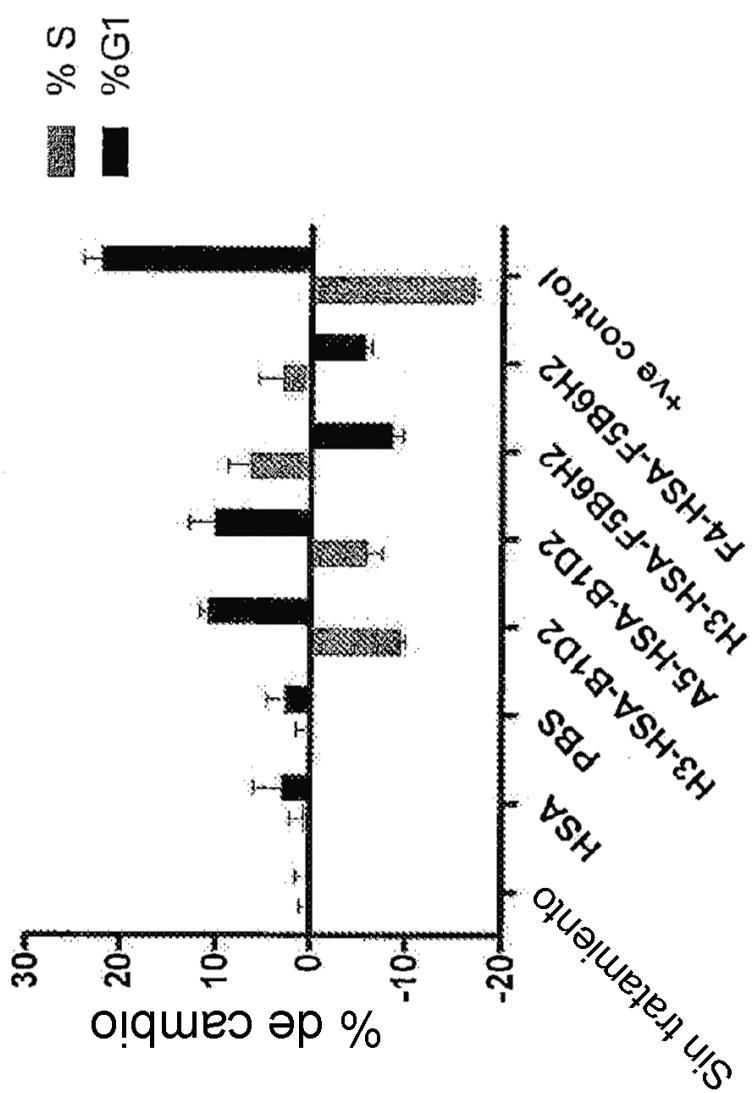


Figura 7

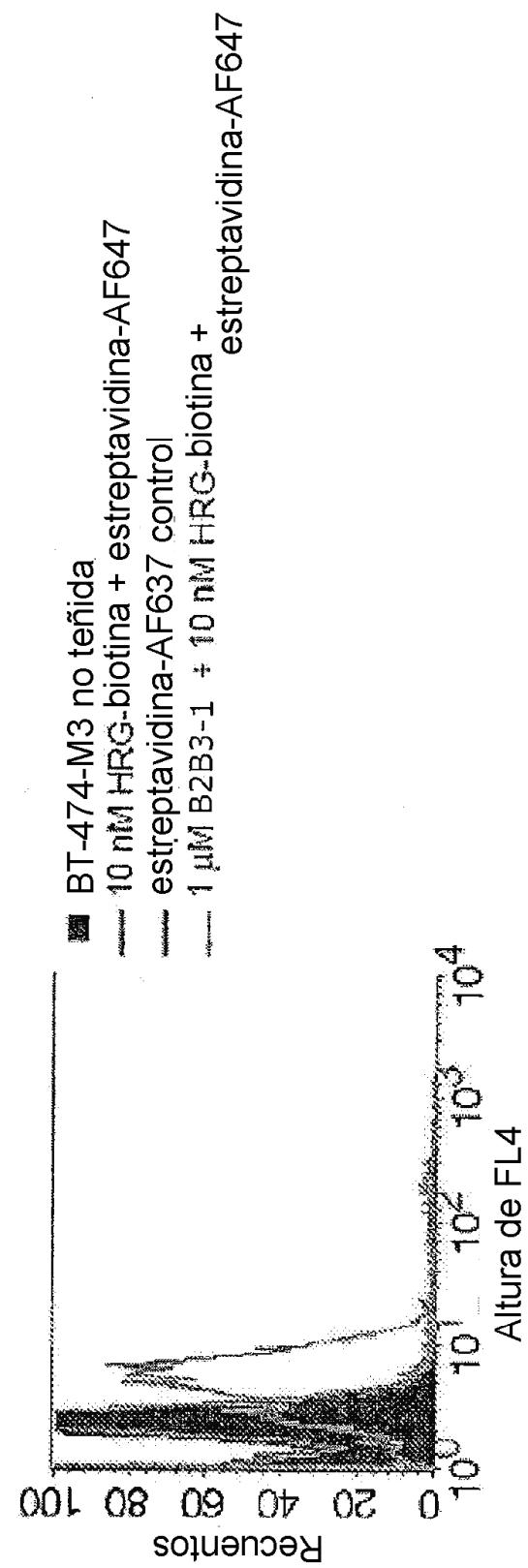


Figura 8

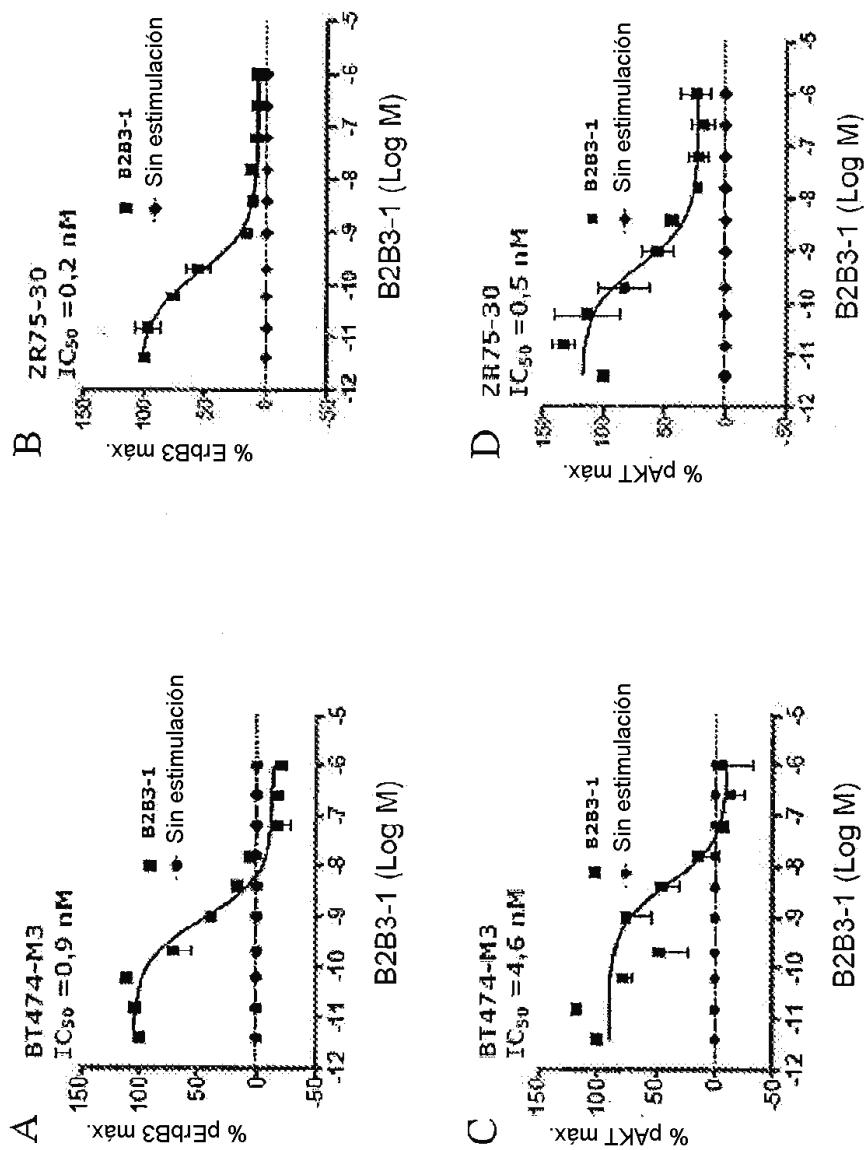


Figura 9

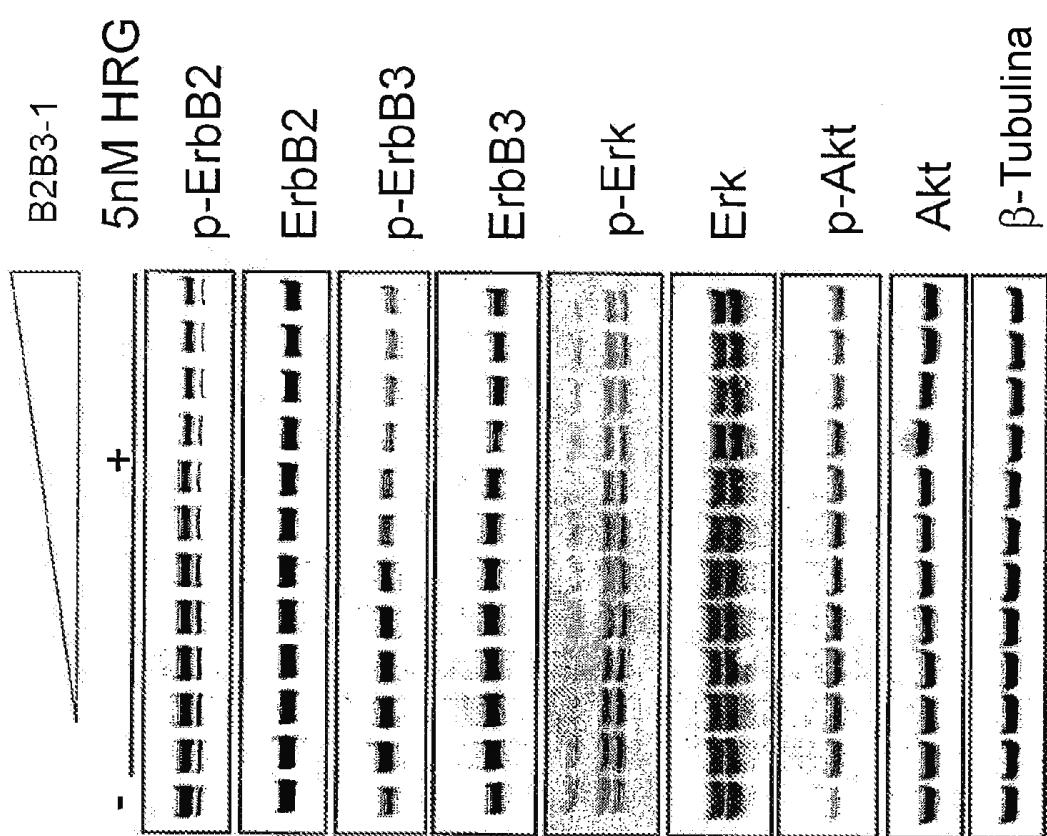


Figura 10

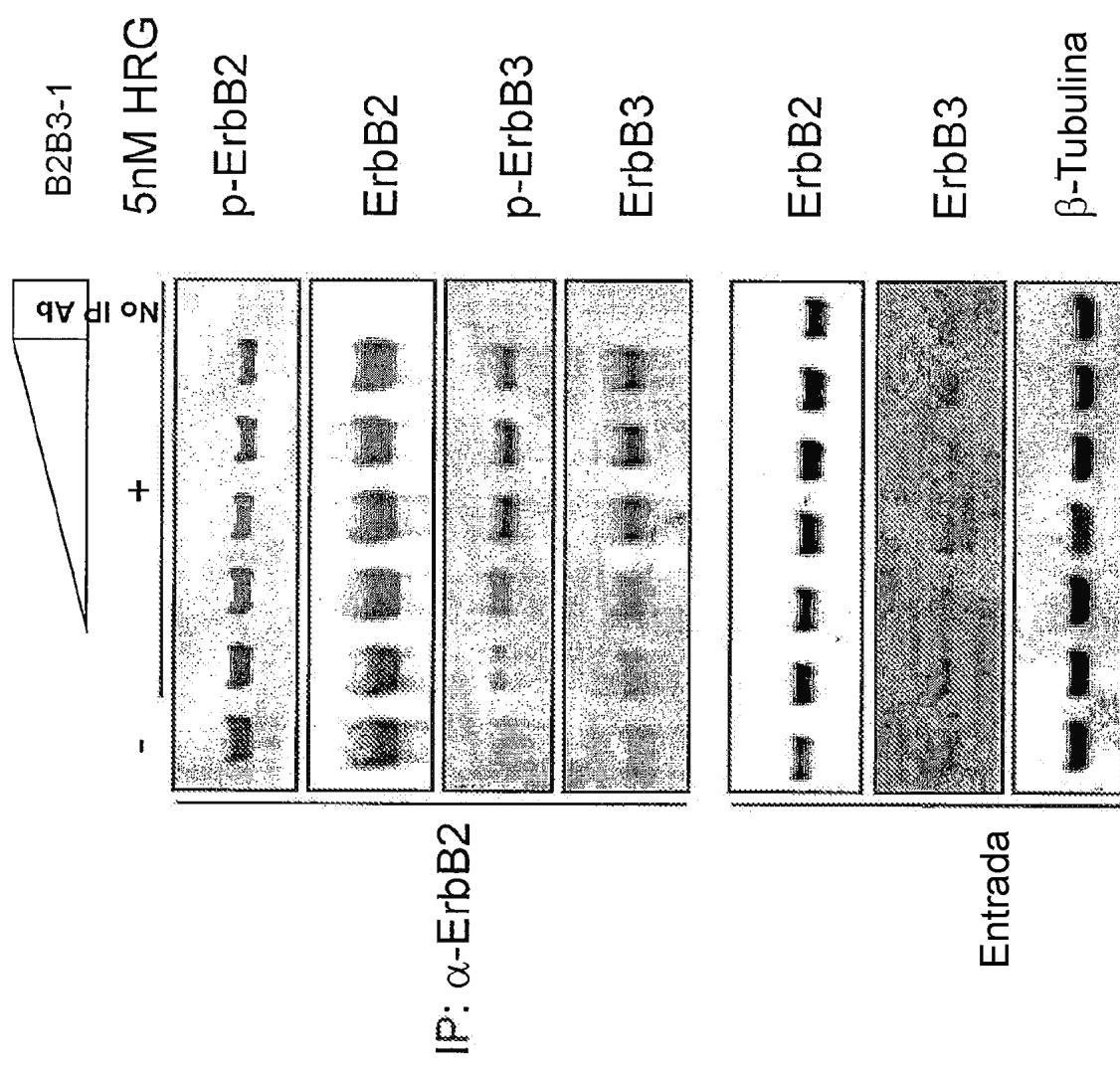


Figura 11

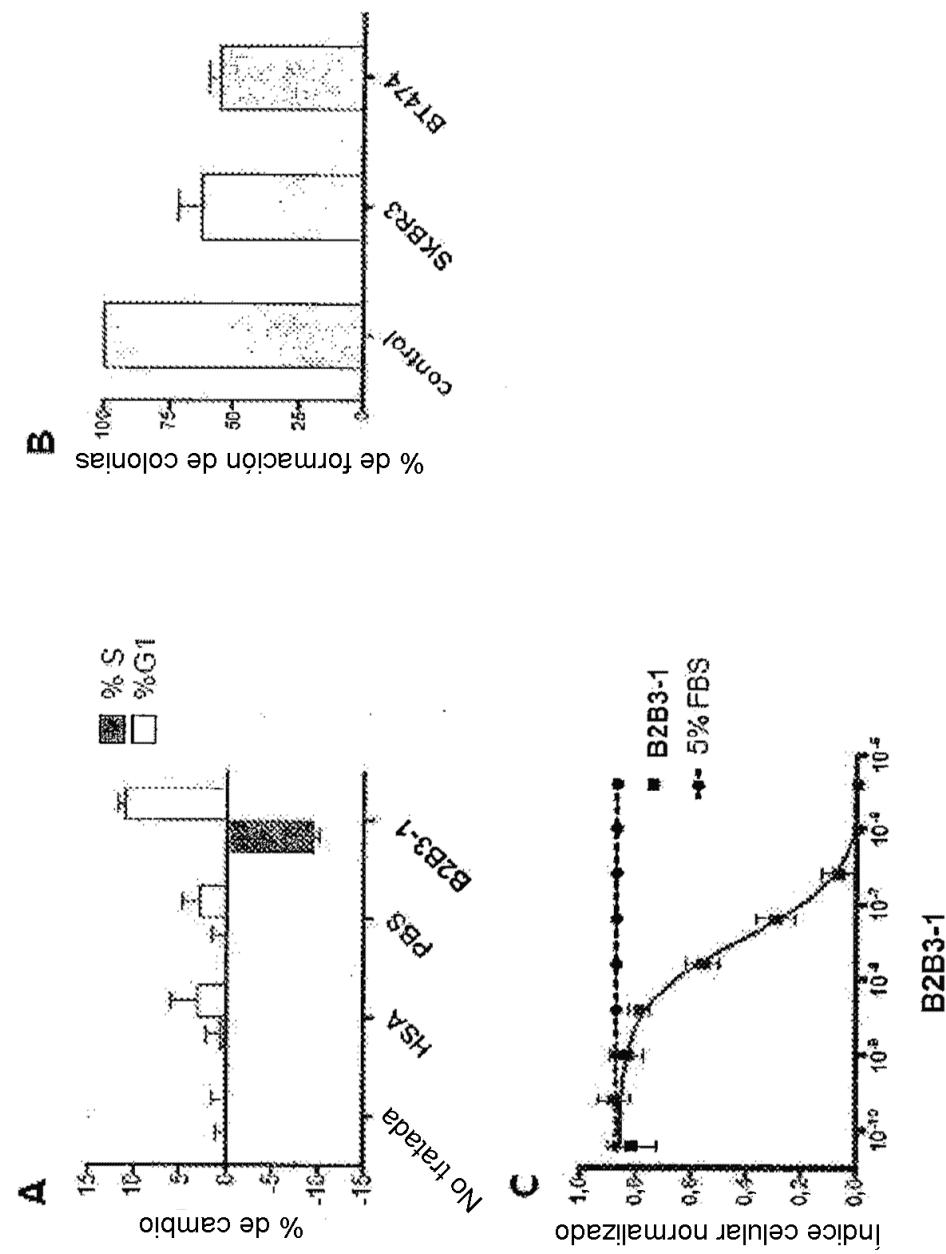


Figura 12

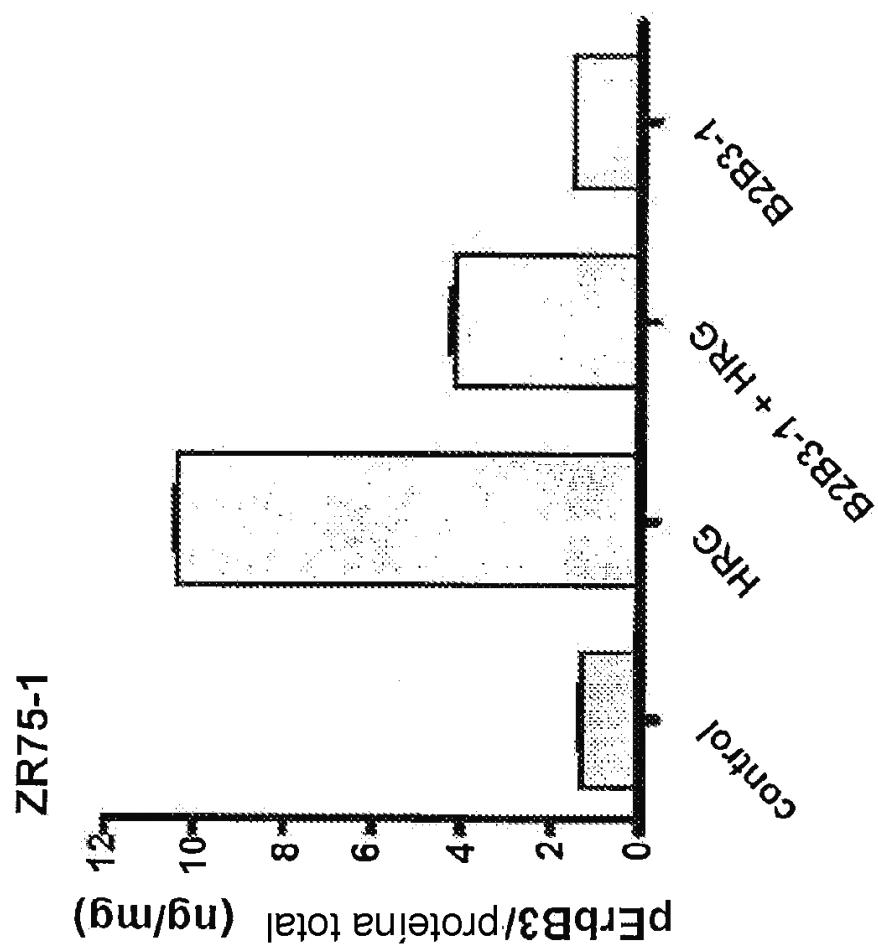


Figura 13

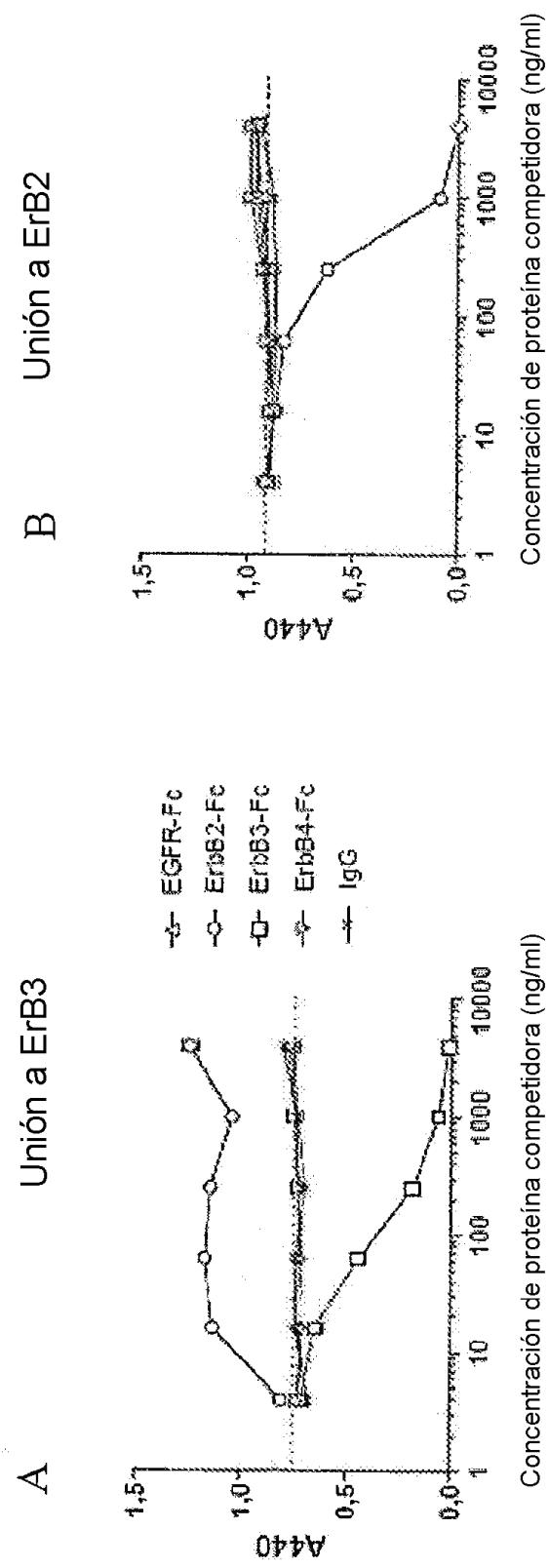


Figura 14

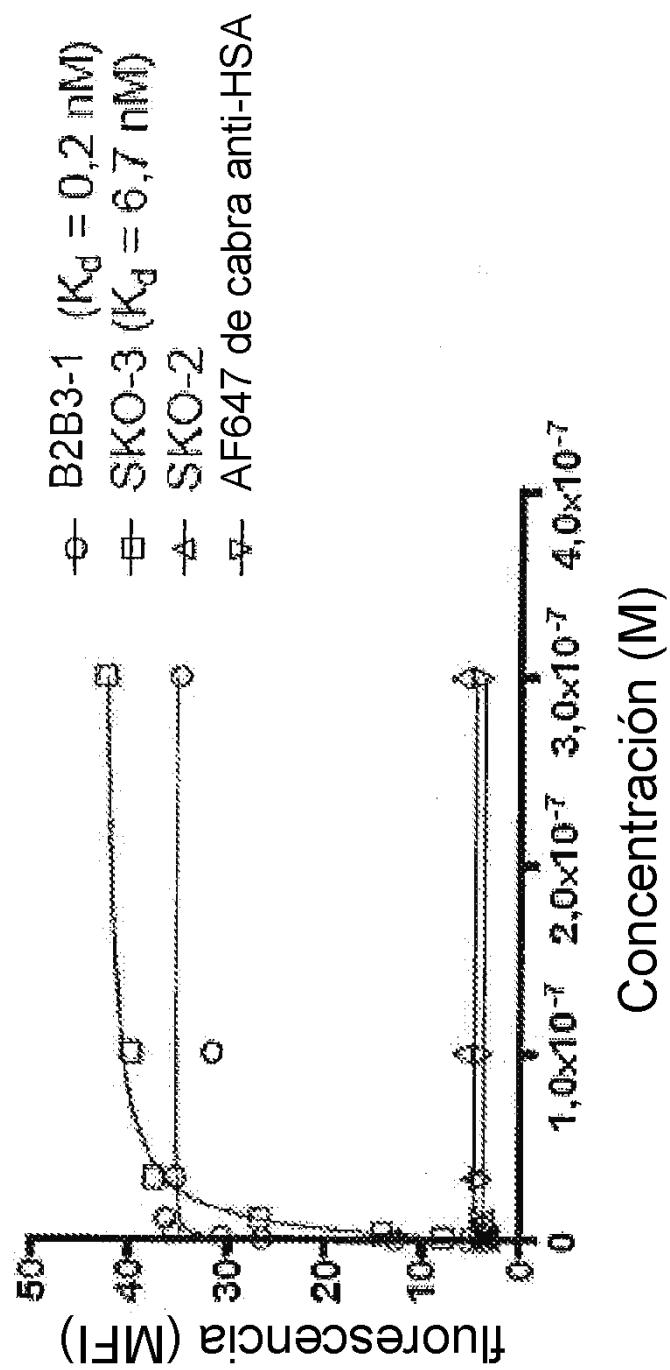


Figura 15

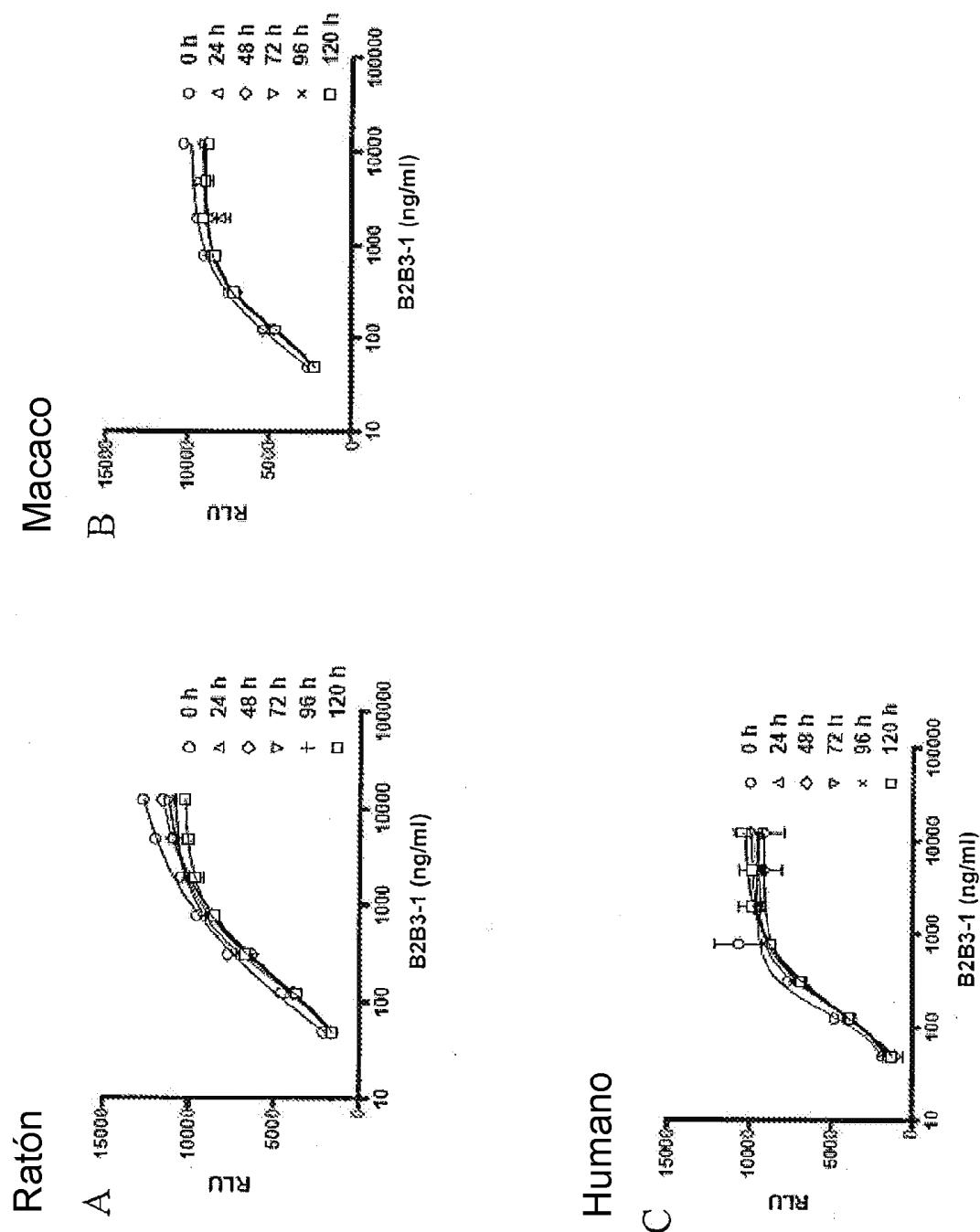


Figura 16

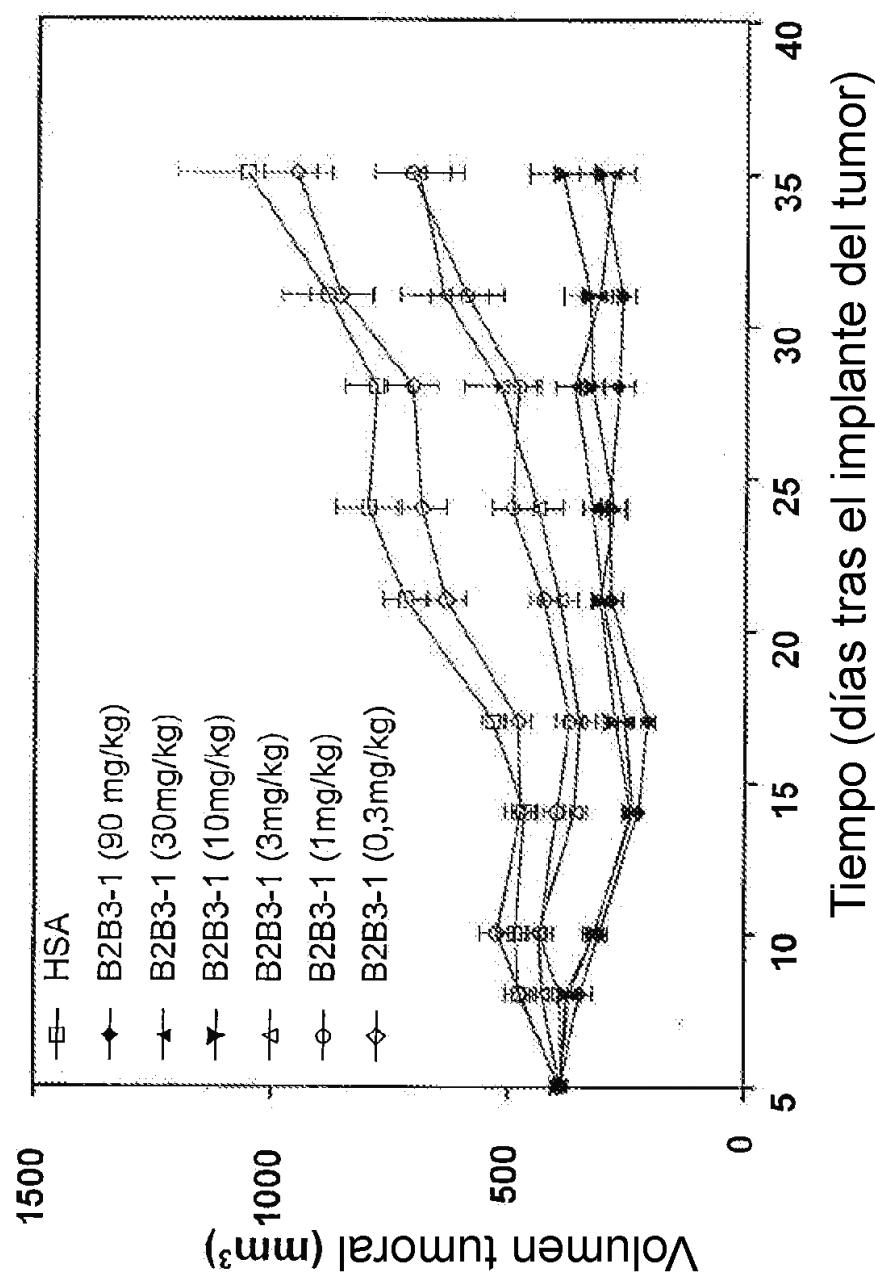


Figura 17

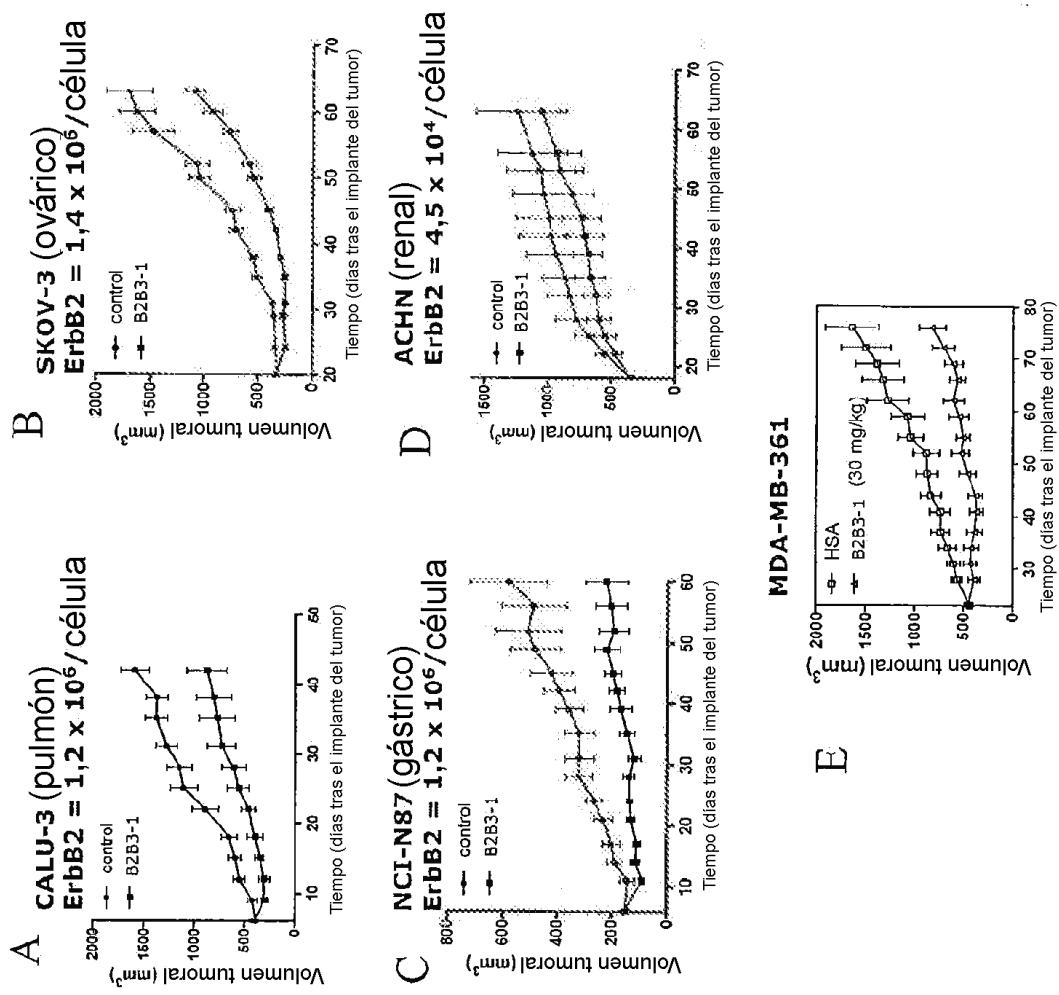


Figura 18

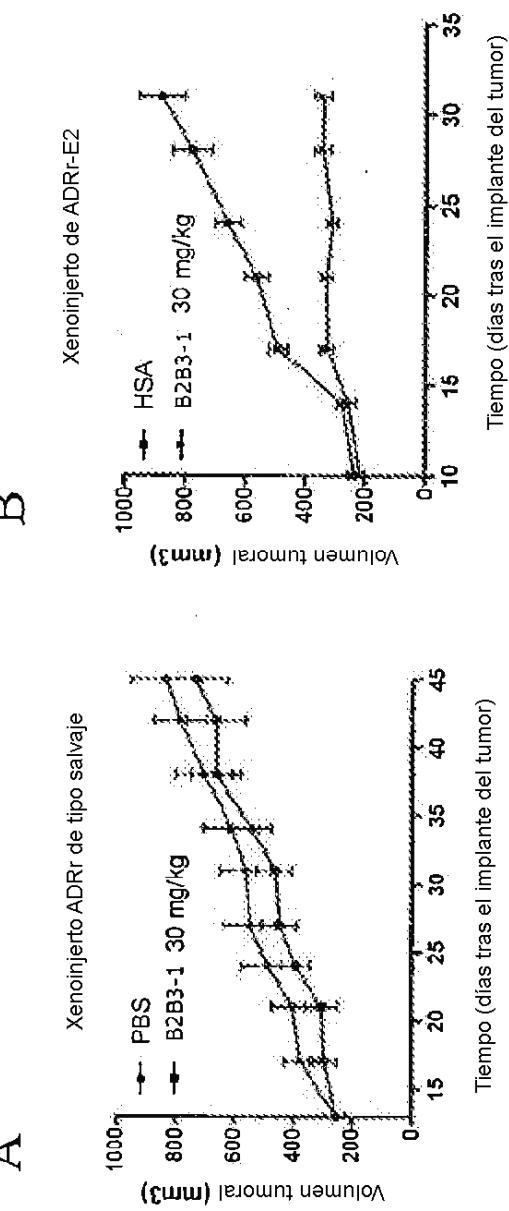


Figura 19

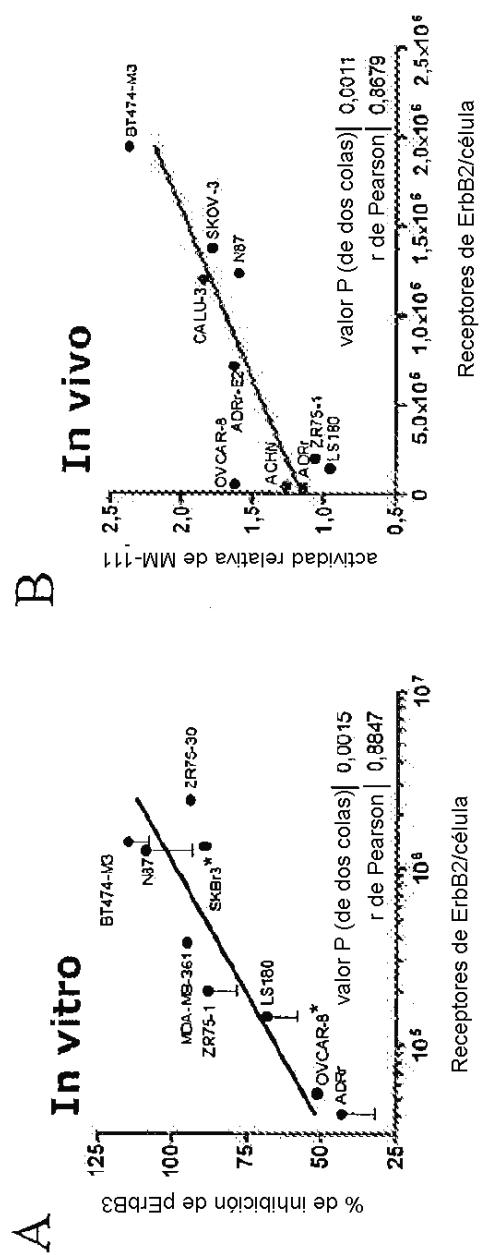


Figura 20

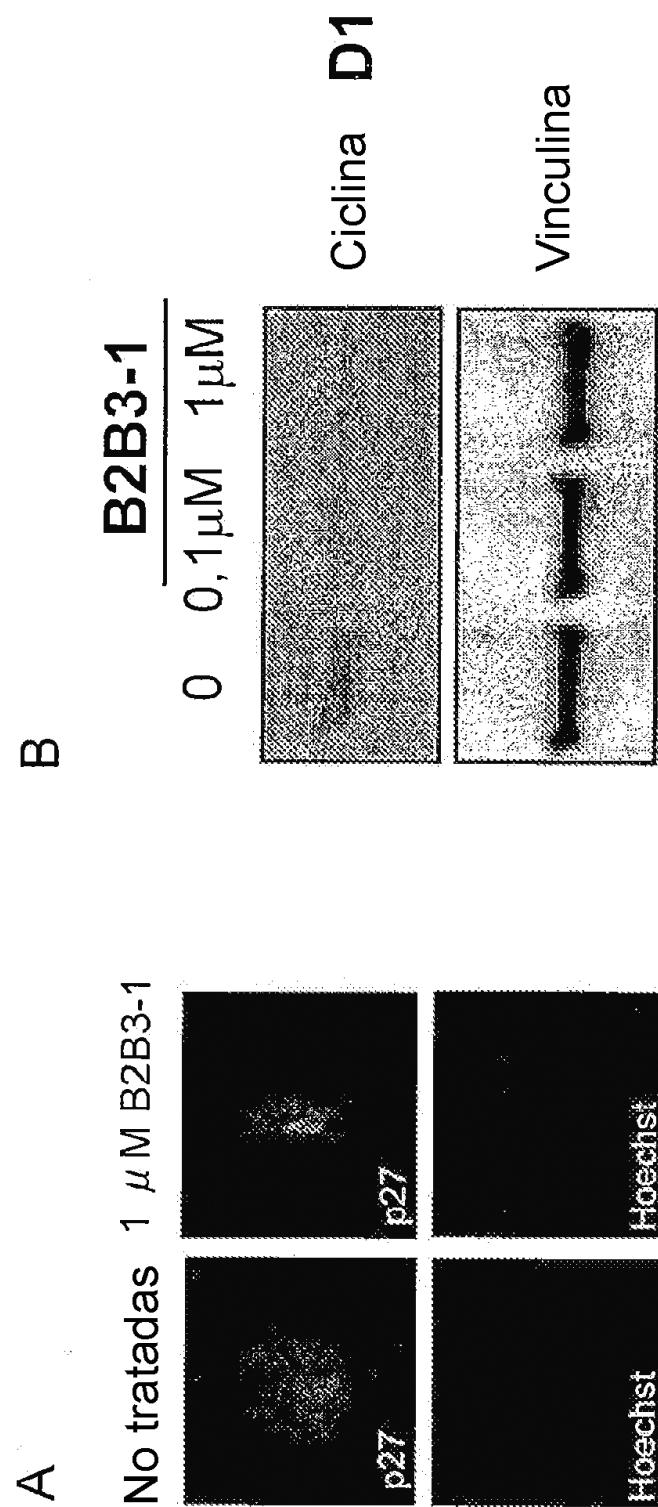


Figura 21

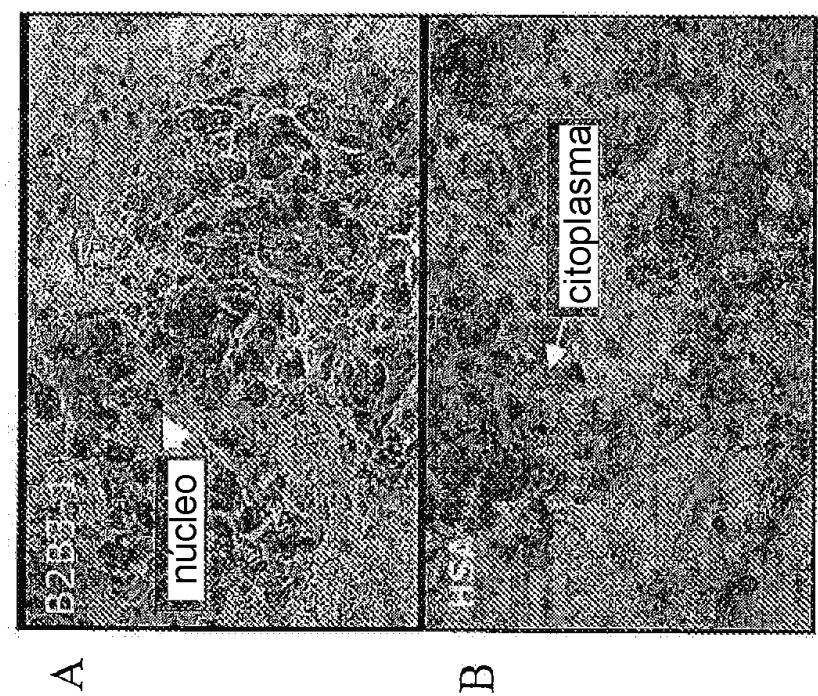


Figura 22

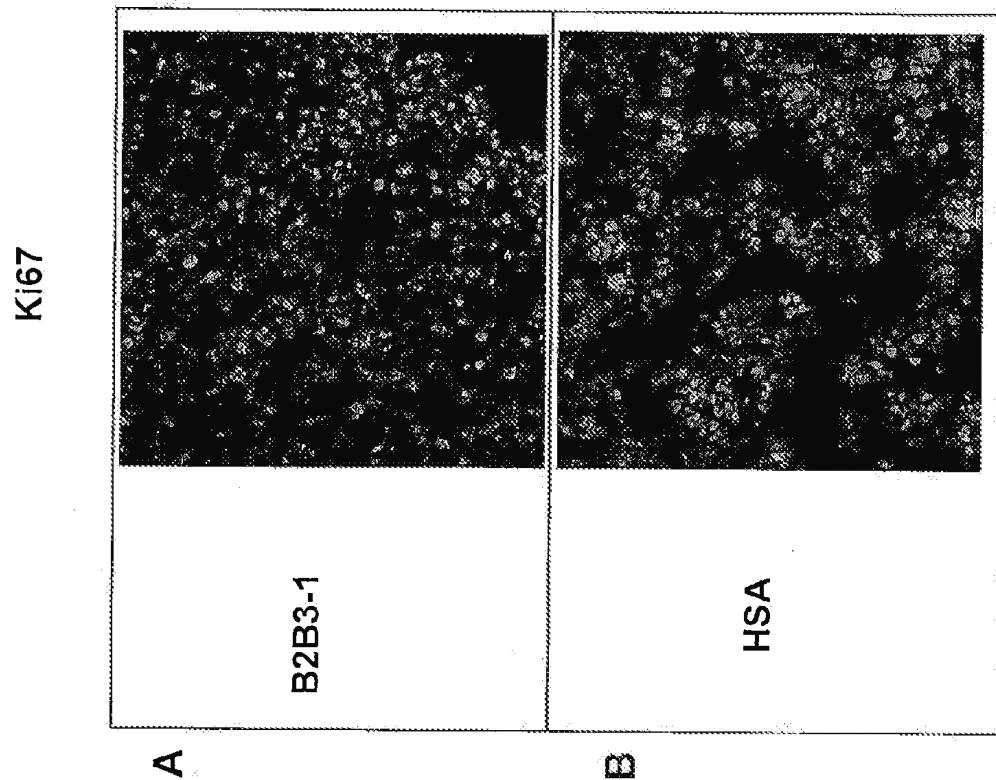


Figura 23

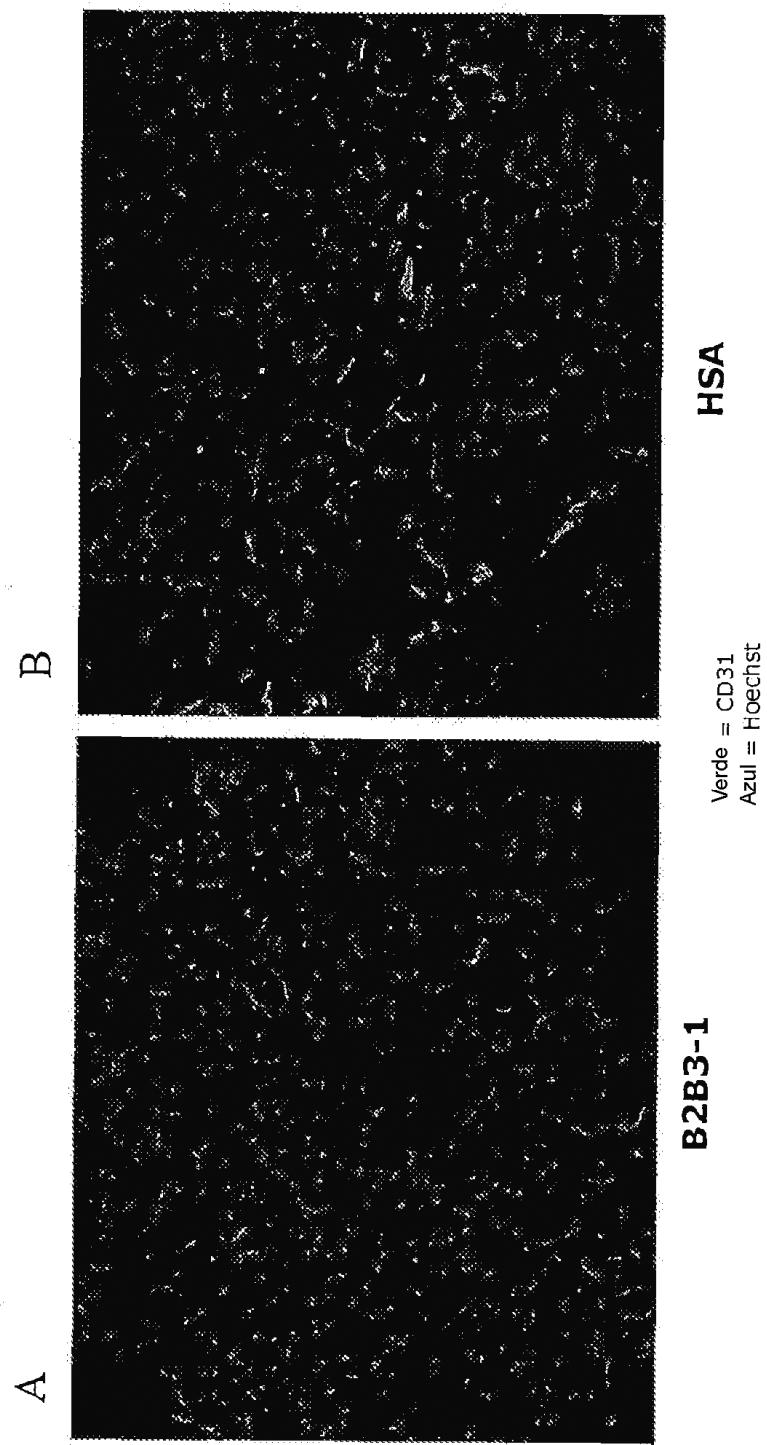


Figura 24

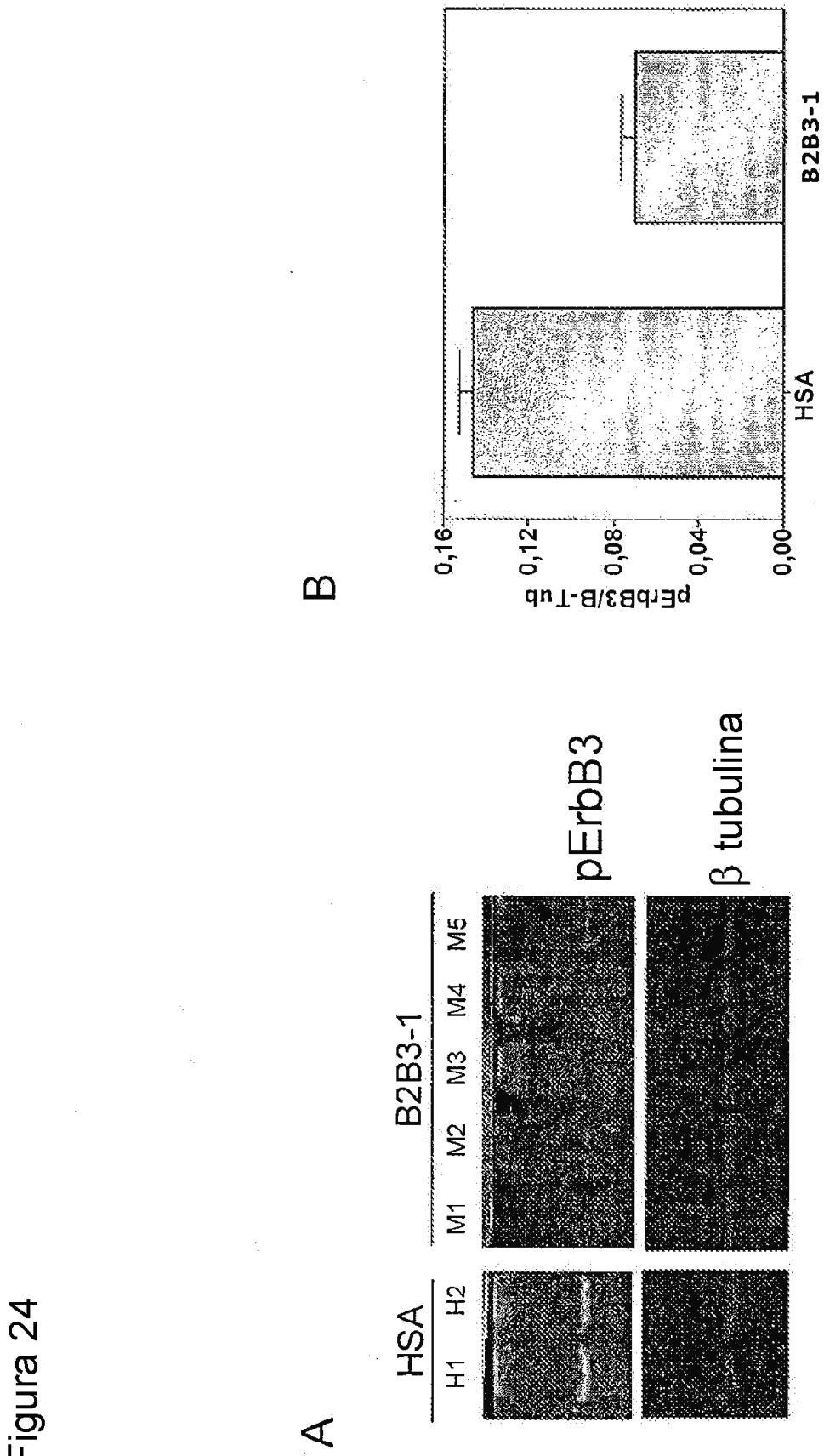


Figura 25

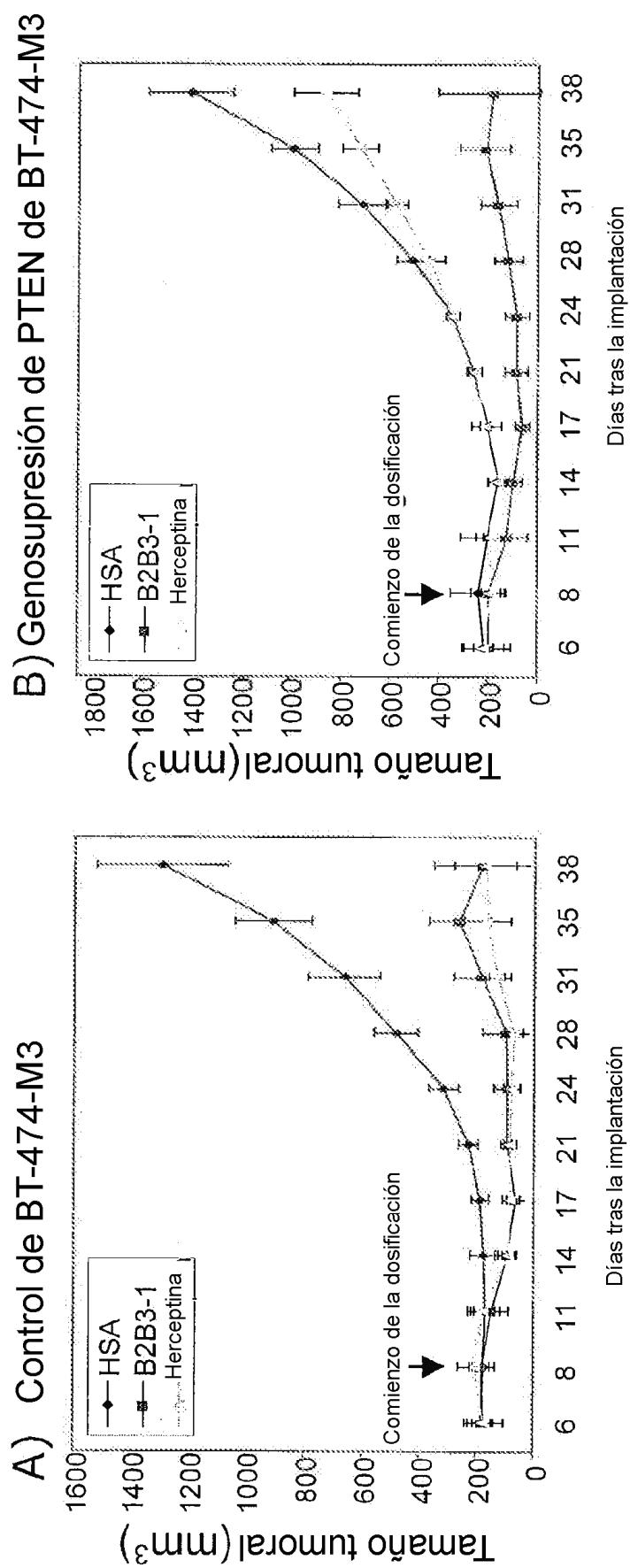


Figura 26

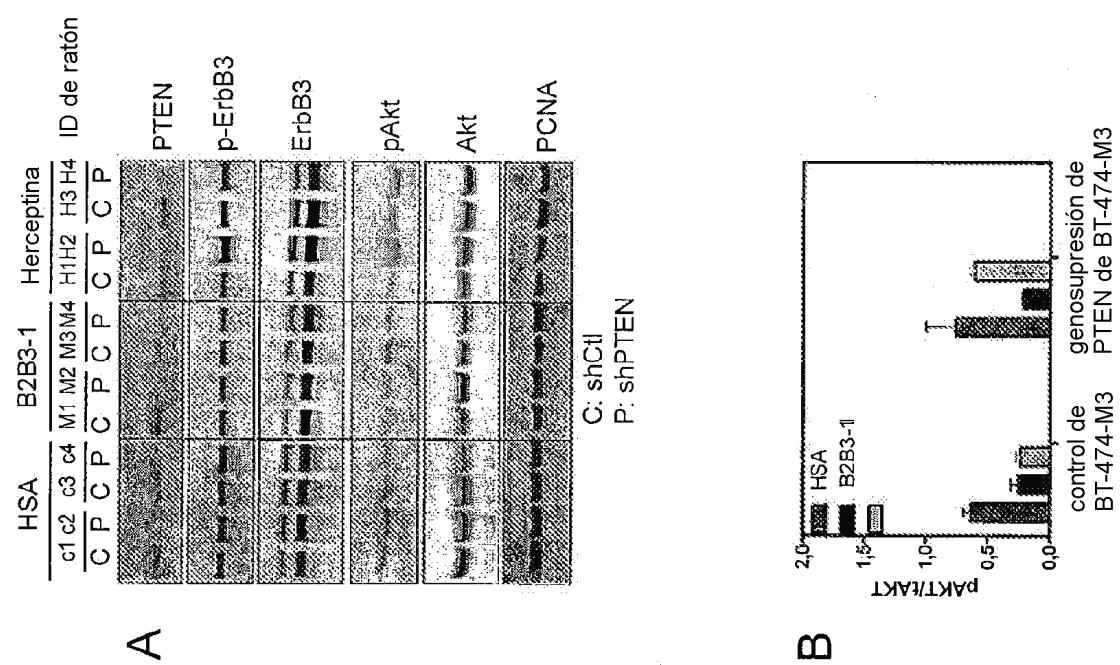


Figura 27

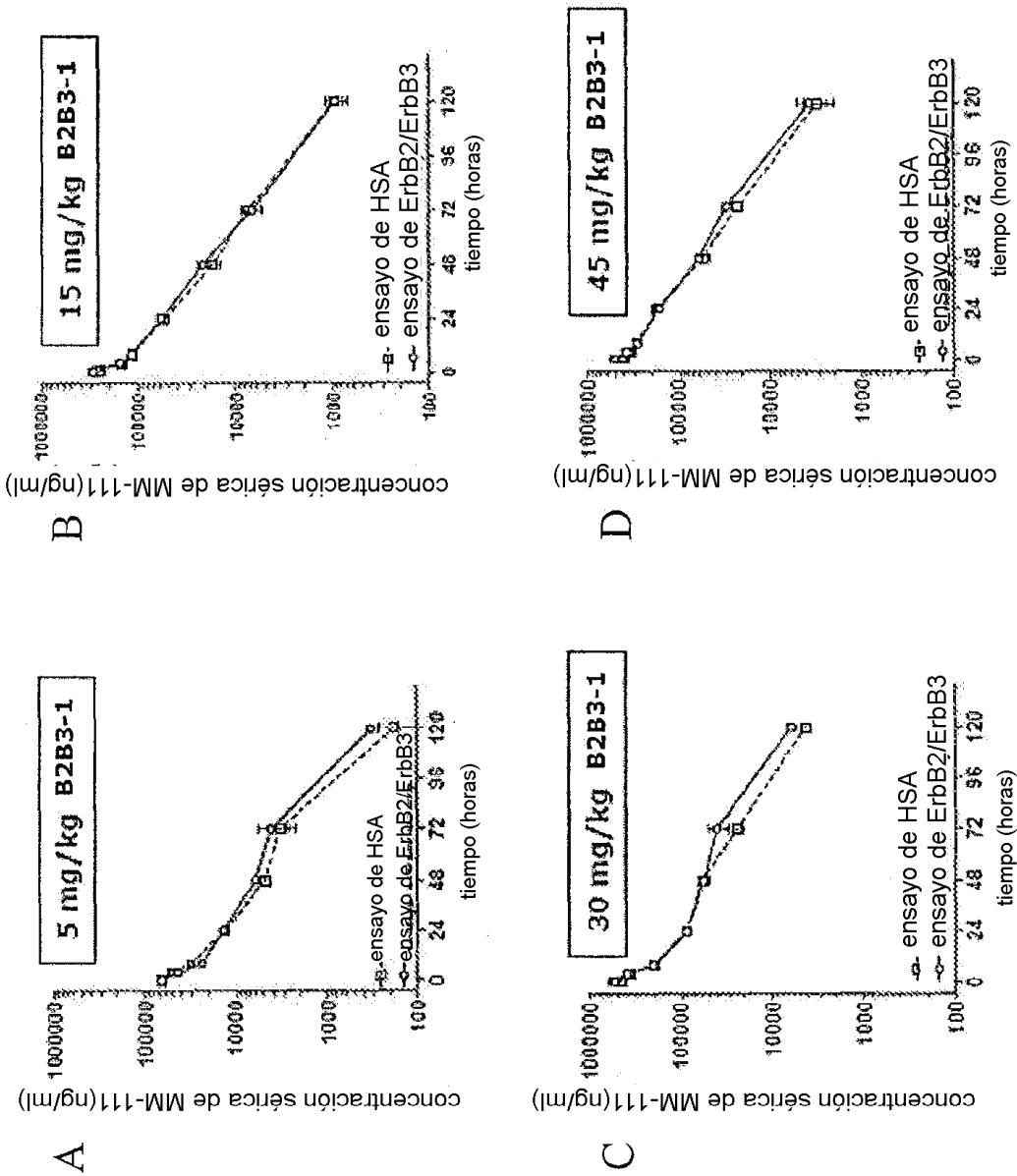


Figura 28

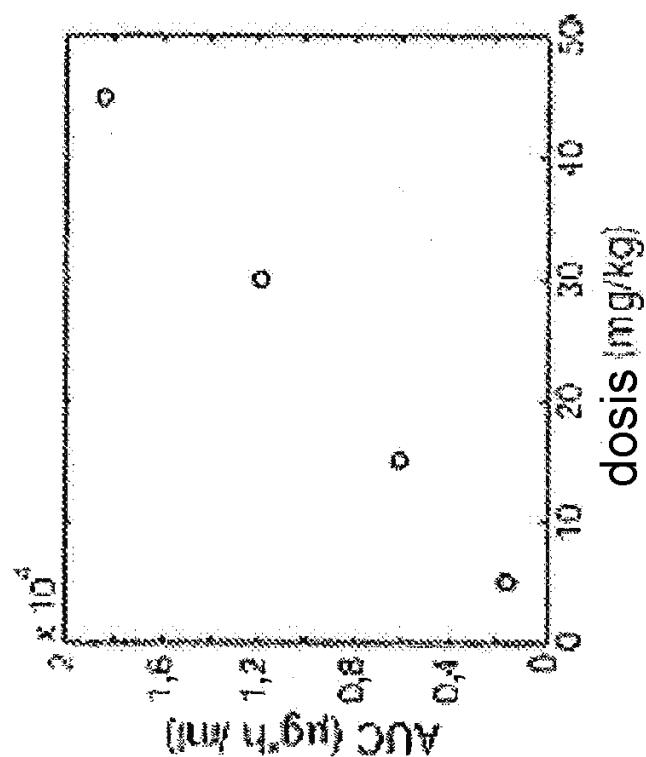


Figura 29

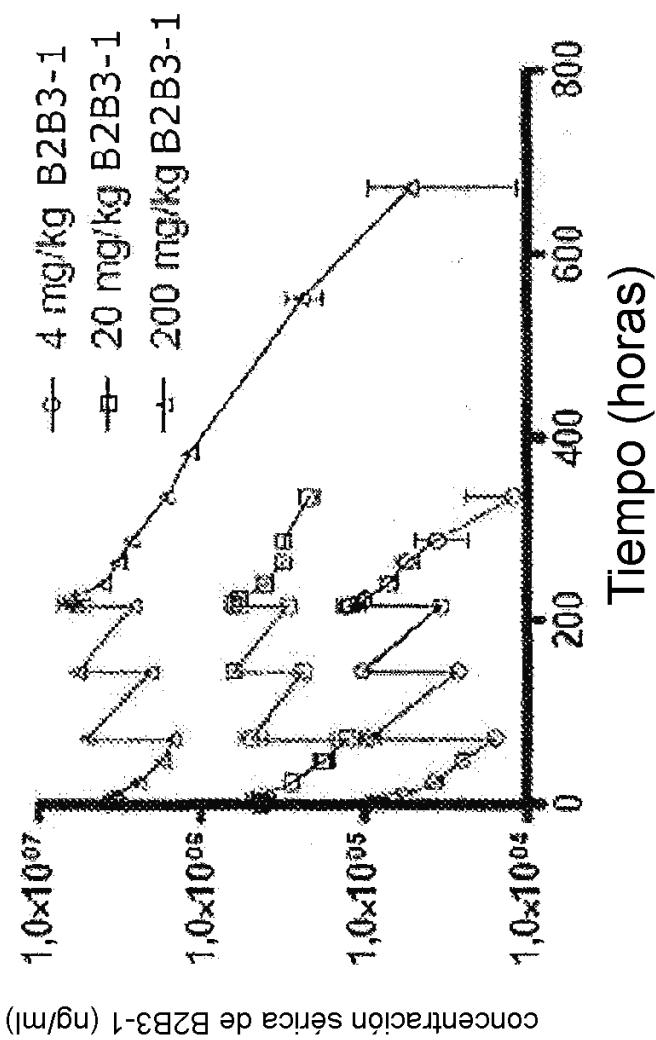


Figura 30

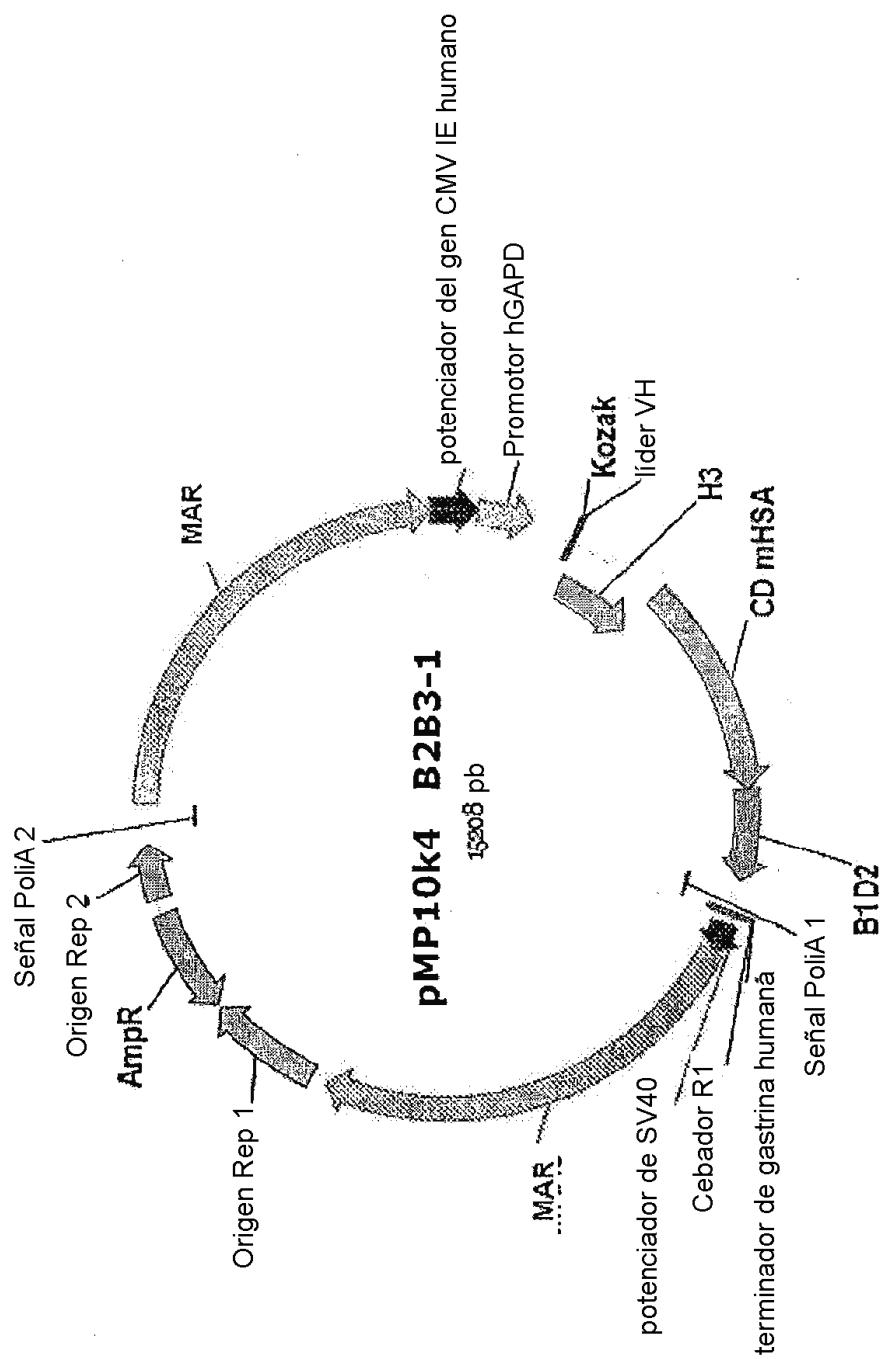


Figura 31

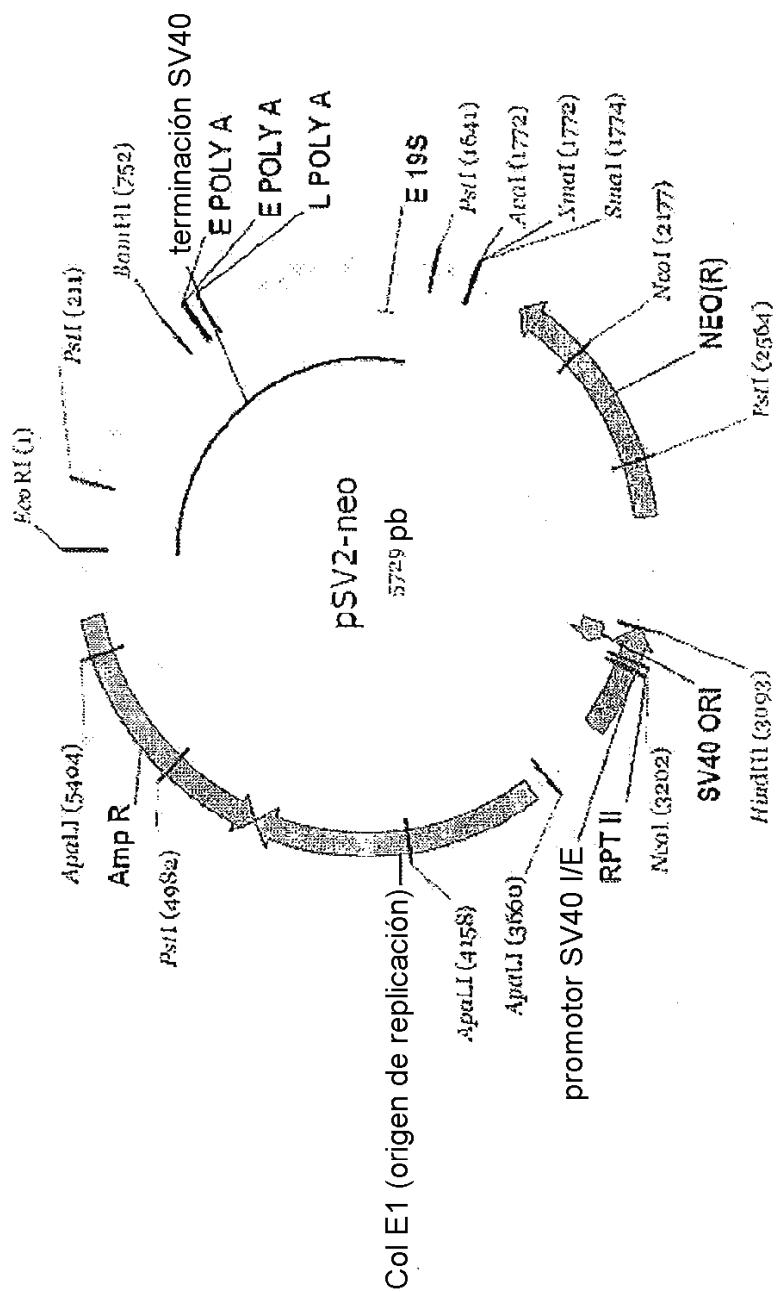


Figura 32

