

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 547 230**

51 Int. Cl.:

C07K 16/18 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.10.2008 E 08839961 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.04.2015 EP 2207565**

54 Título: **Régimen dependiente de inmunoterapia en estado ApoE**

30 Prioridad:

17.10.2007 US 999423 P

25.07.2008 US 83827 P

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

02.10.2015

73 Titular/es:

JANSSEN SCIENCES IRELAND UC (50.0%)
Eastgate Village, Eastgate
Little Island, County Cork, IE y
WYETH LLC (50.0%)

72 Inventor/es:

BLACK, RONALD;
EKMAN, LARS;
LIEBERBURG, IVAN;
GRUNDMAN, MICHAEL;
CALLAWAY, JAMES;
GREGG, KEITH M.;
JACOBSEN, JACK STEVEN;
GILL, DAVINDER;
TCHISTIAKOVA, LIUDMILA y
WIDOM, ANGELA

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 547 230 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).

Régimen dependiente de inmunoterapia en estado ApoE**Descripción**

5 ANTECEDENTES DEL INVENTO

I. General

10 [0001] La enfermedad de Alzheimer (AD - Alzheimer's disease) es una enfermedad progresiva que resulta en demencia senil. Refiérase, en general, a Selkoe, TINS 16:403 (1993); Hardy et al., WO 92/13069; Selkoe, J. Neuropathol. Exp. Neurol. 53:438 (1994); Duff et al., Nature (Naturaleza) 373:476 (1995); Games et al., Nature (Naturaleza) 373:523 (1995). En general, la enfermedad es clasificada dentro de dos categorías: de inicio tardío, que ocurre en edades avanzadas (65 años o más) y de inicio temprano, que se desarrolla mucho antes del periodo senil, es decir, entre 35 y 60 años. En ambos tipos de enfermedad, la patología es la misma pero las anomalías tienden a ser más severas y amplias en los casos que empiezan en una edad temprana. La enfermedad es caracterizada por al menos 2 tipos de lesiones en el cerebro, ovillos neurofibrilares y placas seniles. Ovillos neurofibrilares son depósitos intracelulares de proteínas tau asociadas con micro túbulos que consisten de dos filamentos torcidos entre sí en parejas. Las placas seniles (es decir, placas amiloides) son áreas de neuropilas desorganizadas de hasta 150 μm de largo con depósitos amiloides extracelulares en el centro que son visibles por medio del análisis microscópico de secciones del tejido cerebral. La acumulación de placas amiloides dentro del cerebro también se asocia con el síndrome de Down y otros desórdenes cognitivos.

25 [0002] El constituyente principal de las placas es un péptido denominado A β o péptido amiloide β . El péptido A β es un fragmento interno 4-kDa de 39-43 aminoácidos de una glicoproteína transmembranosa denominada proteína precursora amiloide (APP - amyloid precursor protein). Como un resultado del procesamiento proteolítico de APP por diferentes enzimas secretasas, A β es encontrada principalmente en una forma corta, con una longitud de 40 aminoácidos, y en una forma larga, variando desde 42 a 43 aminoácidos de largo. Parte del dominio de transmembranas hidrofóbicas de APP se encuentra en el extremo carboxi de A β , y podría explicar la capacidad de A β para aglutinarse en placas, particularmente en el caso de la forma larga. La acumulación de placas amiloides en el cerebro, eventualmente conlleva a la muerte de las células neuronales. Los síntomas físicos asociados con este tipo de deterioración neural caracterizan a la enfermedad de Alzheimer.

35 [0003] Algunas mutaciones dentro de la proteína APP han sido correlacionadas con la presencia de la enfermedad de Alzheimer. Refiérase, por ejemplo, a Goate et al., Nature (Naturaleza) 349:704 (1991) (valina717 a isoleucina); Chartier Harlan et al., Nature (Naturaleza) 353:844 (1991) (valina717 a glicina); Murrell et al., Science (Ciencia) 254:97 (1991) (valina717 a fenilalanina); Mullan et al., Nature Genet. 1:345 (1992) (un cambio de mutación doble lisina596-metionina596 a asparagina595-leucina596). Se piensa que tales mutaciones causan la enfermedad de Alzheimer por medio de un procesamiento incrementado o alterado de APP a A β , particularmente el procesamiento de APP a montos incrementados de la forma larga de A β (es decir, A β 1-42 y A β 1-43). Se piensa que las mutaciones en otros genes, tales como los genes de presenilina, PS1 y PS2, afectan indirectamente al procesamiento de APP para generar montos incrementados de la forma larga de A β (refiérase a Hardy, TINS 20: 154 (1997)). WO-A-2006/083689 describe formulaciones para mantener la estabilidad de los polipéptidos que enlazan a A β , por ejemplo, anticuerpos A β . Ejemplos de formulaciones incluyen un agente de tonicidad tal como manitol y un agente amortiguador o aminoácido tal como la histidina. Otros ejemplos de formulaciones incluyen a antioxidantes en un monto suficiente para inhibir la formación de productos derivados, por ejemplo, la formación de aglutinaciones de polipéptidos de masa molecular alta, fragmentos de degradaciones de polipéptidos de masa molecular baja y sus mezclas. El anticuerpo 3D6 depositado en el ATCC con el número de depósito PTA-5130 es presentado. WO-A-2006-034653 presenta anticuerpos anti-5T4 quiméricos y humanizados y conjugaciones anticuerpo / medicamento y los métodos para preparar y usarlos. US5,624,821 describe un anticuerpo modificado de la clase IgG en la cual por lo menos un residuo de aminoácidos en la porción constante es reemplazado por un residuo diferente, alterando una función ejecutora del anticuerpo en comparación de un anticuerpo no modificado.

55 [0004] La Apolipoproteína E (ApoE) codifica una proteína de procesamiento del colesterol. El gen, que mapea a 19q13.2, tienen tres variantes alélicas: ApoE4, ApoE3, y ApoE2. La frecuencia de la versión apoE4 del gen en la población general varía, pero siempre es inferior al 30% y frecuentemente es del 8%-15%. ApoE3 es la forma más común y ApoE2 es la forma menos común. Personas con un alelo E4 usualmente tienen alrededor de dos o tres veces más el riesgo de desarrollar la enfermedad de Alzheimer. Las personas con dos alelos E4 (usualmente alrededor del 1% de la población) tienen un riesgo de alrededor de nueve veces más. Sin embargo, hasta personas con dos alelos E4 no siempre tienen la enfermedad de Alzheimer. Por lo menos un alelo E4 se encuentra en alrededor del 40% de los pacientes con la enfermedad de Alzheimer de inicio tardío. La examinación genética para E4 no se ha realizado rutinariamente, porque no se ha conocido como utilizar esta información para un régimen terapéutico.

65 RESUMEN DEL INVENTO DECLARADO

[0005] El invento suministra un anticuerpo tal como se definió en la declaración 1. En una sección, este anticuerpo

es para el uso en un método para tratar la enfermedad de Alzheimer, que comprende la administración a un paciente que tiene cero alelos ApoE4 ("paciente no portador de ApoE4") y la enfermedad de Alzheimer con un régimen efectivo del anticuerpo. Opcionalmente, las dosis son administradas cada cuatro a 16 semanas. Opcionalmente, las dosis son administradas cada 10 a 14 semanas. Opcionalmente, las dosis son administradas cada 13 semanas. Opcionalmente, las dosis son de alrededor de 0.5 miligramos/kilogramo a 2 mg/kilogramo. Opcionalmente, la dosis es de alrededor de 2 mg/kilogramo. Opcionalmente, el método también involucra el monitoreo de enemas vasogénicos, y opcionalmente la administración de un corticosteroide al paciente para tratar el edema vasogénico detectado por el monitoreo.

[0006] El anticuerpo de la declaración uno también es para el uso en un método para tratar la enfermedad de Alzheimer, que comprende la administración subcutánea a un paciente que tiene la enfermedad y una o dos copias de un alelo ApoE4 de un régimen efectivo del anticuerpo. Opcionalmente, el método también comprende el monitoreo de enemas vasogénicos. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado con una dosis de 0.15-1 mg/kilogramo.

[0007] El número de copias de ApoE4 puede ser utilizado en la selección de diferentes regímenes para el tratamiento o la profilaxis de una enfermedad caracterizada por depósitos amiloides en el cerebro del paciente.

[0008] El invento suministra una forma humanizada de un anticuerpo 3D6 que comprende una región constante de una cadena pesada humana con mutaciones L234A, L235A y G237A, donde las posiciones son enumeradas por medio de un sistema de numeración EU. El hibridoma 3D6 fue depositado con el ATCC el 8 de abril de 2003 y se le asignó el número de acceso PTA-5130. El ATCC está ubicado en 10801 University Blvd., Manassas, VA 20110. Opcionalmente, el isótopo es IgG1, IgG2 o IgG4 humano, preferiblemente IgG1. El hibridoma 3D6 fue depositado con el ATCC el 8 de abril de 2003.

[0009] Este invento suministra además un anticuerpo humanizado aislado que comprende una secuencia de una región variable de una cadena ligera de la IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 2 y una secuencia de una región variable de una cadena pesada madura de la IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 3, y una región constante de una cadena pesada humana del isotipo IgG con las mutaciones L234A, L235A, y G237A, donde las posiciones son numeradas por el sistema de numeración EU. Opcionalmente, el isotipo es el isotipo IgG1 humano.

[0010] El invento también suministra un método de tratamiento o para ejecutar una profilaxis de una enfermedad caracterizada por depósitos A β en el cerebro del paciente que comprende la administración de un régimen efectivo del anticuerpo humanizado al paciente; donde el anticuerpo humanizado opcionalmente comprende una secuencia de una región variable de una cadena ligera madura de la IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 2 y una secuencia de una región variable de una cadena pesada madura de la IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 3, y una constante de una cadena pesada humana del isotipo IgG1. Opcionalmente, el paciente tiene por lo menos un alelo ApoE4. Opcionalmente la dosis es de 0.15-1 mg/kilogramo. Opcionalmente, la dosis es de 0.15-2 mg/kilogramo. Opcionalmente el método también comprende el monitoreo del paciente por medio de MRI para detectar edemas vasogénicos.

[0011] El anticuerpo opcionalmente comprende una región constante de cadena pesada humana del isotipo IgG1, donde los aminoácidos en las posiciones 234, 235 y 237 (numeración EU) son todos alanina. Opcionalmente, ningún otro aminoácido de las posiciones 230-240 o 315-325 en la región constante de cadena pesada humana son ocupadas por ningún aminoácido no natural encontrado en esa posición en una región constante IgG1 humana. Opcionalmente, ningún aminoácido en la región constante de cadena pesada humana aparte de los ubicados en las posiciones 234, 235 y 237 es ocupado por un aminoácido que no se encuentra naturalmente en esa posición en una región humana IgG1. Opcionalmente, la región constante de cadena pesada humana comprende las regiones CH1, charnela, CH2 y CH3. Opcionalmente, la región constante de cadena pesada humana tiene una secuencia de aminoácidos que comprende a la IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 66 o a la IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 67 o un alotipo de cualquiera de estas secuencias. Opcionalmente, la región constante de cadena pesada humana tiene una secuencia de aminoácidos que comprende a la IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 66 o a la IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 67.

DESCRIPCIÓN BREVE DE LAS FIGURAS

[0012]

La figura 1 muestra cambios en ADAS-Cog, DAD, NTB y CDR-SB en pacientes tratados en relación a los pacientes placebo utilizando un modelo estadístico de medidas repetidas sin la premisa de linealidad. Las barras sobre cero indican una mejora relativa en comparación con el placebo. MITT (modified intent to treat) = intención modificada para tratar.

La figura 2 muestra cambios en ADAS-Cog, DAD, NTB y CDR-SB en pacientes que fueron tratados que completaron los ensayos ("terminadores") en relación a los pacientes placebo utilizando un modelo estadístico de medidas repetidas sin la premisa de linealidad. Las barras sobre cero indican una mejora

relativa en comparación con el placebo.

5 La figura 3 muestra cambios en ADAS-Cog, DAD, NTB y CDR-SB en pacientes tratados portadores de ApoE4 en relación a los pacientes placebo utilizando un modelo estadístico de medidas repetidas sin la premisa de linealidad. Las barras sobre cero indican una mejora relativa en comparación con el placebo.

10 La figura 4 muestra cambios en ADAS-Cog, DAD, NTB y CDR-SB en pacientes tratados portadores de ApoE4 quienes completaron el ensayo relativo a los pacientes placebo utilizando un modelo estadístico con medidas repetidas sin la premisa de linealidad. Las barras sobre cero indican la mejora relativa en comparación del placebo.

15 La figura 5 muestra cambios en ADAS-Cog, DAD, NTB y CDR-SB en pacientes tratados no portadores de ApoE4 en comparación con pacientes placebo utilizando un modelo estadístico con medidas repetidas sin la premisa de linealidad. Las barras sobre cero indican la mejora relativa en comparación del placebo.

La figura 6 suministra información similar a la figura 5 excepto que la figura 6 muestra cambios basados en la escala MMSE en comparación del placebo.

20 La figura 7 muestra cambios en ADAS-Cog, DAD, NTB y CDR-SB en pacientes tratados no portadores de ApoE4 que completaron el ensayo en relación con los pacientes placebo utilizando un modelo estadístico con medidas repetidas sin la premisa de linealidad. Las barras sobre cero indican las mejoras en relación al placebo.

25 La figura 8 muestra una información similar a la figura 7 excepto que la figura ocho muestra cambios basados en la escala MMSE en relación al placebo.

La figura 9 muestra cambios en ADAS-cog, DAS, NTB y CDR-SB durante el paso del tiempo en pacientes tratados en comparación con el placebo en una población no portadora de ApoE4.

30 Las figuras 10, 11 y 12 muestran cambios en BBSI en la población general (portadores y no portadores de ApoE4), los portadores ApoE4 y los no portadores de ApoE4 respectivamente en comparación con las poblaciones placebo.

35 La figura 13 muestra la concentración CSF de fosfo-tau en pacientes tratados en comparación con los pacientes placebo (sin distinguir entre los genotipos ApoE4).

La figura 14 muestra cambios en la concentración sérica de bapineuzuab en el suero durante el tiempo (izquierda) y la concentración de A β en el plasma durante el tiempo.

40 La figura 15 muestra una alineación de los dominios CH2 del IgG1 humano (IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 95), IgG2 (IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 96) e IgG4 (IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 97) con IgG1 de ratón (IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 98) e IgG2a (IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 99).

45 La figura 16 muestra una clarificación de placa A β por microglía de ratón de los derivados IgG2a de 3D6 murinos. MslgG1 y MslgG2a son anticuerpos murinos en contra de antígenos irrelevantes. Los anticuerpos 3D6 tienen la región variable aquí descrita. 3D6/FcyR1 indica la mutación E233P individual en la región de vinculación Fc de la región constante IgG1. 3D6/C1q indica a la mutación triple en la región de vinculación C1q. Refiérase, por ejemplo, al ejemplo seis y a la tabla 10.

50 La figura 17 muestra una clarificación de placa A β por microglía de ratón de los derivados IgG2a de 3D6 murinos. IgG2a es un anticuerpo murino en contra de un antígeno irrelevante. Los anticuerpos restantes y las condiciones son descritas, por ejemplo, en el ejemplo seis y la tabla 10.

55 La figura 18 muestra una clarificación de placa A β por microglía de ratón de los derivados 3D6 humanizados (AAB). Los anticuerpos y las condiciones se describen por ejemplo, en el ejemplo seis y en la tabla 10.

60 La figura 19 muestra los resultados de un ensayo in vitro que mide la inmersión de esferas cubiertas con IgG murino por células microgliales de ratón. Las condiciones son descritas en el ejemplo seis.

La figura 20 muestra un ensayo similar utilizando los anticuerpos humanizados indicados. Las condiciones son descritas en el ejemplo seis.

65 La figura 21 muestra los resultados de un ensayo ELISA midiendo la vinculación C1q por los anticuerpos humanizados indicados. Refiérase al ejemplo siete.

La figura 22 muestra los resultados de un ensayo de citotoxicidad de complemento dependiente de un anticuerpo utilizando los anticuerpos humanizados indicados. Los resultados son expresados tal como se describe en el ejemplo siete.

5 La figura 23 muestra los resultados de un ensayo ELISA que mide la vinculación C1q por los anticuerpos murinos indicados. Refiérase al ejemplo ocho.

10 Las figuras 24-25 muestran los resultados de un ensayo de miedo contextual en ratones tratados con los anticuerpos humanizados indicados. Los resultados son comparados entre ratones de tipo silvestre y Tg2576, tal como se describe en el ejemplo nueve.

15 La figura 26 muestra los resultados de las actividades ADCC de anticuerpos anti – Lewis Y Ab02. Refiérase al ejemplo 15.

La figura 27 muestra los resultados de las actividades CDC (citotoxicidad dependiente complementaria) de los anticuerpos anti-Lewis Y Ab02. Refiérase al ejemplo 15.

20 DEFINICIONES

[0013] El término “inmunoglobulina” o “anticuerpos” (utilizado intercambiamente en este documento) se refiere a una proteína que vincula a un antígeno que tiene una estructura básica de cadena de cuatro polipéptidos que consiste de dos cadenas pesadas y dos ligeras, siendo las cadenas mencionadas estabilizadas, por ejemplo, por enlaces de bisulfuro intercatenarios, que tiene la habilidad de vincular específicamente a un antígeno. Cadenas pesadas y ligeras son plegadas en dominios. El término “dominio” se refiere a una región globular de un polipéptido de cadenas pesadas o ligeras que comprende circuitos de péptidos (por ejemplo, que contienen entre tres a cuatro circuitos péptidos) estabilizados, por ejemplo, por un enlace de una lámina plisada y / o disulfato Intercatenario. Los dominios son denominados en este documento como “constantes” o “variables”, basándose en la falta relativa de variación secuencial dentro de los dominios de varios miembros de la clase en el caso de un dominio “constante”, o variación importante dentro de los dominios de varios miembros de la clase en el caso de un dominio “variable”. Los dominios “constantes” en la cadena ligera son denominados intercambiamente como “regiones constantes de cadenas ligeras”, “dominios constantes de cadenas ligeras”, regiones “CL” o dominios “CL”). Los dominios “constantes” en la cadena pesada se denominan intercambiamente como “regiones constantes de cadenas pesadas”, “dominios constantes de cadenas pesadas”, regiones “CH” o dominios “CH”). Una región constante de cadenas pesadas también se entiende que se refiere colectivamente a los dominios presentes en una región constante de longitud completa, que son dominios CH1, charmela, CH2 y CH3 en el caso de anticuerpos del isotipo IgG. Los dominios “variables” en las cadenas ligeras se denominan intercambiamente como “regiones variables de cadenas ligeras”, “dominios variables de cadenas ligeras”, regiones “VL” o dominios “VL”). Los dominios “variables” en la cadena pesada son denominados intercambiamente como “regiones constantes de cadenas pesadas”, “dominios constantes de cadenas pesadas”, regiones “CH” o dominios “CH”).

[0014] El término “región” se refiere a una parte o porción de una cadena de anticuerpos e incluye dominios constantes o variables tal como se define en este documento, así como partes o porciones más discretas de aquellos. Por ejemplo, los dominios o regiones variables de cadenas ligeras incluyen “regiones determinantes complementarias” o “CDRs (complementarity determining regions)” intercaladas entre “regiones del marco de trabajo” o “FRs (framework regions)” tal como se define en este documento.

[0015] Las referencias a un anticuerpo o inmunoglobulina incluyen anticuerpos intactos y sus fragmentos de enlace. Típicamente, los fragmentos compiten con los anticuerpos intactos de los cuales estos se derivaron para un enlace específico a un antígeno. Los fragmentos incluyen cadenas separadas pesadas y ligeras, Fab, Fab' F(ab')₂, Fabc, y Fv. Las cadenas separadas incluyen NANOBODIES™ (es decir, fragmentos VH aislados de las cadenas pesadas de anticuerpos de camellos o llamas, humanizados opcionalmente). Los fragmentos VH aislados también pueden ser obtenidos de otras fuentes, tales como anticuerpos humanos. Los fragmentos son producidos por medio de técnicas recombinantes de ADN, o por separación enzimática o química de inmunoglobulinas intactas. El término “anticuerpos” también incluye una o más cadenas de inmunoglobulinas que están conjugadas químicamente a, o están expresadas como, proteínas de fusión con otras proteínas. El término “anticuerpo” también incluye anticuerpos biespecíficos. Un anticuerpo biespecífico o bifuncional es un anticuerpo híbrido artificial que tiene dos parejas diferentes de cadenas pesadas/ligeras y dos lugares de vinculación diferentes. Los anticuerpos biespecíficos pueden ser producidos por una variedad de métodos incluyendo la fusión de hibridomas o el enlace de fragmentos Fab'. (Referirse a, por ejemplo, Songsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990); Kostelny et al., J. Immunol. 148, 1547-1553 (1992).).

[0016] El “enlace específico” de un anticuerpo significa que el anticuerpo exhibe una afinidad apreciable para un antígeno o un epítopo preferido y, preferiblemente, no exhibe una reactividad transversal significativa. Un enlace apreciable o preferido incluye el enlace con una afinidad de por lo menos 10⁶, 10⁷, 10⁸, 10⁹ M-1, o 10¹⁰ M-1. Afinidades mayores a 10⁷ M-1, preferiblemente mayores a 10⁸ M-1. Valores intermedios de aquellos aquí

establecidos tiene la intención de estar dentro del alcance de este invento y una afinidad de enlace preferida puede ser indicada como un rango de afinidades, por ejemplo, 106 a 1010 M-1, preferiblemente 107 a 1010 M-1, más preferiblemente 108 a 1010 M-1. Un anticuerpo que “no exhibe reactividad transversal significativa” es uno que no se enlaza apreciablemente a una entidad no deseable (por ejemplo, una entidad proteínica no deseable). Por ejemplo, un anticuerpo que enlaza específicamente a A β enlazará apreciablemente a A β pero no reaccionará significativamente con proteínas o péptidos que no sean A β (por ejemplo, las proteínas o péptidos no A β incluidos en placas). Un anticuerpo específico para un epítipo preferido, por ejemplo, no reaccionará de una forma significativa transversalmente con epítopos remotos en la misma proteína o péptido. Un enlace específico puede ser determinado de acuerdo a cualquier medio reconocido en la industria para determinar aquel enlace. Preferiblemente, el enlace específico es determinado de acuerdo al análisis Scatchard y/o ensayos de enlaces competitivos.

[0017] El término “inmunoglobulina humanizada” o “anticuerpo humanizado” se refiere a una inmunoglobulina o anticuerpo que incluye por lo menos una cadena de inmunoglobulina o anticuerpo humanizada (es decir, por lo menos una cadena humanizada ligera o pesada). El término “cadena de inmunoglobulina humanizada” o “cadena de anticuerpos humanizada” (es decir, una “cadena ligera de inmunoglobulina humanizada” o “cadena pesada de inmunoglobulina humanizada”) se refiere a una cadena de inmunoglobulina o anticuerpo (es decir, una cadena ligera o pesada, respectivamente) que tiene una región variable que incluye una región variable de marco de trabajo (también conocida como un marco de trabajo de región variable (sustancialmente de una inmunoglobulina o anticuerpo humano y regiones de determinación complementarias (CDRs - complementarity determining regions) (es decir, por lo menos un CDR, preferiblemente por lo menos dos CDRs, y más preferiblemente por lo menos 3 CDRs) sustancialmente de una inmunoglobulina o anticuerpo no humano (por ejemplo, roedor y opcionalmente, un ratón), y además incluye regiones constantes (por ejemplo, por lo menos una región constante o su porción, en el caso de una cadena ligera, y preferiblemente tres regiones constantes en el caso de una cadena pesada. El término “región variable humanizada” (por ejemplo, “región variable de cadenas ligeras humanizada” o “región variable de cadenas pesadas humanizada”) se refiere a una región variable que incluye una región de marco de trabajo variable (también denominado como un marco de trabajo de región variable) sustancialmente de una inmunoglobulina o anticuerpo humano y regiones determinantes complementarias (CDRs) sustancialmente de una inmunoglobulina o anticuerpo no humano.

[0018] La frase “sustancialmente de una inmunoglobulina o anticuerpo humanos” o “sustancialmente humano” significa que, cuando se alinea a una inmunoglobulina o secuencia de aminoácidos de anticuerpos humanos para propósitos de comparación, la región comparte por lo menos de un 80-90% (por ejemplo, por lo menos el 90%), preferiblemente de un 90-95%, más preferiblemente de un 95-99% de identidad (es decir, la identidad secuencial local) con la secuencia del marco de trabajo o región constante humanas, permitiendo, por ejemplo, sustituciones conservadoras, sustituciones secuenciales de consenso, sustituciones germinales, retro mutaciones, y similares. La introducción de sustituciones conservadoras, sustituciones secuenciales de consenso, sustituciones germinales, retro mutaciones y similares, se denomina a menudo como “optimización” de un anticuerpo o cadena humanizados. La frase “sustancialmente de una inmunoglobulina o anticuerpos no humanos” o “sustancialmente no humano” significa el tener una secuencia de inmunoglobulina o anticuerpos de por lo -80-95%, preferiblemente 90-95%, y más preferiblemente, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a aquella de un organismo no humano, por ejemplo, un mamífero no humano.

[0019] Asimismo, todas las regiones o residuos de una inmunoglobulina o anticuerpo humanizados, o de una cadena de inmunoglobulina o anticuerpo humanizados, excepto posiblemente los CDRs, son sustancialmente idénticos a las regiones o residuos correspondientes de una o más secuencias de inmunoglobulinas humanas naturales. El término “región correspondiente” o “residuos correspondientes” se refiere a una región o residuo en una segunda secuencia de aminoácidos o nucleótidos que ocupa la misma (es decir, equivalente) posición que una región o residuo en una primera secuencia de aminoácidos o nucleótidos, cuando la primera y segunda secuencias son alineadas óptimamente para propósitos de comparación.

[0020] Los términos “inmunoglobulina humanizada” o “anticuerpo humanizado” no tienen el propósito de abarcar inmunoglobulinas o anticuerpos genéricos, tal como se define más adelante. Aunque las inmunoglobulinas o anticuerpos humanizados son quiméricos en su construcción (es decir, comprenden regiones para más de una especie de proteína), estas incluyen características adicionales (es decir, regiones variables que comprenden residuos CDR donantes y residuos del marco de trabajo aceptadores) que no se encuentran en las inmunoglobulinas o anticuerpos quiméricos, tal como se define en este documento.

[0021] El término “inmunoglobulina quimérica” o anticuerpo se refiere a una uno globulina o anticuerpo cuyas regiones variables se derivan de una primera especie y cuyas regiones constantes se derivan de una segunda especie. Las inmunoglobulinas o anticuerpos quiméricos pueden ser construidos, por ejemplo por medio de ingeniería genética, de segmentos genéticos de inmunoglobulina que pertenecen a diferentes especies.

[0022] Un “antígeno” es una entidad (por ejemplo, una entidad o péptido proteínico) a la cual un anticuerpo se enlaza específicamente.

[0023] El término “epítipo” o “determinante antigénico” se refiere a un lugar en un antígeno al cual una

inmunoglobulina o anticuerpo (o su fragmento que se vincula con un antígeno) se enlaza específicamente. Los epítopes pueden ser formados de aminoácidos contiguos o aminoácidos no contiguos yuxtapuestos por el pliegue terciario de una proteína. Los epítopes formados de aminoácidos contiguos son retenidos comúnmente cuando se exponen a solventes desnaturizantes donde los epítopes formados por un pliegue terciario se pierden típicamente en el tratamiento con solventes desnaturizantes. Un epítope incluye típicamente por lo menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 aminoácidos en una conformación espacial única. Métodos para determinar la conformación espacial de epítopes incluyen, por ejemplo, cristalografía de rayos X y resonancia magnética nuclear de dos dimensiones. Refiérase, por ejemplo, a Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology (Protocolos de Elaboración de Mapas de Epítopes en Métodos de Biología Molecular), Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996).

[0024] Los anticuerpos que reconocen el mismo epítope pueden identificarse en un inmuno ensayo simple que muestra la capacidad de un anticuerpo para bloquear el enlace de otro anticuerpo a un antígeno objetivo, es decir, un ensayo de enlace competitivo. Enlaces competitivos son determinados en un ensayo en el cual la inmunoglobulina que está siendo probada inhibe enlaces específicos de un anticuerpo referencial a un antígeno común, tal como A β . Muchos tipos de ensayos de enlaces competitivos son conocidos, por ejemplo: ensayos radioinmunológicos directos o indirectos de fase sólida (RIA - radioimmunoassay), ensayos inmunológicos enzimáticos directos o indirectos de fase sólida (EIA - enzyme immunoassay), ensayos competitivos tipo emparedado (refiérase a Stahli et al., Methods in Enzymology (Métodos en Enzimología) 9:242 (1983)); EIA de biotina-avidina directo en fase sólida (refiérase a Kirkland et al., J. Immunol. 137:3614 (1986)); ensayo marcado directo de fase sólida, ensayo tipo emparedado marcado directo de fase sólida (refiérase a Harlow y Lane, Antibodies: A Laboratory Manual (Anticuerpos: Un Manual de Laboratorio), Cold Spring Harbor Press (1988)); RIA de marcación directa de fase sólida utilizando la marcación I-125 (refiérase a Morel et al., Mol. Immunol. 25(1):7 (1988)); EIA de biotina-avidina directo de fase sólida (Cheung et al., Virology (Virología) 176:546 (1990)); y RIA marcada directa (Moldenhauer et al., Scand. J. Immunol. 32:77 (1990)). Comúnmente, un ensayo como esos involucra la utilización de un antígeno purificado enlazado a una superficie sólida o células que tengan uno de estos, una inmunoglobulina de prueba no marcada y una inmunoglobulina referencial marcada. La inhibición competitiva es medida al determinar el monto de enlaces marcados a la superficie sólida o las células en la presencia de la inmunoglobulina de prueba. Usualmente la inmunoglobulina de prueba está presente en exceso. Usualmente, cuando un anticuerpo competitivo está presente en exceso, inhibirá enlaces específicos de un anticuerpo referencial a un antígeno común por al menos 50-55%, 55-60%, 60-65%, 65-70% 70-75% o más.

[0025] Un epítope también es reconocido por células inmunológicas, por ejemplo, células B y/o T. El reconocimiento celular de un epítope puede determinarse por medio de ensayos in vitro que miden la proliferación dependiente de antígenos, tal como se determina por la incorporación de 3H-timidina, por medio de la secreción de citoquinas, por medio de la secreción de anticuerpos o por medio de la eliminación dependiente de antígenos (ensayo de linfocitos citotóxicos T).

[0026] Ejemplos de epítopes o determinantes antígenos pueden encontrarse dentro de la proteína precursora de amiloides humana (APP), pero se encuentra preferiblemente dentro del péptido A β de APP. Varias isoformas de APP existen, por ejemplo, APP695, APP751 y APP770. Aminoácidos dentro de APP son asignados números de acuerdo a la secuencia de la isoforma APP770 (refiérase a, por ejemplo, el Acceso del Banco Genético Número P05067). Las secuencias de péptidos de A β y su relación al precursor de APP se ilustran por medio de la figura 1 de Hardy et al., TINS 20, 155-158 (1997). Por ejemplo, A β 42 tiene la secuencia:

H₂N-Asp-Ala-Glu-Phe-Arg-His-Asp-Ser-Gly-Tyr-Glu-Val-His-His-Gln-Lys-
 Leu-Val-Phe-Phe-Ala-Glu-Asp-Val-Gly-Ser-Asn-Lys-Gly-Ala-Ile-Ile-Gly-
 Leu-Met-Val-Gly-Gly-Val-Val-Ile-Ala-OH (SEC ID NO: 1)

[0027] A menos que sea aparente lo contrario a partir del contexto, cualquier referencia a A β también incluye variaciones alélicas naturales de la secuencia que se acaba de mostrar, particularmente aquellas asociadas con enfermedades hereditarias, tales como la mutación ártica, numeración E693G, APP 770. A β 41, A β 40 y A β 39 se diferencian de A β 42 por la presencia de un residuo de treonina en la terminal C. Epítopes o determinantes antígenos preferidos, tal como se describen aquí, están ubicados dentro de la terminal N del péptido A β e incluyen residuos dentro de los aminoácidos 1-11 de A β , preferiblemente de los residuos 1-10, 1-3, 1-4, 1-5, 1-6, 1-7 o 3-7 de A β 42. Epítopes o determinantes antígenos preferidos adicionales incluyen a los residuos 2-4, 5, 6, 7 u 8 de A β , o a los residuos 3-5, 6, 7, 8 o 9 de A β , o a los residuos 4-7, 8, 9 o 10 de A β 42. Otros epítopes preferidos ocurren dentro de las regiones central o de la terminal de C tal como se describe más adelante.

[0028] Un epítope o de la terminal N de A β significa un epítope con residuos 1 – 11. Un epítope dentro de una región de la terminal C significa un epítope dentro de los residuos 29-43, y un epítope dentro de una región central significa un epítope con los residuos 12-28.

[0029] A β “soluble” o “disociado” se refiere a un polipéptido A β no aglutinado o desglosado.

5 [0030] A β “insoluble” se refiere a un polipéptido A β de aglutinamiento, por ejemplo, A β que se mantiene junto por enlaces no covalentes. Se cree que A β (por ejemplo, A β 42) aglutina, por lo menos en parte, debido a la presencia de residuos hidrofóbicos en la terminal C del péptido (parte del dominio de la transmembrana de la APP). Un método para preparar un A β soluble es disolver un péptido liofilizado en un DMSO ordenado con sonicación. La solución resultante es centrifugada para remover cualquier partícula insoluble.

10 [0031] El término “región Fc” se refiere a una región del terminal C en un anticuerpo IgG, en particular, la región de la terminal C de la cadena o cadenas pesadas de aquel anticuerpo IgG. Aunque los límites de la región Fc de una cadena pesada IgG puede variar ligeramente, una región Fc es definida típicamente como que abarca desde cerca del residuo de aminoácidos Cys226 al terminal de carboxílicos de una cadena o cadenas pesadas de IgG.

15 [0032] El término “función ejecutora” se refiere a una actividad que reside en la región Fc de un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo IgG) e incluye, por ejemplo, la habilidad del anticuerpo para enlazar moléculas ejecutoras tales como receptores complementarios y/o Fc, que pueden controlar varias funciones inmunológicas del anticuerpo tales como una actividad celular del ejecutor, la lisis, la actividad mediada por un complemento, el despeje de anticuerpos y la vida media del anticuerpo. La función ejecutora también puede ser influenciada por mutaciones de la región de la charnela.

20 [0033] El término “molécula ejecutora” se refiere a una molécula que es capaz de enlazarse a la región Fc de un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo IgG) incluyendo una proteína complementaria de un receptor Fc.

25 [0034] El término “célula ejecutora” se refiere a una célula capaz de enlazarse a la porción Fc de un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo IgG) comúnmente por medio de un receptor Fc en la superficie de la célula ejecutora incluyendo, pero sin limitarse a, linfocitos, por ejemplo, células que tienen antígenos y células T.

30 [0035] El término “numeración Kabat” a menos que se mencione de otra forma, se define como la numeración de residuos tal como se menciona en Kabat et al. (Sequences of Proteins of Immunological Interest-Secuencias de Proteínas de Interés Inmunológico, 5ta Ed. Public Health Service, National Institutes of Health (Servicio de Salud Pública, Institutos Nacionales de Salud), Bethesda, Md. (1991)).

35 [0036] El término “receptor Fc” o “FcR (Fc receptor)” se refiere a un receptor que se enlaza a la región Fc de un anticuerpo. Los receptores típicos Fc que se enlazan a una región Fc de un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo IgG) incluyen, pero no se limitan a, receptores de las sub clases Fc γ RI, Fc γ RII, y Fc γ RIII, incluyendo variantes alélicas y formas divididas alternamente de estos receptores. Los receptores Fc son revisados en Ravetch y Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991); Capel et al., Immunomethods (Métodos inmunológicos) 4:25-34 (1994); y de Haas et al., J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995).

40 [0037] El término “auxiliar” se refiere a un compuesto que cuando se administra en conjunto con un antígeno aumenta y/o redirecciona la respuesta inmunológica del antígeno, pero cuando se lo administra sólo no genera una respuesta inmunológica del antígeno. Los auxiliares pueden aumentar una respuesta inmunológica mediante algunos mecanismos que incluyen reclutamiento de linfocitos, estimulación de células B y/o T y la estimulación de macrófagos.

45 [0038] El área bajo la curva (AUC - area under the curve) es el área bajo la curva en un gráfico de la concentración de un medicamento en el plasma al paso del tiempo. En un paciente individual, el área bajo la curva representa la el área bajo la curva basándose en ese paciente. En una población de pacientes, el área bajo la curva representa el área bajo la curva media para el intervalo de tiempo comparable de pacientes diferentes en la población.

50 [0039] La concentración sérica media en un paciente individual representa la concentración media de un anticuerpo (o anticuerpos inducidos para reactivos) durante un período de tiempo. La concentración sérica media en una población de pacientes representa la media de las concentraciones séricas medias de los pacientes individuales durante períodos comparables de tiempo.

55 [0040] La concentración sérica máxima en un paciente individual representa la concentración máxima de un anticuerpo (o anticuerpos inducidos para un reactivo) durante el transcurso del tratamiento. La concentración sérica máxima en una población de individuos representa la media de las concentraciones máximas del anticuerpo o anticuerpos inducidos entre los individuos en la población.

60 [0041] Por brevedad, el término “portador ApoE4” es utilizado a veces para referirse a pacientes que tienen uno o dos alelos ApoE4 y “no portador de ApoE4”, “no-portador de ApoE4” o “portador no-ApoE4” para referirse a pacientes que tienen cero alelos ApoE4.

65 DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL INVENTO

I. General

[0042] La presentación suministra métodos de inmunoterapia de la enfermedad de Alzheimer y otras enfermedades similares en los cuales el régimen administrado a un paciente depende del genotipo de ApoE del paciente. Los métodos se basan en parte en (1) la observación que ciertos regímenes de inmunoterapia conllevan a instancias más altas en la aparición de edemas vasogénicos (VE - vasogenic edema) en pacientes que tienen un alelo ApoE4 (E4) que en los pacientes que no tienen un alelo E4, y más frecuentemente todavía en pacientes que tienen dos alelos E4 y/o (2) la observación inicial de eficacia diferencial en pacientes portadores de ApoE4 en comparación con pacientes que no son portadores de ApoE4 o pacientes que reciben por lo menos 6 dosis en comparación a pacientes que reciben menos de seis dosis. Los resultados también muestran que la frecuencia de casos de edemas vasogénicos se incrementa con la frecuencia y monto de las dosis.

[0043] Aunque la práctica del invento no depende de la comprensión del mecanismo, se tiene la hipótesis que la asociación del edema vasogénico con un genotipo ApoE4 podría resultar de una disposición más grande de depósitos A β y por lo tanto una inducción a una respuesta de despeje mayor cuando anticuerpos se enlazan a los depósitos. El despeje de depósitos de amiloides puede conllevar a un edema vasogénico por cualquier otro o varios mecanismos. La remoción de amiloides de las paredes de los vasos sanguíneos (amiloides vasculares) podrían causar fugas de los vasos sanguíneos; más amiloides en el espacio perivascular podrían causar un drenaje más lento del fluido intersticial, y/o un flujo neto incrementado de amiloides de compartimientos intravasculares a la parénquima cerebral podría conllevar agravantes osmóticos. Aunque el efecto de edema vasogénico usualmente es asintomático y reversible y no imposibilita más tratamientos, es deseable, sin embargo, ajustar el régimen terapéutico para reducir el riesgo de que ocurran edemas vasogénicos.

[0044] La presentación suministra por lo tanto métodos en los cuales el régimen de terapia inmunológica es variado, por ejemplo, para ajustar la respuesta fagocítica, dependiendo en el estado ApoE del paciente. Aunque la respuesta fagocítica es útil para despejar depósitos de amiloides, la respuesta, puede ser controlada opcionalmente para evitar edemas vasogénicos. En general, los pacientes que tienen dos alelos E4, son más susceptibles para un edema vasogénico se les administra una dosis más baja o menos frecuentemente el mismo reactivo que para pacientes que tienen cero alelos E4, o se les administra un reactivo diferente que es menos propenso para inducir una respuesta fagocítica o recibir el reactivo por medio de una modalidad diferente de administración, tal como, por ejemplo, una administración subcutánea. Los pacientes con un alelo E4 pueden ser tratados de igual forma que los pacientes con cero o dos alelos E4 o el tratamiento puede ser personalizado para ellos en el cual la dosis y/o frecuencia de administración es intermedia entre aquella administrada a pacientes con cero o dos alelos ApoE4.

II. APOE

[0045] ApoE humano tiene el acceso de registro de UniProtKB/Swiss-Prot P02649. Las variantes E2, E3 y E4 se describen en Genomics (Genómica) 3:373-379(1988), J. Biol. Chem. 259:5495-5499 (1984); y Proc. Natl. Acad. Sci. Estados Unidos 82:3445-3449(1985). La asociación de la forma de E4 con un inicio tardío de la enfermedad de Alzheimer ha sido reportada por, por ejemplo, Corder, Science (Ciencia) 261, 921-3 (1993); Farrer, JAMA, 278, 1349-56 (1997); y Saunders, Neurology 43 (Neurología 43), 1467-72 (1993). Las formas alélicas presentes en cualquier individuo pueden determinarse por medio de muchas técnicas convencionales, tales como secuenciaciones directas, el uso de agrupaciones de GeneChip® o similares, sondas específicas de alelos, métodos de extensión de base sencilla, extensión específica alélica. Las formas alélicas también puede determinarse a nivel proteínico por medio de ELISA usando anticuerpos específicos para diferentes productos de expresión alélica. Botiquines para análisis genéticos e inmunológicos están disponibles comercialmente (por ejemplo, Innogenetics, Inc.; Graceful Earth, Inc.). La determinación de formas alélicas son hechas usualmente in vitro, eso es, en muestras removidas y nunca regresadas a un paciente.

III. Diferentes estrategias para tratar o monitorear dependiendo de los ApoE.

A. Diferentes regímenes de tratamiento

[0046] Algunos regímenes de inmunoterapia para enfermedades de Alzheimer y otras han sido asociadas con edemas vasogénicos (VE - vasogenic edema) en el cerebro de algunos pacientes. Generalmente, la incidencia de VE es mayor en portadores ApoE4 que en no portadores ApoE4 y en pacientes que reciben dosis más altas de ciertos reactivos en ciertos regímenes de inmunoterapia. VE ha sido observado en la toma de imágenes con resonancias magnéticas (MRI - magnetic resonance imaging) como intensidades de señales altas en la secuencia de recuperación de inversión atenuada por fluidos (FLAIR - fluid-attenuated inversion recovery) que involucra anomalías cerebrales e hinchazón de giros cerebrales. Se observa generalmente a VE después de la primera o segunda administración del reactivo inmuno terapéutico, aunque también ha sido observada después de la tercera o cuarta administración. La mayoría de pacientes a los que se les descubrió VE son asintomáticos. VE tiene una presentación heterogénea, y los hallazgos de MRI en un paciente en particular pueden variar al pasar el tiempo. La hinchazón de giros cerebrales y en cierta magnitud, los cambios de resonancia magnética (MR - magnetic resonance) más grandes vistos en FLAIR diferencian al VE de los cambios de la materia blanca que se observa comúnmente en FLAIR en pacientes con enfermedades normales seniles y de Alzheimer (Hentschel et al., 2005; de

Leeuw et al. 2001).

5 [0047] El edema vasogénico (VE) es caracterizado por un incremento en el volumen de fluido extracelular debido a la permeabilidad incrementada de las células endoteliales capilares proteínicas séricas macro moleculares (por ejemplo, albúmina). VE puede ser el resultado de una permeabilidad capilar cerebral incrementada. Los síntomas clínicos observados en pacientes con VE, cuando éstos existen, son variados y a la fecha han sido de una naturaleza muy moderada. De los casos de VE observados en MRIs programados regularmente, la mayoría de pacientes son asintomáticos. Las observaciones clínicas asociadas con los casos sintomáticos de VE han incluido estados mentales alterados (por ejemplo, una confusión incrementada, letargia, desorientación y alucinaciones) vómitos, dolores de cabeza, dificultades para andar, perturbaciones visuales, fatiga, irritabilidad, ataxia, un apetito reducido y diarrea.

15 [0048] Tal como se resumió anteriormente, la presentación suministra regímenes de tratamiento diferentes dependiendo si el paciente tiene 0, 1 o dos alelos E4. Por lo tanto, en una población de individuos tratados, aquellos que tienen cero alelos E4 pueden ser tratados de forma diferente a los que tienen dos alelos. Aquellos que tienen un alelo E4 pueden ser tratados de forma diferente (en una forma en media) a aquellos con cero o dos alelos E4 o pueden ser agrupados con individuos que tienen cero o dos alelos E4 en cualquiera de los regímenes que se explican más adelante. Los individuos que tienen un alelo E4 pueden ser tratados diferentemente que los individuos con cero alelos y/o los individuos con dos alelos ApoE4 pueden ser tratados muy diferentemente que los individuos con un alelo ApoE4. Experiencia actual con algunos agentes inmunoterapéuticos sugiere que VEs tienen más posibilidad de ocurrir con dosis mucho mayores a los 5 mg/kilogramo (refiérase a PCT/US07/09499).

25 [0049] En algunos métodos, el estado de ApoE4 es el único marcador genético que determina los diferentes regímenes de tratamiento en diferentes pacientes. En otros métodos, los regímenes de tratamiento diferenciales pueden basarse en ApoE4 en combinación con otros marcadores genéticos asociados con la susceptibilidad o resistencia de la enfermedad de Alzheimer.

30 [0050] Una población de individuos tratados opcionalmente tiene un número total suficiente de pacientes y números suficientes de su poblaciones con números diferentes de alelos ApoE4 que una asociación entre diferentes regímenes de tratamiento y diferentes alelos ApoE4 pueden ser vistos en relación a una asignación aleatoria de los diferentes regímenes con una coincidencia estadística de por lo menos un 95%. Por ejemplo, la población tratada puede consistir de por lo menos 100, 500 o 1000 individuos de los cuales el 10-70% y más típicamente del 30-50% tienen por lo menos un alelo ApoE4. Una población tratada también puede (es decir, opcionalmente) ser reconocida como la población total tratada con un medicamento particular producido por un fabricante particular.

35 [0051] En algunos métodos, como se menciona en mayor detalle más adelante, individuos que tienen cero alelos ApoE4 se les administra un reactivo en un régimen diseñado para lograr eficacia tal como se evaluó desde uno o más puntos finales clínicos, tal como, por ejemplo, medidas cognitivas (por ejemplo, ADAS-cog, NTB, DAD, MMSE, CDR-SB, NPI), biomarcadores (por ejemplo, CSF tau) y volumen cerebral (por ejemplo, BBSI, VBSI), así como otros parámetros, tales como por ejemplo seguridad, farmacocinética y farmacodinámica deseadas. En algunos métodos, uno o dos alelos E4 son administrados con una dosis y/o frecuencia reducidas del mismo reactivo que los individuos con cero alelos E4. Un objetivo de tal método es el entregar una concentración sérica media reducida del reactivo durante un período de tiempo (un área reducida bajo la curva) y/o para reducir la concentración pico máxima. Esto puede ser logrado, por ejemplo, al reducir la dosis y administrar con la misma frecuencia, o reducir la frecuencia y administrar la misma dosis o administrando una dosis y frecuencia reducidas. Si la dosis es reducida pero la frecuencia se mantiene constante, la dosis es usualmente reducida entre el 10-90%, a menudo alrededor del 30-75% o 40-60%. Si la frecuencia es reducida, pero la dosis se mantiene constante, entonces la frecuencia es reducida típicamente entre 2 y 5 veces. A veces, la frecuencia es reducida al omitir simplemente una dosis ocasional o dos dosis consecutivas del régimen administrado al paciente con cero alelos ApoE4. Aquellas dosis, pueden, por ejemplo, ser omitidas durante el período en el que un paciente está experimentando edema vasogénica.

55 [0052] En otros métodos, individuos que tienen uno o dos alelos E4 se les administra una dosis reducida del reactivo con una frecuencia incrementada en relación con los individuos que tienen cero alelos E4. Por ejemplo, la dosis puede ser reducida a la mitad y la frecuencia puede ser doblada. En aquellos métodos, el medicamento total entregado a las dos sub poblaciones a lo largo del tiempo (es decir, el área bajo la curva) puede ser la misma que dentro del error experimental, pero la concentración máxima de plasma es menor en individuos que tienen dos alelos E4. Por ejemplo, en pacientes que tienen uno o dos alelos E4 la concentración sérica máxima de anticuerpos es preferiblemente por debajo de los 14 µg/mililitros y para los pacientes que llenen cero alelos, la concentración sérica máxima de anticuerpos es preferiblemente por debajo de los 28 µg/mililitros.

60 [0053] En otros métodos, el tratamiento es administrado durante diferentes etapas en relación a la progresión de la enfermedad dependiendo del estado de ApoE4. En aquellos métodos, el tratamiento es administrado en una forma más temprana en pacientes que tienen dos alelos ApoE4 en relación a los pacientes que tienen cero alelos ApoE4 o en pacientes que tienen un alelo ApoE4 en relación a los pacientes que tienen cero alelos ApoE4 y/o en pacientes que tienen dos alelos ApoE4 en relación a los pacientes que tienen un alelo ApoE4. El progreso de la enfermedad puede ser medido por, por ejemplo, la escala MMS en la cual un puntaje de 27 a 20 es considerado normal, y de 20-

26 es considerado moderado de Alzheimer. Por lo tanto, por ejemplo, el puntaje MMSE medio en no portadores de ApoE4 al inicio del tratamiento puede ser más alto que para los portadores de ApoE4 (pacientes con uno o dos alelos ApoE4). Opcionalmente, el tratamiento de los portadores ApoE4 puede ser iniciado profilácticamente antes de que los síntomas clínicos sean evidentes. Aquellos pacientes pueden ser identificados por medio de exámenes de las poblaciones en búsqueda del estado de ApoE4. El tratamiento puede ser iniciado al detectar aquel estado o subsiguientemente cuando el paciente alcanza cierta edad (por ejemplo, 55, 60 o 65 años) cuando existe un riesgo alto de desarrollar Alzheimer. Aunque la comprensión del mecanismo no es requerida para practicar aquellos métodos, se cree que un tratamiento temprano de los portadores de ApoE4 puede ser beneficioso porque los alelos ApoE4 que reducen la capacidad para reparar daños neuronales y/o porque la deposición de A β es mayor en aquellos pacientes.

[0054] En algunos métodos, el tratamiento es administrado por medio de una ruta diferente en pacientes que tienen cero alelos ApoE4 y pacientes que tienen un alelo ApoE4 y/o pacientes que tienen dos alelos ApoE4. Por ejemplo, el tratamiento puede ser administrado en forma intravenosa en pacientes que tienen cero alelos ApoE4 y en forma subcutánea en pacientes que tienen uno o dos alelos. La dosis es típicamente mayor y/o la frecuencia de administración es menor en aquellos pacientes no portadores de ApoE4 en relación a los pacientes portadores de ApoE4.

[0055] En algunos métodos, una respuesta positiva de tratamiento (es decir, la inhibición de la declinación cognitiva o la inhibición de la declinación del volumen cerebral) toma más tiempo para desarrollarse en portadores ApoE4 que en no portadores. El tiempo mayor podría reflejar una capacidad reducida para la reparación neuronal y/o una mayor carga de amiloides en aquellos pacientes; y/o el uso de un régimen de tratamiento menos potente. En aquellos métodos, el tratamiento puede ser administrado durante por lo menos un año y opcionalmente durante por lo menos 2, 3 o cuatro años antes de detener el tratamiento por una falta de efecto. En algunos métodos, el tratamiento es administrado durante por lo menos 6 administraciones trimestrales.

[0056] Tal como se mencionó, los reactivos son suministrados a veces con un marcador que contraindica a su utilización en portadores ApoE4. Tales reactivos pueden ser utilizados en métodos de tratamientos en los cuales solamente los no portadores de ApoE4 reciben un reactivo del invento (es decir, un anticuerpo que enlaza a A β o un reactivo que induce a aquel anticuerpo). En aquellos métodos los portadores ApoE4 no reciben un anticuerpo que enlaza a A β o un reactivo que induce a aquel anticuerpo pero pueden recibir otros tratamientos tales como memantina.

[0057] Los métodos en los cuales la dosis y/o la frecuencia de administración son reducidos dependiendo en ApoE4 son más útiles para reactivos que inician una respuesta de despeje en contra de los depósitos de amiloides. En general, aquellos agentes son anticuerpos que se enlazan a un epítipo dentro de A β 1-11, y que tienen una región Fc, o fragmentos de A β , que inducen a aquellos anticuerpos (es decir, contienen un epítipo dentro de A β 1-11.). Los anticuerpos que enlazan a epítopes dentro de las regiones central o de la terminal C de A β usualmente se enlazan predominantemente a formas solubles de A β en vez de depósitos de amiloides, y por lo tanto inician una pequeña o inexistente respuesta de despeje en contra de los depósitos amiloides, particularmente en los depósitos densos o vasculares.

[0058] Ejemplos de rangos y frecuencias de dosis adecuadas para la administración se suministran más adelante. Diferentes dosis y/o frecuencias de administración para pacientes con estados E4 diferentes pueden seleccionarse dentro de aquellos rangos de dosis y frecuencia. Por ejemplo, los pacientes con uno o dos alelos E4 se les puede administrar una dosis de 0.1 a 1 miligramo/kilogramo de anticuerpos por medio de infusión intravenosa cada 13 semanas, y pacientes con cero alelos E4 se les puede administrar una dosis de 1 a 2 miligramos/kilogramos cada 13 semanas. Opcionalmente, los pacientes con dos alelos E4 se les puede administrar una dosis de 0.15 a 0.5 mg/kilogramos, los pacientes con un alelo E4 se les puede administrar una dosis de 0.15 a 1 miligramo/kilogramo (por ejemplo, 0.5 a 1 miligramo/kilogramo) y pacientes con cero alelos E4 se les administra una dosis de 0.15-2 miligramos/kilogramos (por ejemplo, 1-2 miligramos/kilogramos) cada 13 semanas. En un régimen importante, los pacientes con uno o dos alelos E4 se les administra una dosis de 0.5 miligramos/kilogramos de un anticuerpo que se enlaza con un epítipo dentro de los residuos 1-11 de A β (por ejemplo, bapineuzumab) y pacientes con cero alelos E4 una dosis de 2 miligramos/kilogramo. Las dosis se administran de forma intravenosa en intervalos de cuartos hasta que aparezca el edema vasogénico (si apareciese). Después de que aparezca el edema vasogénico, la siguiente dosis no se administra y después de eso, los pacientes regresan a la programación de dosis en cuartos a una dosis más baja de 0.15 miligramos/kilogramo. Si el edema vasogénico aparece nuevamente el tratamiento puede ser terminado. Los pacientes con cero alelos E4 se les administra una dosis de 0.5-2 miligramos/kilogramos, con pacientes individuales con cero alelos E4 que reciban opcionalmente dosis de 0.5 miligramos/kilogramos, 1.0 miligramos/kilogramos, 1.5 miligramos/kilogramos y 2.0 miligramos/kilogramo.

[0059] En otro ejemplo, los pacientes con dos alelos E4 se les da una primera dosis de 0.5 miligramos/kilogramos, y dosis subsiguientes de 1 mg/kilogramo. Alternativamente, los pacientes con dos alelos E4 se les da una primera dosis de 0.5 miligramos/kilogramo, segunda y tercera dosis de 1 mg/kilogramo y dosis subsiguientes de 2.0 miligramos/kilogramo.

- 5 [0060] En otro ejemplo, pacientes con cero alelos E4 se les puede administrar una dosis de 0.015-0.2 miligramos/kilogramo de anticuerpos en forma subcutánea una vez a la semana y los pacientes con dos alelos E4 se les puede administrar la misma dosis cada dos semanas. Regímenes equivalentes a lo que se acaba de mencionar pueden ser ideados variando el monto, la frecuencia o la ruta de administración para entregar la misma área bajo la curva (es decir, la dosis media integrada con el tiempo) de anticuerpos al suero.
- 10 [0061] En algunos métodos, a los pacientes con uno o dos alelos E4 se les administra un reactivo para lograr concentraciones séricas con medias más bajas del anticuerpo a lo largo del tiempo que a los pacientes con cero alelos E4. La concentración sérica media más baja se mantiene durante un período de tiempo de por lo menos uno a tres meses, y usualmente tres meses a un año, o indefinidamente. La concentración sérica media de todos aquellos pacientes esta preferiblemente dentro del rango de 2-7 microgramos anticuerpos/mililitros del suero con aquella para los pacientes con uno o dos alelos E4 siendo más baja que aquella para los pacientes con cero alelos E4. Por ejemplo, pacientes con cero alelos E4 se les puede administrar para lograr una concentración sérica media de anticuerpos dentro de un rango de 4.5-7 microgramos de anticuerpo/mililitro y pacientes con uno o dos alelos E4 se les puede administrar un reactivo para alcanzar una concentración sérica media en el rango de 2-4.5 microgramos de anticuerpo/mililitro.
- 15 [0062] En aquellos métodos, los individuos dentro de cualquier sub población definida por la presencia de 2, 1 o cero alelos E4 se les administra usualmente el mismo régimen. Sin embargo, el régimen también puede ser personalizado para individuos dentro de una sub población. En este caso, la dosis media y/o frecuencia y/o concentración sérica promedio y/o concentración máxima de reactivos o anticuerpos inducidos por el reactivo en una sub concentración de individuos con dos alelos E4 es menor que aquella de individuos que tienen cero alelos E4.
- 20 [0063] En algunos métodos, un reactivo diferente es administrado a individuos con dos alelos E4 que a individuos con cero alelos E4. Los reactivos diferentes usualmente difieren en su capacidad para inducir una respuesta de despeje en contra de los depósitos de amiloides (es decir, los depósitos preexistentes). Tal capacidad puede ser probada, por ejemplo, mediante un ensayo de despeje ex vivo tal como se describe por US 6,750,324. En breve, un anticuerpo y células micro gliales son incubadas con un depósito de alelos y los de un paciente de Alzheimer fallecido o un modelo de ratón transgénico, y la reacción de despeje es monitoreada utilizando un anticuerpo marcado a A β . La capacidad de despeje de reactivos puede ser probada asimismo utilizando sueros inducidos por el reactivo como una fuente de anticuerpos para el ensayo. La capacidad de despeje de reactivos pasivos y activos también puede ser evaluada en un modelo de ratón transgénico tal como se describe en US 6,750,324 o en un paciente humano por medio de un monitoreo MRI. Opcionalmente, la respuesta de despeje es medida en un ensayo que distingue entre depósitos de amiloides compactos y difusos. Las diferencias en la capacidad de despeje de algunos anticuerpos es más evidente o es únicamente evidente cuando la comparación es hecha en referencia a la capacidad de despeje de depósitos de amiloides compactos. Opcionalmente, la respuesta de despeje es evaluada a partir de una reducción en el despeje de amiloides vasculares de un anticuerpo dado en relación a un anticuerpo emparejado que de otra forma sería idéntico con un isotipo. Un despeje de amiloides vasculares puede ser evaluado por medio de diferencias significativas estadísticas entre poblaciones de modelos animales o de pacientes humanos tratados con un anticuerpo mutado y un anticuerpo emparejado que de otra forma (sin las mutaciones) sería idéntico con un isotipo.
- 25 [0064] Adicionalmente o alternamente a los ensayos que miden una respuesta de despeje, algunos anticuerpos adecuados para su utilización en los métodos del invento pueden ser reconocidos por un enlace reducido a los receptores C1q y/o Fc γ . La capacidad de enlazar a los receptores C1q y/o Fc γ puede ser reducida por mutaciones cerca de la región de charnela de una cadena pesada tal como se menciona en mayor detalle más adelante. La capacidad reducida puede ser determinada, por ejemplo, al comparar un anticuerpo mutado con un anticuerpo que de otra forma sería idéntico con isotipos emparejados que no tienen las mutaciones presentes en el anticuerpo mutado (es decir, que tienen residuos de una región constante humana de tipo silvestre (por ejemplo, bapineuzumab vs. AAB-003), o al comparar anticuerpos que de otra forma serían idénticos que tienen isotipo diferentes (por ejemplo, IgG1 humana versus IgG4 humana).
- 30 [0065] Algunos anticuerpos que tienen una capacidad reducida para enlazar a los receptores C1q y/o Fc γ reducen micro-hemorragias en relación con controles de isotipos emparejados pero retienen por lo menos alguna actividad inhibidora del declive cognitivo y/o de despeje de los depósitos amiloides. En algunos anticuerpos, la capacidad reducida de despeje de amiloides está asociada principalmente con la capacidad reducida de despeje de depósitos de amiloides vasculares y/o compactos y no con depósitos de amiloides difusos. Aquellos anticuerpos ofrecen una eficacia potencialmente mejorada: perfil de efectos colaterales, particularmente para su uso en portadores ApoE4.
- 35 [0066] Los anticuerpos que tienen enlaces reducidos a los receptores C1q y/o Fc γ pueden ser utilizados en métodos diferenciales de tratamiento tal como se describió anteriormente. Por ejemplo, un anticuerpo con un enlace reducido a los receptores C1q y/o Fc γ pueden ser administrados a pacientes que tienen uno o dos alelos ApoE4 y un anticuerpo que de otra forma sería idéntico sin las mutaciones a los pacientes con cero alelos ApoE4. Alternamente, un anticuerpo con un enlace reducido a receptores C1q y/o Fc γ puede administrarse a pacientes sin importar el número de alelos ApoE4.
- 40 [0067] Los anticuerpos que tienen enlaces reducidos a los receptores C1q y/o Fc γ pueden ser utilizados en métodos diferenciales de tratamiento tal como se describió anteriormente. Por ejemplo, un anticuerpo con un enlace reducido a los receptores C1q y/o Fc γ pueden ser administrados a pacientes que tienen uno o dos alelos ApoE4 y un anticuerpo que de otra forma sería idéntico sin las mutaciones a los pacientes con cero alelos ApoE4. Alternamente, un anticuerpo con un enlace reducido a receptores C1q y/o Fc γ puede administrarse a pacientes sin importar el número de alelos ApoE4.
- 45 [0068] Los anticuerpos que tienen enlaces reducidos a los receptores C1q y/o Fc γ pueden ser utilizados en métodos diferenciales de tratamiento tal como se describió anteriormente. Por ejemplo, un anticuerpo con un enlace reducido a los receptores C1q y/o Fc γ pueden ser administrados a pacientes que tienen uno o dos alelos ApoE4 y un anticuerpo que de otra forma sería idéntico sin las mutaciones a los pacientes con cero alelos ApoE4. Alternamente, un anticuerpo con un enlace reducido a receptores C1q y/o Fc γ puede administrarse a pacientes sin importar el número de alelos ApoE4.
- 50 [0069] Los anticuerpos que tienen enlaces reducidos a los receptores C1q y/o Fc γ pueden ser utilizados en métodos diferenciales de tratamiento tal como se describió anteriormente. Por ejemplo, un anticuerpo con un enlace reducido a los receptores C1q y/o Fc γ pueden ser administrados a pacientes que tienen uno o dos alelos ApoE4 y un anticuerpo que de otra forma sería idéntico sin las mutaciones a los pacientes con cero alelos ApoE4. Alternamente, un anticuerpo con un enlace reducido a receptores C1q y/o Fc γ puede administrarse a pacientes sin importar el número de alelos ApoE4.
- 55 [0070] Los anticuerpos que tienen enlaces reducidos a los receptores C1q y/o Fc γ pueden ser utilizados en métodos diferenciales de tratamiento tal como se describió anteriormente. Por ejemplo, un anticuerpo con un enlace reducido a los receptores C1q y/o Fc γ pueden ser administrados a pacientes que tienen uno o dos alelos ApoE4 y un anticuerpo que de otra forma sería idéntico sin las mutaciones a los pacientes con cero alelos ApoE4. Alternamente, un anticuerpo con un enlace reducido a receptores C1q y/o Fc γ puede administrarse a pacientes sin importar el número de alelos ApoE4.
- 60 [0071] Los anticuerpos que tienen enlaces reducidos a los receptores C1q y/o Fc γ pueden ser utilizados en métodos diferenciales de tratamiento tal como se describió anteriormente. Por ejemplo, un anticuerpo con un enlace reducido a los receptores C1q y/o Fc γ pueden ser administrados a pacientes que tienen uno o dos alelos ApoE4 y un anticuerpo que de otra forma sería idéntico sin las mutaciones a los pacientes con cero alelos ApoE4. Alternamente, un anticuerpo con un enlace reducido a receptores C1q y/o Fc γ puede administrarse a pacientes sin importar el número de alelos ApoE4.
- 65 [0072] Los anticuerpos que tienen enlaces reducidos a los receptores C1q y/o Fc γ pueden ser utilizados en métodos diferenciales de tratamiento tal como se describió anteriormente. Por ejemplo, un anticuerpo con un enlace reducido a los receptores C1q y/o Fc γ pueden ser administrados a pacientes que tienen uno o dos alelos ApoE4 y un anticuerpo que de otra forma sería idéntico sin las mutaciones a los pacientes con cero alelos ApoE4. Alternamente, un anticuerpo con un enlace reducido a receptores C1q y/o Fc γ puede administrarse a pacientes sin importar el número de alelos ApoE4.

[0067] Anticuerpos con regiones constantes mutadas para reducir el enlace de los receptores C1q y/o Fcγ son suministrados a veces con dosis más altas que anticuerpos que de otra forma serían idénticos sin la mutación. Para algunos de aquellos anticuerpos, la dosis puede ser ajustada hacia arriba para lograr un efecto terapéutico equivalente con efectos colaterales reducidos.

5 [0068] La capacidad de despeje es afectada por la especificidad del epítipo de un anticuerpo (o anticuerpos inducidos por un fragmento para su administración activa) y en la presencia de, y tipo de función ejecutora del anticuerpo, en particular por la capacidad de la región Fc si está presente para enlazarse a los receptores Fcγ. Aunque despejar a los depósitos de amiloides es un mecanismo de acción útil, reactivos que no tienen la capacidad de despejar depósitos pueden ser útiles por medio de otros mecanismos, tales como enlaces a Aβ solubles y/o formas oligoméricas solubles de Aβ. Aquellos enlaces podrían reducir la toxicidad de aquellas especies y/o inhibir su aglutinamiento para formar depósitos entre otros mecanismos posibles.

10 [0069] Los reactivos que son propensos para inducir aquella respuesta de despeje incluyen enlaces de anticuerpos a un epítipo dentro de los residuos 1-11 y particularmente 1-7 de Aβ, particularmente aquellos anticuerpos que tienen un isotipo IgG1, que interactúa en una forma más fuerte con los receptores Fcγ. Fragmentos de Aβ que contienen epítopes dentro de los residuos 1-11 y particularmente 1-7 son similarmente efectivos para inducir una respuesta de despeje. Opcionalmente, los reactivos que inician una respuesta de despeje, pueden ser provistos con una etiqueta que contraindica el uso para pacientes con uno o dos alelos ApoE4. Los reactivos con menos o no tendencia a inducir una respuesta de despeje incluyen anticuerpos para Aβ que tienen isotipos que no son IgG1 humanos, los anticuerpos que no tienen una región Fc (por ejemplo, fragmentos Fab, fragmentos Fv o nano cuerpos), o anticuerpos con regiones Fc mutadas por medio de ingeniería genética para reducir las interacciones con los receptores Fcγ. Aquellos agentes también incluyen anticuerpos que se enlazan específicamente a un epítipo o dentro de una región de Aβ fuera de los residuos 1-11, (es decir, un epítipo medio o un epítipo de la terminal C, tal como se describió anteriormente) y anticuerpos que se enlazan específicamente a formas solubles u oligoméricas de Aβ sin enlazarse con los depósitos de amiloides. Aquellos reactivos también incluyen fragmentos de Aβ que no tienen epítopes dentro de los residuos 1-11 de Aβ. En aquellos métodos, individuos que tienen dos alelos E4 son administrados un reactivo con una tendencia más baja para inducir una respuesta de despeje fagocítica que los individuos que tienen cero alelos. Por ejemplo, a individuos que tienen cero alelos E4 se les puede administrar un anticuerpo que se enlaza a un epítipo dentro de los residuos 1-11 de Aβ y tienen un isotipo IgG1 humano e individuos que tienen dos alelos E4 también se les puede administrar el mismo anticuerpo excepto que el anticuerpo es un fragmento Fab o tiene un isotipo aparte del IgG1 humano o tiene una región Fc diseñada para reducir los enlaces a los receptores Fcγ. El agente administrado a individuos que tienen dos alelos E4 también puede ser un anticuerpo a un epítipo medio o de la terminal C de Aβ o de un fragmento de Aβ de una región media o de la terminal C (es decir, que no tiene un epítipo adentro de Aβ 1-11).

15 [0070] En algunos métodos, pacientes con dos alelos E4 se les administra un anticuerpo que tiene un epítipo dentro de una región media o de la terminal C para uno o más dosis iniciales y un anticuerpo que tiene un epítipo dentro de una región terminal N para dosis subsiguientes. Aquel anticuerpo puede ser un anticuerpo 266 humanizado, un anticuerpo 2H6 humanizado, un anticuerpo 2H6 humanizado desglucosilado o RN1219. Aquel anticuerpo también puede ser un anticuerpo humanizado que se enlaza específicamente a un epítipo dentro de Aβ28-40 o Aβ33-40. Las dosis iniciales consisten preferiblemente de 1, 2 o tres dosis. Los pacientes que tienen cero alelos se les puede administrar un anticuerpo que tenga un epítipo dentro de la región de la terminal N.

20 [0071] Los diferentes regímenes administrados a pacientes diferentes dependen de que su estado de E4 pueda ser mantenido indefinidamente. Sin embargo, aquello no es usualmente necesario. Se ha encontrado que el efecto colateral de edema vasogénico se asocia con el alelo E4 y usualmente ocurre para la tercera dosis, si es que sucede. Por lo tanto, una vez que los pacientes han recibido alrededor de dos-tres dosis del tratamiento, los pacientes que tienen uno o dos alelos ApoE4 que no han desarrollado un edema vasogénico probablemente no desarrollarán uno, y pueden desde entonces, si se desean, ser tratados en una forma similar a los pacientes que tienen cero alelos E4. Así mismo, los pacientes con uno o 2 alelos ApoE4 que desarrollan un edema vasogénico, sin importar el régimen de tratamiento diferencial de este documento, usualmente resuelven esta condición y después, si lo desearan, podrían ser tratados en una forma similar a los pacientes que tienen 0 alelos E4. Opcionalmente, la dosis es incrementada después de recuperarse de un edema vasogénico a aquella utilizada por los no portadores.

25 [0072] El edema vasogénico típicamente se resuelve por sí mismo. Sin embargo, la resolución puede ser facilitada si se desee por medio de la administración de un corticosteroide.

30 [0073] Los reactivos pueden ser empacados con etiquetas indicando los procedimientos de tratamiento diferenciales que dependen del estado de ApoE4 consistentes con cualquiera de los regímenes ya mencionados o sus combinaciones.

B. Diferentes Regímenes de Monitoreo

35 [0074] Alternamente o adicionalmente, la presentación suministra diferentes regímenes de monitoreo para pacientes dependiendo en su Estado E4. Un edema vasogénico es un incremento en el volumen del cerebro por una fuga de

plasma en el espacio intersticial. Una vez extravasado, el fluido es retenido afuera de la vasculatura, principalmente en la materia blanca del cerebro. Un edema vasogénico puede monitorearse por medio de tomas de imágenes cerebrales particularmente por medio de MRI, tomografía de emisión de positrones (toma de imágenes PET - Positron Emission Tomography) o imágenes secuenciales de Recuperación de Inversión Atenuada de Fluidos (FLAIR - Fluid Attenuated Inversion Recovery) (refiérase a *Pediatric Neurology (Neurología Pediátrica)*, 20(3):241-243; *AJNR*, 26:825-830; *NEJM*, 334(8):494-500; *Pediatr Nephrol*, 18:1161-1166; *Internal Medicine Journal (Revista de Medicina Interna)*, 35:83-90; *JNNP*, 68:790-79 1; *AJNR*, 23:1038-1048; *Pak JMed Sci*, 21(2):149-154 y, *AJNR*, 21:1199-1209). El edema vasogénico presenta una intensidad de señal alta en la materia blanca. El edema vasogénico observado es a menudo asintomático pero también puede ser acompañado por dolores de cabeza, náuseas, vómitos, confusión, ataques epilépticos, anomalías visuales, funcionamiento mental alterado, ataxia, síntomas frontales, síntomas parietales, estupor y señales neurológicas focales.

[0075] De acuerdo a estos métodos, los pacientes con dos alelos E4 pueden estar sujetos a tomas de imágenes del cerebro más frecuentemente que los pacientes que tienen cero alelos E4. Por ejemplo, los pacientes con dos copias de E4 se les puede tomar imágenes antes de empezar el tratamiento y después de eso trimestralmente, mientras que los pacientes con cero alelos E4 se les puede tomar imágenes antes del inicio de tratamiento y después de eso anualmente o cada dos años. Alternamente, las tomas de imágenes cerebrales pueden ser omitidas en pacientes que tienen cero alelos E4. A pacientes que tienen un alelo E4 se les puede tomar imágenes con una frecuencia intermedia entre los pacientes que tienen 0 y 2 alelos E4, o se los puede agrupar con pacientes que tienen cero o dos alelos E4. Después de eso los pacientes con un alelo E4 pueden ser monitoreados de una forma diferente (por ejemplo, más frecuentemente) que los pacientes con cero alelos E4 y pacientes con dos alelos E4 pueden ser monitoreados en forma diferente (por ejemplo, más frecuentemente) que los pacientes con un alelo E4.

[0076] En pacientes que desarrollan un edema vasogénico, el monitoreo puede ser continuado durante el edema vasogénico y por alrededor de un año después de que se resuelvan los síntomas. Después de eso, asumiendo que no hay hallazgos neurológicos, el monitoreo puede ser realizado opcionalmente cada seis meses o anualmente.

[0077] Los agentes pueden empacarse con marcaciones indicando los procedimientos de monitoreo diferenciales dependiendo del estado ApoE4 consistentes con cualquiera de los regímenes ya mencionados o sus combinaciones.

C. Tratamiento universal o regímenes de monitoreo

[0078] Aunque los portadores y los no portadores ApoE4 tienen respuestas diferentes al tratamiento tal como ya se mencionó, y algunos regímenes de tratamientos que son seguros y efectivos en los portadores de ApoE4 también son seguros y efectivos, aunque no necesariamente óptimos, en los no portadores de ApoE4 y pueden utilizarse en ambos tipos de pacientes sin importar su estado ApoE de los pacientes. En algunos regímenes, el reactivo es un anticuerpo que se enlaza a un epítipo terminal N de A β que tienen mutaciones en su región constante que reducen los enlaces a un receptor Fc γ y/o C1q. AAB-003 es un ejemplo de uno de esos anticuerpos. En otros regímenes, la dosis y/o frecuencia y/o la concentración sérica máxima y/o la concentración sérica media de un anticuerpo administrado o inducido son restringidas dentro de sus límites tal como se describe en PCT/US2007/009499 y se resume aún más adelante para reducir el riesgo de un edema vasogénico.

IV. Reactivos

A. Anticuerpos

[0079] Una variedad de anticuerpos a A β han sido descritos en la literatura de patentes y científica para su uso en la inmunoterapia de la enfermedad de Alzheimer, alguna de la cual se refiere a ensayos clínicos (refiérase, por ejemplo, a US 6,750,324). Aquellos anticuerpos pueden enlazarse específicamente a un epítipo de la terminal N, un epítipo medio (es decir, central) o un epítipo de la terminal C tal como se definió anteriormente. Algunas secciones son específicas de la terminal N (es decir, aquellos anticuerpos que se enlazan específicamente a la terminal N de A β sin enlazarse a APP). Tal como ya se mencionó los anticuerpos que se enlazan a epítopos dentro de los residuos 1-10, 1-3, 1-4, 1-5, 1-6, 1-7 o 3-7 de A β 42 o dentro de los residuos 2-4, 5, 6, 7 u 8 de A β , o dentro de los residuos 3-5, 6, 7, 8 o 9 de A β , o dentro de los residuos 4-7, 8, 9 o 10 de A β 42 pueden ser utilizados. Algunos anticuerpos específicos de la terminal C (es decir, se enlazan específicamente a una terminal C de A β sin enlazarse a los anticuerpos APP). Los anticuerpos pueden ser policlónicos o monoclonales. Los sueros policlónicos contienen típicamente poblaciones mezcladas de anticuerpos que se enlazan específicamente a algunos epítopos a lo largo de la extensión de la APP. Sin embargo, sueros policlónicos puede ser específicos a un segmento particular de A β tal como A β 1-11 sin enlazarse específicamente a otros segmentos de A β . Anticuerpos importantes son quiméricos, humanizados (incluyendo los anticuerpos chapeados) (refiérase a Queen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. Estados Unidos* 86:10029-10033 (1989) y WO 90/07861, US 5,693,762, US 5,693,761, US 5,585,089, US 5,530,101 y Winter, US 5,225,539), o humanos (Lonberg et al., WO 93/12227 (1993); US 5,877,397, US 5,874,299, US 5,814,318, US 5,789,650, US 5,770,429, US 5,661,016, US 5,633,425, US 5,625,126, US 5,569,825, US 5,545,806, *Nature (Naturaleza)* 148, 1547-1553 (1994), *Nature Biotechnology (Biotecnología Natural)* 14, 826 (1996), Kucherlapati, WO 91/10741 (1991)) EP1481008, Bleck, *Bioprocessing Journal* 1 (Revista de Bioprocésamiento 1) (Sept/Oct. 2005), US 2004132066, US 2005008625, WO 04/072266, WO 05/065348, WO 05/069970, y WO 06/055778.

[0080] El anticuerpo 3D6, 10D5 y sus variantes son ejemplos de anticuerpos que pueden ser utilizados. Ambos son descritos en US 20030165496, US 20040087777, WO 02/46237, y WO 04/080419, WO 02/088306 y WO 02/088307. Los anticuerpos 10D5 también son descritos en US 20050142131. Anticuerpos 3D6 adicionales son descritos en US 20060198851 y PCT/US05/45614. 3D6 es un anticuerpo monoclonal (mAb - monoclonal antibody) que se enlaza específicamente a un epítoto de la terminal N ubicada en el péptido humano amiloide β , específicamente, en los residuos 1-5. Por comparación, 10D5 es un mAb que se enlaza específicamente a un epítoto de la terminal N ubicado en el péptido humano de amiloide β , específicamente en los residuos 3-6. Una línea celular que produce el anticuerpo monoclonal 3D6 (RB96 3D6.32.2.4) fue depositado con la Colección Americana de Tipos de Cultivos (ATCC - American Type Culture Collection), Manassas, VA 20108, Estados Unidos el 8 de abril de 2003 bajo los términos del tratado de Budapest y se le asignó el número de acceso PTA-5130. Una línea celular que produce el anticuerpo monoclonal 10D5 (RB44 10D5.19.21) fue depositado con la ATCC el 8 de abril de 2003 bajo los términos del tratado de Budapest y se le asignó el número de acceso PTA-5129.

[0081] Bapineuzumab (nombre internacional sin propietario designado por la organización mundial de la salud) significa un anticuerpo 3D6 humanizado que comprende una cadena ligera que tiene una región variable madura que tiene una secuencia de aminoácidos designada como IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 2 y una cadena pesada que tiene una región variable madura que contiene a la secuencia de aminoácidos diseñada IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 3 (las regiones constantes de cadenas pesadas y ligeras del anticuerpo diseñado bapineuzumab por QUIENES son IgG1 humano y kappa humana respectivamente). Una cadena ligera humanizada que incluye regiones variables y constantes se la designa la IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 48 más adelante, y una cadena pesada humanizada que incluye regiones variables y constantes fue designada como la IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO 66 o 67 (la IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 66 tiene una lisina adicional de la terminal C relacionada con la IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 67).

Región variable de cadena ligera de 3D6 humanizado

[0082]

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser
Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp
Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly Thr His Phe Pro
Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys (SEC ID NO: 2)

Región variable de cadena pesada de 3D6 humanizado

[0083]

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr
Ser Asp Asn Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg Tyr
Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
(SEC ID NO: 3)

[0084] Una segunda versión del anticuerpo 3D6 humanizado que comprende una cadena ligera que tiene una región madura variable que tiene la secuencia de aminoácidos designada IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 4 y

una cadena pesada que tiene una región variable madura que tiene la secuencia de aminoácidos designada IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 5 se muestran más adelante.

La región variable de la cadena ligera de 3D6 humanizada

5

[0085]

Tyr Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser
10 Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp
Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp
15 Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly Thr His Phe Pro
Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys (SEC ID NO: 4)

20

Región Variable de Cadena Pesada 3D6 humanizada

[0086]

25 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala
30 Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr
Ser Asp Asn Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Val Arg Tyr
35 Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
(SEC ID NO: 5)

40

[0087] Una tercera versión del anticuerpo 3D6 humanizado comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos designada IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 6 y una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos designada IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 7 se describe en US 2005/0090648 A1 publicada el 28 de abril de 2005 emitida como US 7,318,923.

45

Cadena ligera de 3D6 humanizada

[0088]

50

55

60

65

5 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser
 Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp
 10 Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp
 Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly Thr His Phe Pro
 15 Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val
 Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
 20 Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
 Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys
 25 Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 (SEC ID NO: 6)

25 Cadena pesada 3D6 humanizada

[0089]

30 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
 Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala
 35 Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr
 Ser Asp Asn Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg Tyr
 40 Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 45 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 50 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
 Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 55 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 60 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

65

5 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 10 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys (SEC ID NO: 7)

15 [0090] El anticuerpo adicional que puede ser utilizado de acuerdo al invento es una cuarta versión del 3D6 humanizado, tal como se presentó en US 7,318,923. Este anticuerpo se enlaza a la terminal N del péptido Aβ, tal como se explicó anteriormente. El 3D6 humanizado (versión cuatro) comprende la secuencia de la región variable de cadena ligera de la IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 71 y la secuencia de la región variable de cadena pesada de la IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 72.

20 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu GlyGln Pro Ala Ser
 Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp
 25 Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp
 Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly Thr His Phe Pro
 30 Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg (SEC ID NO: 71)

35 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
 Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala
 Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr
 40 Ser Asp Asn Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg Tyr
 Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 45 (SEC ID NO: 72)

50 [0091] Cualquiera de los anticuerpos o fragmentos de anticuerpos aquí descritos pueden ser diseñados o preparados utilizando métodos estándar, tal como se describe en, por ejemplo, US 20040038304, US 20070020685, US 200601660184, US 20060134098, US 20050255552, US 20050130266, US 2004025363, US 20040038317, US 20030157579, y US 7,335,478.

55 [0092] Cualquiera de los anticuerpos descritos anteriormente pueden ser producidos con isotipos diferentes o isotipos mutantes para controlar la magnitud de los enlaces a los diferentes receptores Fcγ. Los anticuerpos que no tienen la región Fc (por ejemplo, los fragmentos Fab) no tienen enlaces a los receptores Fcγ. La selección del isotipo también afecta a los enlaces de los receptores Fcγ. Las afinidades respectivas de varios isotipos IgG humanos para los tres receptores Fcγ. FcγRI, FcγRII, y FcγRIII, han sido determinadas (refiérase a Ravetch & Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9, 457 (1991)). FcγRI es un receptor de alta afinidad que enlaza a los IgGs en una forma monomérica, y los dos posteriores son receptores de baja afinidad que se enlazan a IgGs solamente en una forma multimérica. En general, IgG1 e IgG3 tienen una actividad de enlaces significativa para todos los tres receptores, IgG4 a FcγRI, e IgG2 a sólo un tipo de FcγRII llamado IIaLR (refiérase a Parren et al., J. Immunol. 148, 695 (1992)). Por lo tanto, el IgG1 de isotipo humano es seleccionado usualmente por sus enlaces más fuertes a los receptores Fcγ e IgG2 es seleccionado usualmente por sus enlaces más débiles.

65 [0093] Las mutaciones, adyacentes, o cercanas a los lugares en la región de vinculación de charnela (por ejemplo, residuos de reemplazo 234, 235, 236 y/o 237 con otro residuo) en todos los isotipos reduce la afinidad para los receptores Fcγ, particularmente el receptor FcγRI (refiérase, por ejemplo, a US 6,624,821). Opcionalmente, las

5 posiciones 234, 236 y/o 237 son sustituidas con alanina y la posición 235 con glutamina. (Refiérase, por ejemplo, a US 5,624,821). La posición 236 falta en el isotipo IgG2 humano. Ejemplos de segmentos de aminoácidos para las posiciones 234, 235 y 237 para IgG2 humano son Ala Gly, Val Ala, Ala, Val Glu Ala, y Ala Glu Ala. Una combinación preferida de mutaciones es L234A, L235A, y G237A para el IgG1 de isotipo humano. Un anticuerpo particular preferido es el bapineuzumab que tiene un IgG de isotipo humano y estas tres mutaciones de la región Fc. Otras sustituciones que reducen los enlaces a los receptores Fcγ son una mutación E233p (particularmente en IgG1 de ratón) y D265A (particularmente de IgG2a de ratón) otros ejemplos de mutaciones y combinaciones de mutaciones que reducen los enlaces a Fc y/o Clq se describen en los ejemplos (E318A/K320A/R322A (particularmente en IgG1 de ratón), L235A/E318A/K320A/K322A (particularmente en IgG2a de ratón). Asimismo, el residuo 241 (Ser) en IgG4 humano puede ser reemplazado, por ejemplo, con prolina para interrumpir los enlaces a Fc.

15 **[0094]** Mutaciones adicionales pueden ser hechas a la región constante para modular la actividad ejecutora. Por ejemplo, se puede realizar mutaciones a la región constante de IgG2a en A330S, P331S, o en ambas. En lo que se refiere a las mutaciones para IgG4 éstas se pueden realizar en E233P, F234V y L235A, con G236 eliminado, o cualquiera de sus combinaciones. IgG4 también puede tener una o ambas de las siguientes mutaciones S228P y L235E. El uso de secuencias de la región constante interrumpida para modular la función ejecutora se cubre en mayor detalle, por ejemplo, en WO 06/118,959 y WO 06/036291.

20 **[0095]** Mutaciones adicionales pueden ser hechas a la región constante del IgG humano para modular la actividad ejecutora (refiérase, por ejemplo, a WO 06/03291). Estos incluyen las siguientes sustituciones: (i) A327G, A330S, P331S; (ii) E233P, L234V, L235A, G236 eliminada; (iii) E233P, L234V, L235A; (iv) E233P, L234V, L235A, G236 eliminada, A327G, A330S, P331S; y (v) E233P, L234V, L235A, A327G, A330S, P331S a un IgG1 humano.

25 **[0096]** La afinidad de un anticuerpo con el FcR puede alterarse al mutar ciertos residuos de la región constante de la cadena pesada. Por ejemplo, la interrupción del lugar de glicosilación del IgG1 humano puede reducir los enlaces FcR, y por lo tanto la función ejecutora, del anticuerpo (refiérase, por ejemplo, a WO 06/036291). Las secuencias tripéptidas NXS, NXT, y NXC, donde X es cualquier aminoácido que no sea prolina, son los lugares de reconocimiento enzimático para la glicosilación del residuo N. La interrupción de cualquiera de los aminoácidos tripéptidos particularmente en la región CH2 de IgG1 evita la glicosilación en ese lugar. Por ejemplo, la mutación de N97 del IgG1 humano evita la glicosilación y reduce los enlaces FcR al anticuerpo.

35 **[0097]** Las secuencias de algunos ejemplos de anticuerpos 3D6 humanizados y sus partes de los componentes se muestran más adelante. Las regiones constantes humanas muestran variaciones alotípicas y variaciones isoalotípicas entre individuos diferentes, eso es, las regiones constantes pueden diferir en diferentes individuos en una o más posiciones polimórficas. Isoalotipos se diferencian de los alotipos en que el reconocimiento sérico en un isoalotipo se enlaza a una región no polimórfica o a uno o más isotipos adicionales. El alotipo de la región constante de IgG1 que se muestra más adelante es 3D6 (AAB-001) que es G1mz que tiene a Glu en la posición 356 y Met en la posición de 158. El alotipo de la región constante de kappa que se muestra más adelante es Km3, que tiene un Ala en la posición 153 y a Val en la posición 191. Un alotipo diferente Km(1) tiene Val y Leu en las posiciones 153 y 191 respectivas. Las variantes alotípicas son revisadas por J Immunogen 3: 357-362 (1976) y Loghem., Monogr Allergy 19: 40-51 (1986). Otras variantes alotípicas e isoalotípicas de las regiones constantes ilustradas son incluidas. También están incluidas las regiones constantes que tienen cualquier permutación de los residuos que ocupan posiciones polimórficas en alotipos naturales. Ejemplos de otros alotipos IgG1 de cadenas pesadas incluyen a: G1m(f), G1m(a) y G1m(x). G1m(f) se diferencia de G1m(z) en que tiene a Arg en vez de a un Lys en la posición 214. G1m(a) tiene aminoácidos Arg, Asp, Glu, Leu en las posiciones 355-358.

Cadena ligera de longitud completa de 3D6 humanizada (secuencia de señalización subrayada) (bapineuzumab y AAB-003)

50 **[0098]**

MDMRVPAQLLGLLMLWVSGSSGDVVMTQSPLSLPVT**P**GEPASIS**C**KSSQ**S**LL
 55 DSDGKTYLNWLLQKPGQSPQR**L**IYLVSKLDSGVPDR**F**SGSGSGTDF**T**LKISR**V**
 EAEDVGVYYC**W**Q**G**TH**F**PR**T**FG**Q**G**T**K**V**EIK**R**T**V**A**A**PS**V**F**I**FP**S**DE**Q**L**K**SG**T**A**S**
 60 **V**V**C**LL**N**N**F**Y**P**RE**A**K**V**Q**W**K**V**D**N**A**L**Q**S**G**N**S**Q**E**S**V**T**E**Q**D**S**K**D**S**T**Y**S**L**S**S**T**L**T**L**S**K
AD**Y**E**K**H**K**V**Y**A**C**E**V**T**H**Q**L**S**S**P**V**T**K**S**F**N**R**G**E**C (SEC ID NO: 47)

Cadena ligera de longitud completa de 3D6 humanizada, sin incluir la secuencia de señalización (bapineuzumab y AAB-003)

65 **[0099]**

DVVMTQSPLSLPVTGPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQKPGQSPQRLLI
YLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTGTHFPRTFGQ
5 GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSP
10 VTKSFNRGEC | (SEC ID NO: 48)

ADN que codifica a la secuencia de codificación de la cadena ligera de 3D6 humanizada (secuencia de señalización subrayada) (bapineuzumab y AAB-003)

15 **[0100]**

ATGGACATGCGCGTGCCCGCCAGCTGCTGGGCCTGCTGATGCTGTGGGT
GTCCGGCTCCTCCGGCGACGTGGTGATGACCCAGTCCCCCCTGTCCCTGCC
20 CGTGACCCCGGGCGAGCCCGCCTCCATCTCCTGCAAGTCTCCAGTCCCT
GCTGGACTCCGACGGCAAGACCTACCTGAACTGGCTGCTGCAGAAGCCCG
25 GCCAGTCCCCCAGCGCCTGATCTACCTGGTGCCAAGCTGGACTCCGGC
GTGCCCACCGCTTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGAAG
30 ATCTCCCGCGTGGAGGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCTGGCAGGG
CACCCACTTCCCCCGCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGC
GTACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGT
35 TGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCA
GAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAA
40 CTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAG
TCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAG
AGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEC ID NO: 49)

45 Región constante de la cadena pesada humana, isotipo IgG1, L234A/G237A

[0101]

50 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT
HTCPPCPAPEALGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
55 WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
60 WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPGK (SEC ID NO: 50)

65

[0102] El residuo K de la terminal C puede estar ausente, tal como se indica a continuación.

5 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
 PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT
 10 HTCPCPAPEALGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
 WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
 ALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 15 WESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA
 LHNHYTQKSLSLSPG (SEC ID NO: 51)

Cadena pesada de longitud completa de 3D6 humana (isotipo IgG1, L234A/G237A) incluyendo la secuencia de señalización (subrayada)

20 [0103]
MEFGLSWLFLVAILKGVQCEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYG
 25 MSWVRQAPGKGLEWVASIRSGGGRTYYSDNVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN
 SLRAEDTAVYYCVRYDHYSGSSDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS
 30 TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV
 TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPEALGAPS
 VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
 35 REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKAKGQP
 REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
 40 VLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
 (SEC ID NO: 52)

[0104] El residuo K de la terminal C puede estar ausente, tal como se indica a continuación

45 MEFGLSWLFLVAILKGVQCEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYG
 MSWVRQAPGKGLEWVASIRSGGGRTYYSDNVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN
 50 SLRAEDTAVYYCVRYDHYSGSSDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS
 TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV
 55 TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPEALGAPS
 VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
 REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKAKGQP
 60 REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
 VLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
 (SEC ID NO: 53)

65

Cadena pesada de longitud completa de 3D6 humanizada sin incluir la secuencia de señalización (Isotipo IgG1, L234A/G237A)

[0105]

5 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVASIR
 SGGGRITYYSDNVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRYDHYS
 10 GSSDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
 TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
 NTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEALGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT
 15 CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
 20 VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
 RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEC ID NO: 54)

[0106] El residuo K de la terminal C puede estar ausente, como se indica a continuación.

25 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVASIR
 SGGGRITYYSDNVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRYDHYS
 30 GSSDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
 TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
 NTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEALGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT
 35 CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
 40 VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
 RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEC ID NO: 55)

45 Región constante de la cadena pesada humana, isotipo IgG4, S241P (numeración Kabat); S228P (numeración EU).

[0107]

50 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
 PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPC
 PPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYV
 55 DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS
 SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
 60 NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN
 HYTQKSLSLGLGK (SEC ID NO: 56)

65

[0108] El residuo K de la terminal C puede estar ausente, tal como se indica más adelante.

5 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
 PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPC
 10 PPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYV
 DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSS
 15 SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
 NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN
 HYTQKSLSLSLG (SEC ID NO: 57)

Cadena pesada de longitud completa de 3D6 humanizada (Isotipo IgG4, S241P), incluyendo la secuencia de señalización (subrayada)

20 [0109]

25 MEFGLSWLFLVAILKGVQCEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYG
 MSWVRQAPGKGLEWVASIRSGGGRTYYSQDNVKGKGRFTISRDNKNTLYLQMN
 30 SLRAEDTAVYYCVRYDHYSQSSDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR
 TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
 35 VPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPEFLGGPSVFLFP
 PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
 40 FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ
 VYTLPPSQQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
 SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEC ID NO: 58)

[0110] El residuo K de la terminal C puede estar ausente, tal como se indica a continuación.

45 MEFGLSWLFLVAILKGVQCEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYG
 MSWVRQAPGKGLEWVASIRSGGGRTYYSQDNVKGKGRFTISRDNKNTLYLQMN
 50 SLRAEDTAVYYCVRYDHYSQSSDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR
 TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
 55 VPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPEFLGGPSVFLFP
 PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
 60 FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ
 VYTLPPSQQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
 SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG (SEC ID NO: 59)

Cadena pesada de 3D6 humanizada, sin incluir a la secuencia de señalización (isotipo IgG4, S241P)

65 [0111]

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVASIR
 5 SGGGRITYYSDNVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRYDHYS
 GSSDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV
 TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPS
 10 NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTV
 DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL
 15 NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL
 LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE
 GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEC ID NO: 60)

[0112] El residuo K de la terminal C puede estar ausente, tal como se indica a continuación.

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVASIR
 25 SGGGRITYYSDNVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRYDHYS
 GSSDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV
 TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPS
 30 NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTV
 DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL
 35 NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL
 LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE
 40 GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG (SEC ID NO: 61)

La región constante de cadenas pesadas humanas, Isotipo IgG1 (AAB-003), L234A/L235A/G237A

[0113]

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
 45 PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT
 50 HTCPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVVDSHEDPEVKFN
 WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
 55 ALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
 LHNHYTQKSLSLSPGK (SEC NO ID: 62)

[0114] El residuo K de la terminal C puede estar ausente, tal como se indica a continuación.

5 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
 PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT
 10 HTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
 WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
 15 ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
 LHNHYTQKSLSLSPG (SEC ID NO: 63)

20 Cadena pesada de longitud completa de 3D6 humanizada incluyendo la secuencia de señalización (isotipo IgG1, L234A/L235A/G237A): AAB-003

[0115]

25 MEFGLSWLFLVAILKGVQCEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYG
 MSWVRQAPGKGLEWVASIRSGGGRTYYSDNVKGRFTISRDNKNTLYLQMN
 30 SLRAEDTAVYYCVRYDHYSGSSDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS
 TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV
 TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPS
 35 VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
 REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP
 40 REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
 VLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
 45 (SEC ID NO: 64)

[0116] El residuo K de la terminal C puede estar ausente, tal como se indica a continuación.

50 MEFGLSWLFLVAILKGVQCEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYG
 MSWVRQAPGKGLEWVASIRSGGGRTYYSDNVKGRFTISRDNKNTLYLQMN
 55 SLRAEDTAVYYCVRYDHYSGSSDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS
 TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV
 TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPS
 60 VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
 REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP
 65 REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
 VLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
 (SEC ID NO: 65)

Cadena pesada de 3D6 humanizada, sin incluir la secuencia de señalización (isotipo IgG1, L234A/L235A/G237A): AAB-003

[0117]

5 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVASIR
 SGGGRITYYSDNVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRYDHYS
 10 GSSDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
 TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
 15 NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT
 CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
 20 VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
 RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEC ID NO: 66)

25 [0118] El residuo K de la terminal C puede estar ausente, tal como se indica a continuación.

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVASIR
 SGGGRITYYSDNVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRYDHYS
 30 GSSDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
 TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
 35 NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT
 CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 40 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
 VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
 45 RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEC ID NO: 67)

ADN que codifica una región de codificación de cadena pesada de 3D6 humanizada incluyendo la secuencia de señalización (subrayada) (isotipo de IgG1, L234A/L235A/G237A): AAB-003

[0119]

50

55

60

65

ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGCTTTTTCTTGTGGCTATTTTAAAAGGTGTC
 5 CAGTGTGAGGTGCAGCTGCTGGAGTCCGGCGGGCGGCCTGGTGCAGCCCGG
 CGGCTCCCTGCGCCTGTCCTGCGCCGCCTCCGGCTTCACCTTCTCCAATA
 CGGCATGTCCTGGGTGCGCCAGGCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGG
 10 CCTCCATCCGCTCCGGCGGGCGGCCGCACCTACTACTCCGACAACGTGAAG
 GGCCGCTTCACCATCTCCCGCGACAACCTCCAAGAACACCCTGTACCTGCA
 15 GATGAACTCCCTGCGCGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGTGCGCT
 ACGACCACTACTCCGGCTCCTCCGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTG
 20 ACCGTGTCCTCCGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCC
 TCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAA
 GGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGA
 25 CCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACT
 CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACC
 30 TACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA
 AAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCA
 35 GCACCTGAAGCCGCTGGGGCACCGTCAGTCTTCTTCCCCCCTTCCCCC
 AAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGT
 40 GGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG
 GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAA
 CAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGC
 45 TGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCC
 CCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC
 50 AGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTC
 AGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGA
 55 GTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCC
 GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTTCTATAGCAAGCTCACCGTGGAC
 60 AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGA
 GGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTA
 AATGA (SEC ID NO: 68)

65 Cadena pesada de longitud completa de bapineuzumab, sin incluir la secuencia de señalización, isotipo de IgG1, sin mutaciones Fc.

[0120]

5 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVASIR
 SGGGRYYSDNVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRYDHYS
 10 GSSDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
 TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
 NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
 15 VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
 DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV
 20 SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
 WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEC ID NO: 69)

[0121] El residuo K de la terminal C puede estar ausente, tal como se muestra a continuación.

25 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVASIR
 SGGGRYYSDNVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRYDHYS
 30 GSSDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
 TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
 NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
 35 VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
 DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV
 40 SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
 WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEC ID NO: 70)

45 [0122] En algunos anticuerpos, las posiciones 234, 235, y 237 de una región constante de cadenas pesadas de IgG humana puede ser AAA respectivamente, LLA respectivamente, LAG respectivamente, ALG respectivamente, AAG respectivamente, ALA respectivamente, o LAA respectivamente. Tal como se mostró anteriormente, AAB-003 es una variante L234A, L235A, y G237A de bapineuzumab (es decir, tiene secuencias de aminoácidos idénticas a bapineuzumab excepto por las mutaciones L234A, L235A, y G237A, siendo alanina (A) el aminoácido variante). Tal como la bapineuzumab, AAB-003 tiene una región constante de cadena ligera kappa humana de longitud completa y una región constante de cadena pesada de IgG1 humana de longitud completa (en bapineuzumab o AAB-003, un residuo de lisina de la terminal C es dividido intracelularmente a veces y a veces no aparece en el producto final).

55 [0123] Aunque las tres mutaciones en AAB-003 son cercanas a la región de charnela en vez de a la región de enlace complementario, AAB-003 tiene enlaces reducidos para los receptores Fcγ y para C1q, en relación con bapineuzumab. Por lo tanto, el anticuerpo AAB-003 tiene una capacidad reducida para inducir la fagocitosis y la cascada complementaria. Además, AAB-003 muestra menos enlaces al FcγRIII humano que un anticuerpo que de otra forma es idéntico con menos de tres mutaciones presentes en AAB-003 (por ejemplo, una con sustituciones en los residuos 234 y 237), indicando que todas las tres mutaciones en la región Fc de AAB-003 contribuyen para reducir la función ejecutora. Una mutación de la región constante de cadena pesada para reducir la interacción con los receptores Fcγ y/o C1q puede reducir las microhemorragias en un modelo de ratones sin eliminar actividades útiles. Las microhemorragias en ratones son un factor que puede contribuir a que ocurran edemas vasogénicos en humanos. Los anticuerpos que portan aquellas mutaciones retienen la habilidad para inhibir el declive cognitivo así como la habilidad para despejar depósitos de amiloides.

65

[0124] Asimismo, las votaciones de la región constante de la cadena pesada también pueden combinarse con las secuencias de región variables ya descritas. La siguiente tabla muestra ejemplos de combinaciones de regiones variables de cadenas pesadas y regiones constantes de cadenas pesadas con mutaciones para los anticuerpos descritos anteriormente. Las cadenas pesadas mostradas en la tabla para un anticuerpo en particular, pueden ser emparejadas con cualquiera de las regiones variables de cadenas ligeras ya descritas para aquel anticuerpo enlazado a una región constante de cadenas ligeras (por ejemplo, una región constante de cadenas ligeras kappa humana a continuación:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG

EC (SEC ID NO: 85)

O uno de sus alotipos o isoalotipos.

Tabla 1

Correlación de los números de identificación secuencial de cadenas pesadas de longitud completa con las variables respectivas y los números de identificación secuenciales de las regiones constantes		
Anticuerpos	Región variable de cadenas pesadas	Región constante de cadenas pesadas
3D6 (versión 4)	72	50
	72	51
	72	56
	72	57
	72	62
	72	63

[0125] Los aminoácidos en la región constante están enumerados por la alineación con el anticuerpo humano EU (refiérase a, Cunningham et al., J. Biol. Chem., 9, 3161 (1970)). Eso es, cadenas pesadas y ligeras de un anticuerpo se alivian con las cadenas pesadas y ligeras de EU para maximizar la identidad secuencial de los aminoácidos y cada aminoácido en el anticuerpo se le asigna el mismo número de aminoácido correspondiente en EU. El sistema de numeración EU es convencional (refiérase, generalmente a Kabat et al. Sequences of Protein of Immunological Interest (Secuencias de Proteínas de Interés Inmunológico), NIH publicación No. 91-3242, US, Department of Health and Human Services (Departamento de Salud y Servicios Humanos de Estados Unidos) (1991)).

[0126] La afinidad de un anticuerpo para complementar al componente C1q puede alterarse al mutar por lo menos uno de los residuos de aminoácidos 318, 320, y 322 de la cadena pesada a un residuo que tiene una cadena lateral diferente. Otras alteraciones adecuadas son, por ejemplo, para reducir o abolir, enlaces de C1q específicos a un anticuerpo incluyen el cambio de cualquiera de los residuos 318 (Glu), 320 (Lys) y 322 (Lys), a Ala. La actividad de enlace de C1q puede ser abolida al reemplazar cualquiera de los tres residuos especificados con un residuo que tiene una funcionalidad inapropiada en su cadena lateral. No es necesario reemplazar los residuos iónicos solamente con Ala para abolir los enlaces C1q. También es posible el utilizar otros residuos no iónicos sustituidos por alquilo, tales como Gly, Ile, Leu, o Val, o aquellos residuos aromáticos no polares tales como Phe, Tyr, Trp y Pro en lugar de cualquiera de los tres residuos para abolir enlaces C1q. Adicionalmente, también es posible utilizar aquellos residuos polares no iónicos tales como Ser, Thr, Cys, y Met en el lugar de los residuos 320 y 322, pero no 318, para abolir la actividad de enlaces de C1q. El reemplazo del residuo 318 (Glu) por un residuo polar podría modificar pero no abolir la actividad de enlaces de C1q. Al reemplazar el residuo 297 (Asn) con Ala esto resulta en la remoción de la actividad lítica mientras se reduce ligeramente (alrededor de tres veces más débil) la afinidad para C1q. Esta alteración destruye el lugar de glicosilación y la presencia del carbohidrato que es requerida para la activación complementaria. Cualquier otra sustitución en este lugar también destruye el lugar de glicosilación.

[0127] Mutaciones adicionales que pueden afectar los enlaces de C1q a la región constante del IgG1 humano incluyen aquellas descritas, por ejemplo, en WO 06/036291. En este caso, por lo menos una de las siguientes sustituciones puede realizarse para reducir los enlaces C1q: D270A, K322A, P329A, y P311S. Cada una de estas mutaciones, incluyendo a aquellos residuos 297, 318, y 320 pueden ser hechas individualmente o en una combinación.

[0128] Los anticuerpos con mutaciones en la región constante de cadenas pesadas que reducen los enlaces de los receptores Fcγ y/o C1q pueden ser utilizados en cualquiera de los métodos del invento. Preferiblemente, aquellos

anticuerpos tienen enlaces reducidos en relación a un anticuerpo que de otra forma sería idéntico que no tiene la mutación de por lo menos el 50% a por lo menos un receptor Fcγ y/o a C1q.

V. Pacientes susceptibles al tratamiento

5
 10
 15
 20
 25

[0129] Los regímenes presentados son útiles para el tratamiento de cualquier enfermedad caracterizada por depósitos de amiloides de Aβ en el cerebro. En la misma forma que en la enfermedad de Alzheimer, aquellas enfermedades incluyen al síndrome de Down, la enfermedad de Parkinson, discapacidad cognitiva moderada y enfermedad de amiloides vasculares. Pacientes susceptibles al tratamiento incluyen individuos con el riesgo de enfermedad pero que no muestran síntomas, así como pacientes que en la actualidad presentan síntomas. En el caso de la enfermedad de Alzheimer, virtualmente cualquier persona tiene el riesgo de sufrir de la enfermedad de Alzheimer si es que él o ella viven lo suficiente. Por lo tanto, estos métodos pueden ser administrados profilácticamente a la población en general sin la necesidad de cualquier evaluación del riesgo del paciente sujeto. Estos métodos pueden ser útiles para individuos que tienen un riesgo genético conocido de la enfermedad de Alzheimer. Aquellos individuos incluyen personas que tienen parientes que han experimentado esta enfermedad, y aquellos cuyo riesgo es determinado por medio del análisis de marcadores genéticos o bioquímicos. Los marcadores genéticos de riesgo para contraer la enfermedad de Alzheimer incluyen mutaciones del gen de la APP, particularmente mutaciones en la posición 717 y las posiciones 670 y 671 denominadas las mutaciones Hardy (Robusta) y Swedish (Sueca) respectivamente (refiérase a Hardy, mencionado anteriormente). Otros marcadores de riesgo son las mutaciones en los genes de Presenilina, PS1 y PS2 y ApoE4, la historia familiar de AD, hipercolesterolemia o aterosclerosis. Los individuos que actualmente sufren de la enfermedad de Alzheimer pueden ser reconocidos por la demencia característica, así como la presencia de los factores de riesgo ya descritos. Adicionalmente, un número de pruebas de diagnóstico son disponibles para identificar individuos que tienen AD. Estos incluyen la medición de los niveles de CSF tau y Aβ42. Niveles elevados de tau y reducidos de Aβ42 significa la presencia de AD. Individuos que sufren de la enfermedad de Alzheimer también pueden ser diagnosticados por los criterios ADRDA tal como se menciona en la sección de ejemplos.

30
 35

[0130] En pacientes asintomáticos, el tratamiento puede empezar a cualquier edad (por ejemplo, 10, 20, 30). Usualmente, sin embargo, no es necesario empezar el tratamiento hasta que un paciente alcanza los 40, 50, 60 o 70 años de edad. El tratamiento típicamente abarca varias dosis durante un periodo de tiempo. El tratamiento puede ser monitoreado mediante ensayos de los niveles de anticuerpos a lo largo del tiempo. Si la respuesta cae, se indica una dosis de refuerzo. En el caso de pacientes potenciales de síndrome de Down, el tratamiento puede empezar antes del nacimiento por medio de la administración del reactivo terapéutico a la madre o justo después del nacimiento.

40
 45

[0131] Los pacientes susceptibles al tratamiento incluyen personas de 50 a 87 años de edad, pacientes que sufren de la enfermedad de Alzheimer en una forma ligera a moderada, pacientes que tienen un puntaje MMSE de 14-26, pacientes que tienen una diagnosis de probable enfermedad de Alzheimer que se basa en los criterios de Enfermedades y Traumas Neurológicos y Comunicativos - las Enfermedades Relacionadas a la Enfermedad de Alzheimer (NINCDS-AD/DA - Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's disease Related Disorders), y/o pacientes que tienen un puntaje isquémico de Hachinski modificado por Rosen de por lo menos o igual a 4. Pacientes con MRI, una detección consistente de los diagnósticos de la enfermedad de Alzheimer, es decir, que no existen otras anomalías presentes en el MRI que pudiesen ser atribuidas a otras enfermedades, por ejemplo, infarto, lesión cerebral traumática, quistes aracnoideos, tumores, etc. también son susceptibles al tratamiento.

VI. Regímenes de tratamiento

50
 55

[0132] En aplicaciones, reactivos, composiciones farmacéuticos profilácticos o medicamentos que los contienen son administrados a un paciente sujeto libre, o con el riesgo de la enfermedad de Alzheimer en un monto suficiente para eliminar o reducir el riesgo, reducir la severidad o retrasar el inicio de la enfermedad, incluyendo los síntomas bioquímicos, histológicos y/o de comportamiento de la enfermedad, sus complicaciones y fenotipos patológicos intermedios que se presentan durante el desarrollo de la enfermedad. Las aplicaciones, composiciones o medicamentos terapéuticos son administrados a un paciente que se sospecha o que ya sufre de aquella enfermedad en un monto suficiente para curar, o por lo menos neutralizar parcialmente, los síntomas de la enfermedad (bioquímicos, histológicos y/o de comportamiento), incluyendo sus complicaciones y fenotipos patológicos intermedios en el desarrollo de la enfermedad.

60

[0133] Las dosis efectivas de las composiciones de este invento, para el tratamiento de las condiciones ya descritas varían dependiendo de muchos factores diferentes, incluyendo los medios de administración, el lugar objetivo, el estado fisiológico del paciente, si es que el paciente es un humano o un animal, otras medicaciones administradas y si es que el tratamiento es profiláctico o terapéutico.

65

[0134] Opcionalmente, los anticuerpos son administrados para lograr una concentración sérica media de los anticuerpos administrados de 0.1-60, 0.4-20, o 1-15 mg/ml en un paciente. Estos rangos dan soporte a las concentraciones efectivas demostradas en ratones y humanos dando un margen de error en las medidas y en la

variación de los pacientes individuales. La concentración sérica puede determinarse por una medición real o pronosticada a partir de farmacocinética estándar (por ejemplo, WinNonline Versión 4.0.1 (Pharsight Corporation, Cary, EE.UU.)) que se basa en el monto de anticuerpos administrado, la frecuencia de administración, la ruta de administración y la vida media de los anticuerpos.

5 **[0135]** La concentración media de anticuerpos en el suero está opcionalmente dentro de un rango de 1-10, 1-5 o 2-4 µg /ml. También es opcional el mantener una concentración sérica máxima de los anticuerpos en el paciente que sea menor a alrededor de 28 µg de anticuerpos por mililitro de suero para maximizar el beneficio terapéutico en relación a la ocurrencia de posibles efectos colaterales, particularmente edema vascular. Una concentración sérica máxima preferida está dentro de un rango de alrededor de 4-28 µg de anticuerpos/mililitro de suero. La combinación de suero máximo menor a alrededor de 28 µg de anticuerpos/mililitros de suero y una concentración sérica media del anticuerpo en el paciente es por debajo de alrededor de 7 µg de anticuerpos/mililitro de suero es particularmente beneficiosa. Opcionalmente, la concentración media está dentro de un rango de alrededor de 2-7 microgramos de anticuerpos/mililitros de suero.

10 **[0136]** La concentración de Aβ en plasma seguida por la administración de anticuerpos cambia dramáticamente en paralelo con los cambios de la concentración sérica de anticuerpos. Es decir, la concentración de plasma de Aβ está a niveles más altos después de una dosis de anticuerpos y luego se reduce cuando la concentración de anticuerpos se reduce entre dosis. La dosis y el régimen de administración de anticuerpos puede ser variada para obtener un nivel deseado de Aβ en el plasma. En aquellos métodos, la concentración media de plasma de anticuerpos puede ser por lo menos 450 pg/ml o, por ejemplo, dentro del rango de 600-30,000 pg/ml o 700-2000 pg/ml u 800-1000 pg/ml.

15 **[0137]** Los rangos de dosis preferidos para anticuerpos son de alrededor de 0.01 a 5 miligramos/kilogramo, y más usualmente 0.1 a 3 miligramos/kilogramo o 0.15-2 miligramos/kilogramo o 0.15-1.5 miligramos/kilogramo, de la masa corporal anfitriona. A sujetos se les puede administrar aquellas dosis diariamente, saltando un día, semanalmente, cada dos semanas, mensualmente, cada trimestre o de acuerdo a cualquier otro cronograma determinado por un análisis empírico. Un ejemplo de tratamiento abarca la administración en varias dosis durante un período prolongado de tiempo, por ejemplo, de por lo menos 6 meses. Ejemplos adicionales de regímenes de tratamiento abarcan la administración una vez cada dos semanas o una vez al mes o una vez cada tres a seis meses.

20 **[0138]** Para la administración intravenosa, las dosis de 0.1 miligramos/kilogramo a 2 miligramos/kilogramo, y preferiblemente 0.5 miligramos/kilogramo o 1.5 miligramos/kilogramo administradas intravenosamente trimestralmente son adecuadas. Dosis preferidas de anticuerpos para una administración intravenosa mensualmente ocurren en el rango de 0.1-1.0 miligramos/kilogramos de anticuerpos o preferiblemente 0.5-1.0 miligramos/kilogramos de anticuerpos.

25 **[0139]** Para dosis más frecuentes, por ejemplo, desde dosis semanales a mensuales, la administración subcutánea es preferida. Dosis subcutáneas son más fáciles de administrar y pueden reducir las concentraciones séricas máximas en relación a dosis intravenosas. Las dosis utilizadas para dosis subcutáneas están usualmente en el rango de 0.01 a 0.6 miligramos/kilogramos o 0.01-0.35 miligramos/kilogramos, preferiblemente, 0.05-0.25 miligramos/kilogramos. Para dosis semanales o de cada dos semanas, la dosis es preferiblemente en el rango de 0.015-0.2 miligramos/kilogramos, o 0.05-0.15 miligramos/kilogramos. Para dosis mensuales, la dosis es preferiblemente 0.05 a 0.07 miligramos/kilogramos, por ejemplo, alrededor de 0.06 miligramos/kilogramos. Para dosis cada dos semanas, la dosis es preferiblemente 0.1 a 0.15 miligramos/kilogramos. Para dosis mensuales, la dosis es preferible entre 0.1 a 0.3 miligramos/kilogramos o alrededor de 0.2 miligramos/kilogramos. Las dosis mensuales incluyen dosis por medio de un mes calendario o un mes lunar (es decir, cada cuatro semanas). Aquí, como en otras secciones de la aplicación, las dosis expresadas en miligramos/kilogramos pueden ser convertidas a dosis de masa absolutas al multiplicar por la masa de un paciente típico (por ejemplo, 70 a 75 kg) redondeando típicamente un número entero. Otros regímenes son descritos por, por ejemplo, PCT/US2007/009499. La dosis y frecuencia pueden variar dentro de estas guías basándose en el Estado ApoE del paciente tal como ya se mencionó.

VII. Ejemplos de regímenes que dependen del estado del portador

30 **[0140]** La presentación suministra métodos para el tratamiento de pacientes no portadores que tienen la enfermedad de Alzheimer (por ejemplo, leves o moderados) en los cuales un régimen efectivo de un anticuerpo que se enlaza específicamente a un epítope de la terminal N de Aβ es administrado a un paciente. El anticuerpo puede, por ejemplo, enlazarse a un epítope dentro de los residuos 1-11, 1-7, 1-5, o 3-7 de Aβ. Opcionalmente, el anticuerpo es bapineuzumab. La dosis del anticuerpo puede ser dentro del rango de alrededor de 0.15 miligramos/kilogramos a 2 miligramos/kilogramos administrados por infusión intravenosa. Opcionalmente, la dosis es de alrededor de 0.5 miligramos/kilogramos a alrededor de 1 mg/kilogramos. La dosis puede ser administrada, por ejemplo, cada 8-16 semanas, cada 1-14 semanas o cada 13 semanas.

35 **[0141]** La presentación también suministra métodos para reducir el declive cognitiva en un paciente no portador que ha sido diagnosticado con la enfermedad de Alzheimer en una forma leve o moderada. El método abarca la administración de un régimen efectivo de anticuerpos que se enlazan específicamente a un epítope de la terminal N

de A β a aquel paciente. El anticuerpo puede, por ejemplo, enlazarse a un epítoto dentro de los residuos 1-11, 1-7, 1-5, o 3-7 de A β . Opcionalmente, el anticuerpo es bapineuzumab. La dosis del anticuerpo puede estar dentro de un rango de alrededor de 0.15 miligramos/kilogramos a 2 miligramos/kilogramos administrados por medio de una infusión intravenosa. Opcionalmente, la dosis es de alrededor de 0.5 miligramos/kilogramos a alrededor de 1 miligramo/kilogramos. Las dosis pueden ser administradas, por ejemplo, cada 8-16 semanas, cada 1-14 semanas o cada 13 semanas. La reducción cognitiva puede ser medida al comparar al paciente que está siendo tratado con la reducción cognitiva en una población de pacientes de control también de estado de no portadores y que tienen la enfermedad de Alzheimer en una forma leve o moderada (por ejemplo, una población de control en un ensayo clínico). La capacidad cognitiva puede ser medida por medio de escalas tales como ADAS-COG, NTB, MMSE o CDRSB. La tasa de cambio en una escala como esas (puntos al pasar del tiempo) en un paciente pueden compararse con la reducción media en una población de pacientes de control tal como ya se mencionó.

[0142] La presentación también suministra métodos para reducir el declive del volumen cerebral en un paciente no portador que ha sido diagnosticado con la enfermedad de Alzheimer en una forma leve o moderada. El método abarca la administración de un régimen efectivo de un anticuerpo que se enlaza específicamente a un epítoto de la terminal N de A β a aquel paciente. El anticuerpo puede, por ejemplo, enlazarse a un epítoto dentro de los residuos 1-11, 1-7, 1-5, o 3-7 de A β . Opcionalmente, el anticuerpo puede ser bapineuzumab. La dosis del anticuerpo puede estar dentro de un rango de alrededor de 0.15 miligramos/kilogramos a 2 miligramos/kilogramos administrados por medio de una infusión intravenosa. Opcionalmente, la dosis es de alrededor de 0.5 miligramos/kilogramos a alrededor de 1 miligramo/kilogramos. La dosis puede ser administrada, por ejemplo, cada 8-16 semanas, cada 1-14 semanas o cada 13 semanas. El volumen cerebral puede ser medido por medio de MRIs. Cambios en el volumen cerebral en un paciente pueden compararse con la media de reducción en volúmenes cerebrales en una población de pacientes de control que también tengan el estado de no portadores y que tengan la enfermedad de Alzheimer en una forma leve o moderada (por ejemplo, una población de control en un ensayo clínico).

[0143] La presentación también suministra métodos para el tratamiento de pacientes no portadores que tienen la enfermedad de Alzheimer (por ejemplo, en una forma leve o moderada) en los cuales un régimen de un anticuerpo que se enlaza específicamente a un epítoto de la terminal N de A β es administrado a aquel paciente. El régimen es efectivo para mantener una concentración sérica media del anticuerpo en el rango de alrededor de 0.1 μ g/mililitros alrededor de 60 μ g/mililitros, opcionalmente 0.4-20 o 1-5 microgramos/mililitros. Adicionalmente o alternativamente, el régimen es administrado para mantener una concentración media de plasma de A β de 600-3000 pg/mililitros, 700-2000 pg/ml o 800-100 pg/ml. Opcionalmente, el anticuerpo en aquellos métodos puede ser bapineuzumab.

[0144] La presentación también suministra métodos para el tratamiento de un paciente que es un portador ApoE4 y tiene enfermedad de Alzheimer donde el anticuerpo administrado tiene una mutación de la región constante que reduce los enlaces a C1q y/o los receptores Fc γ . Opcionalmente, el anticuerpo es uno que se enlaza a un epítoto dentro de una región de la terminal N de A β . Opcionalmente, el anticuerpo puede ser AAB-003. Opcionalmente, el paciente puede ser monitoreado, por ejemplo, trimestralmente, por medio de MRIs para detectar edemas vasogénicos. Si se desarrolla un edema vasogénico la frecuencia o la dosis pueden ser reducidas o eliminadas. El edema vasogénico puede ser tratado opcionalmente con un corticosteroide. Después de la resolución del edema vasogénico, la administración del tratamiento puede ser reanudada. Opcionalmente, la dosis se incrementa al pasar del tiempo.

[0145] La presentación también suministra métodos para el tratamiento de un paciente diagnosticado con una probable enfermedad de Alzheimer, sin importar el estado ApoE4. En aquellos métodos, se administra un régimen efectivo de un anticuerpo que se enlaza específicamente a una región de la terminal N de A β . El anticuerpo tiene una mutación de la región constante que reduce los enlaces a C1q y/o los receptores Fc γ en comparación a un anticuerpo que de otra forma sería idéntico pero sin la mutación. Opcionalmente, el anticuerpo es uno que se enlaza a un epítoto dentro de una región de la terminal N de A β . Opcionalmente, el anticuerpo es AAB-003. Opcionalmente, los pacientes son monitoreados, por ejemplo, trimestralmente, por medio de MRI para detectar edemas vasogénicos. Si se desarrolla el edema vasogénico la frecuencia o dosis puede ser reducida o eliminada. El edema vasogénico puede ser tratado opcionalmente con un corticosteroide. Después de la resolución el edema vasogénico, la administración del tratamiento puede ser reanudada. Opcionalmente, la dosis es incrementada durante el tiempo después de la resolución del edema vasogénico.

[0146] La presentación suministra métodos para tratar un paciente portador de ApoE con la enfermedad de Alzheimer que comprende la administración subcutánea a un paciente que tiene la enfermedad con un anticuerpo que se enlaza a un epítoto de la terminal N de A β . Opcionalmente, el anticuerpo es administrado a una dosis de 0.01-0.6 miligramos/kilogramos y una frecuencia semanal o mensual. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado en una dosis de 0.05-0.5 miligramos/kilogramos. Opcionalmente el anticuerpo es administrado en una dosis de 0.05-0.25 miligramos/kilogramos. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado en una dosis de 0.015-0.2 miligramos/kilogramos semanalmente o cada dos semanas. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado en una dosis de 0.05-0.15 miligramos/kilogramos semanalmente o cada dos semanas. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado en una dosis de 0.05-0.07 miligramos/kilogramos semanalmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado en una dosis de 0.06 miligramos/kilogramos semanalmente. Opcionalmente el anticuerpo es administrado en una dosis de 0.1 a 0.15 miligramos/kilogramos cada dos semanas. Opcionalmente, el anticuerpo es

administrado en una dosis de 0.1 a 0.3 miligramos/kilogramos mensualmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado en una dosis de 0.2 mg/kilogramos mensualmente.

5 **[0147]** La presentación también suministra métodos para el tratamiento de un paciente portador de ApoE4 que tiene la enfermedad de Alzheimer que comprende la administración subcutánea a un paciente que tiene la enfermedad, un anticuerpo que se enlaza específicamente a un fragmento de la terminal N de A β , donde el anticuerpo es administrado a una dosis de 1-40 mg y una frecuencia semanal o mensual. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado en una dosis de 5-25 mg. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado en una dosis de 2.5-15 mg. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado en una dosis de 1-12 mg semanalmente o cada dos semanas.
10 Opcionalmente, el anticuerpo es administrado en una dosis de 2.5-10 mg. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado en una dosis de 2.5-5 mg semanalmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado en una dosis de 4-5 miligramos semanalmente. Opcionalmente, el anticuerpo es administrado en una dosis de 7-10 miligramos cada dos semanas.

15 VIII. Composiciones farmacéuticas

[0148] Los reactivos del invento son administrados a menudo como composiciones farmacéuticas que comprenden un reactivo terapéutico, es decir, y una variedad de otros componentes farmacéuticamente aceptables. Refiérase a, Remington's Pharmaceutical Science (Ciencia Farmacéutica de Remington) (15ta ed., Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania (1980)). La forma preferida depende de la modalidad que se tenga en mente para la administración y la aplicación terapéutica. Las composiciones también pueden incluir, dependiendo de la formulación deseada, portadores o diluyentes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son definidos como vehículos usados comúnmente para formular composiciones farmacéuticas para la administración animal o humana. El diluyente es seleccionado para no afectar la actividad biológica de la combinación. Ejemplos de aquellos diluyentes son agua destilada, tampón de fosfato salino fisiológico, soluciones de Ringer, solución de dextrosa, y la solución de Hank. Adicionalmente, la composición o formulación farmacéutica podría incluir también otros portadores, adyuvantes o estabilizadores no tóxicos, no terapéuticos y no inmunogénicos y similares.

30 **[0149]** Las composiciones farmacéuticas también suelen incluir moléculas grandes de lenta metabolización tales como proteínas, polisacáridos tales como quitosano, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos y copolímeros (tales como Sepharose(TM), agarosa, celulosa y similares), aminoácidos poliméricos, aminoácidos copolímeros, y aglutinamientos de lípidos (tales como gotas o liposomas). Adicionalmente, estos portadores pueden funcionar como agentes inmunoestimuladores (es decir adyuvantes).

35 **[0150]** Los reactivos son administrados típicamente parenteralmente. Los anticuerpos son administrados usualmente intravenosamente o subcutáneamente. Los reactivos para inducir una respuesta inmunoactiva son administrados usualmente subcutáneamente o intramuscularmente. Para la administración parenteral los reactivos del invento pueden ser administrados como dosis inyectables de una solución o suspensión de la sustancia en un diluyente fisiológicamente aceptable con un portador farmacéutico que puede ser un líquido estéril tal como aceites de agua, soluciones salinas, glicerol o etanol. Adicionalmente, sustancias auxiliares, tales como reactivos humectantes o, emulsionantes, surfactantes, sustancias amortiguadoras del pH y similares pueden estar presentes en las composiciones. Otros componentes de composiciones farmacéuticas son aquellos de origen del petróleo, animales, vegetales o sintéticos, por ejemplo, aceite de nueces, aceite de soya y aceite mineral. En general, los glicoles tales como propilenglicol o polietilenglicol son los portadores líquidos preferidos, particularmente para soluciones inyectables. Los anticuerpos pueden ser administrados en la forma de una inyección de depósito o una preparación de implante, que puede ser formulada en una manera tal que permita la liberación sostenida de un ingrediente activo.

50 **[0151]** Algunas formulaciones preferidas son descritas en US 20060193850. Una formulación preferida tiene un pH de alrededor de 5.5 a 6.5, que comprende i. Por lo menos un anticuerpo A β a una concentración de alrededor de 1 miligramo/mililitro a 20 mg/mililitros; ii. Manitol a una concentración de alrededor de 4% masa/volumen o NaCl a una concentración de alrededor de 150 mM; iii. Alrededor de 5mM a alrededor de 10 mM de histidina o succinato; e iv. 10 mM de tiamina. Opcionalmente, la formulación también incluye polisorbato 80 a una concentración de alrededor de 0.001 por ciento masa/volumen a 0.01 por ciento masa/volumen. Opcionalmente, la formulación tiene un pH de alrededor de 6.0 a alrededor de 6.5 y comprende alrededor de 10 mg/mililitros de anticuerpos A β , alrededor de 10 mM de histidina y alrededor de 4% masa/volumen de manitol y alrededor de 0.005 por ciento masa/volumen de polisorbato 80. Opcionalmente, la formulación tiene un pH de alrededor de 6.0 a 6.2 y comprende alrededor de 20 mg/mililitros de anticuerpos A β , alrededor de 10 mM de histidina, alrededor de 4% masa/volumen de manitol y alrededor de 0.005 por ciento masa/volumen de polisorbato 80. Opcionalmente, la formulación tiene un pH de alrededor de 6.0 a 6.2 y comprende alrededor de 30 mg/mililitros de anticuerpos A β , alrededor de 10 mM de histidina, alrededor de 4% masa/volumen de manitol y alrededor de 0.005 por ciento masa/volumen de polisorbato 80.

65 **[0152]** Comúnmente, las composiciones o preparadas como inyectables, ya sea en soluciones o suspensiones líquidas; formas sólidas adecuadas para mezclarse con soluciones o suspensiones en vehículos líquidos previo a su inyección también pueden ser preparados. La preparación también puede ser emulsionada o encapsulada en

liposomas o micropartículas tales como polilactidas, poliglicólidos, o copolímeros para un efecto ayudante mejorado, como ya se mencionó (referirse a, Langer, Science (Ciencia) 249: 1527 (1990) y Hanes, Advanced Drug Delivery Reviews (Revisiónes Avanzadas de Entrega de Medicamentos) 28:97 (1997)). Los reactivos de este invento pueden ser administrados en la forma de una inyección de depósito o una preparación de implante, que pueden ser formuladas de tal forma que permitan una liberación sostenida o pulsátil del ingrediente activo.

[0153] Formulaciones adicionales adecuadas para otras modalidades de administración incluyen formulaciones orales, intranasales y pulmonares, supositorios y aplicaciones transdérmicas. Para supositorios, aglutinantes y portadores, por ejemplo, polialquilenglicoles o triglicéridos; aquellos supositorios pueden ser formados de mezclas que contienen el ingrediente activo en el rango de 0.5 por ciento al 10%, preferiblemente 1% - 2%. Las formulaciones orales incluyen excipientes, tales como grados farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina de sodio, celulosa y carbonato de magnesio. Estas composiciones toman la forma de soluciones, suspensiones, tabletas, pastillas, cápsulas, formulaciones de liberación sostenida o polvos y contienen 10%-95% de ingredientes activos, preferiblemente del 25%-70%.

X. Anticuerpos con la región constante de IgG1 mutada

[0154] La presentación suministra una región constante de IgG1 humana, en la cual los aminoácidos en las posiciones 234, 235, y 237 (numeración EU) son cada una alanina y anticuerpos aislados o proteínas de fusión que contienen una de esas regiones constantes. Aquellos anticuerpos incluyen anticuerpos humanos, anticuerpos humanizados y anticuerpos quiméricos tal como ya se describió. Ejemplos de aquellos anticuerpos incluyen anticuerpos a A β , anticuerpos al antígeno Lewis Y y el antígeno tumoral 5T4, tal como es descrito en los ejemplos. Las proteínas de fusión incluyen los dominios extracelulares de los receptores (por ejemplo, el receptor TNF- alfa) enlazados a una región constante. Los métodos para fusionar o conjugar polipéptidos a las regiones constantes de anticuerpos son descritas por, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos números 5,336,603, 5,622,929, 5,359,046, 5,349,053, 5,447,851, 5,723,125, 5,783,181, 5,908,626, 5,844,095, 5,112,946; EP 0 307 434; EP 0 367 166; EP 0 394 827).

[0155] Los anticuerpos o proteínas de fusión que incorporan a estas mutaciones pueden ofrecer ventajas del isotipo IgG1 incluyendo farmacocinética y facilidad de manufactura, pero también tienen una función ejecutora reducida o eliminada en relación a un anticuerpo que de otra forma sería idéntico que no tiene estas mutaciones. La función ejecutora es deshabilitada comúnmente en lo que se refiere a enlaces a uno o más receptores Fc gamma, enlaces a C1Q, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos y/o actividad complementaria dependiente de anticuerpos. En algunos anticuerpos, todas estas actividades son reducidas o eliminadas. Una actividad es considerada eliminada si no existe una diferencia detectable entre errores experimentales en esa actividad entre un anticuerpo que tiene las tres mutaciones mencionadas anteriormente y un anticuerpo de control que de otra forma sería idéntico sin las mutaciones.

[0156] Comúnmente, una región constante mutada incluye a los dominios CH1, de charnela, CH2 y CH3. Sin embargo, el dominio CH1 es reemplazado a veces particularmente en las proteínas de fusión con un enlazador sintético. Algunas regiones constantes contienen una región constante de IgG1 de tamaño completo con la posible excepción de un residuo de lisina de la terminal C. Ejemplos de secuencias de una región constante mutada son suministrados por las identificaciones secuenciales números: 62 y 63. Estas secuencias difieren en que las 62 contiene una lisina en la terminal C que no está presente en la 63.

[0157] Las secuencias 62 y 63 representan el alotipo G1mz de IgG1 humano. Otros ejemplos de alotipos ya fueron suministrados anteriormente. Los alotipos son variaciones polimórficas naturales en la región constante de IgG1 humana que varía entre individuos diferentes en la posición polimórfica. El alotipo G1mz tiene Glu en la posición 356 y Met en la posición 358.

[0158] Otras variantes alotípicas de las identificaciones secuenciales números: 62 y 63 están incluidas. También incluidas están las regiones constantes de IgG1 humanas que tienen residuos de alanina en las posiciones 234, 235 y 237 y cualquier permutación de residuos que ocupan las posiciones polimórficas en los alotipos naturales.

[0159] Las regiones constantes de IgG1 mutadas que tienen alanina en las posiciones 234, 235 y 237 pueden tener mutaciones adicionales presentes en relación a una región constante IgG1 humana. Como un ejemplo, en el cual mutaciones adicionales pueden estar presentes, mutaciones de alanina en las posiciones 234, 235 y 237 pueden ser combinadas con mutaciones en las posiciones 428 y/o 250 tal como se describe en US 7,365,168. Las mutaciones en las posiciones 428 y 250 pueden resultar en un incremento en la vida media. Mutaciones adicionales que pueden ser combinadas con mutaciones en las posiciones 234, 235 y 237 han sido descritas en la sección IV A en conexión con anticuerpos que enlazan a A β . Algunas de aquellas regiones constantes no tienen mutaciones adicionales presentes. Algunas de aquellas regiones no tienen mutaciones adicionales presentes en y alrededor de las regiones de la región constante de IgG1 que afecta al receptor gama Fc y/o los enlaces complementarios (por ejemplo, los residuos 230-240 y 325-325 con la numeración EU). La misión de un residuo de lisina de la terminal C por medio de procesamiento intracelular no es considerado una mutación. Asimismo, aminoácidos que ocurren naturalmente que

ocupan lugares polimórficos que se diferencian entre alotipos son considerados naturales y no aminoácidos mutantes.

XI. Modelos experimentales, ensayos y diagnósticos

5

A. Modelos animales

[0160] Aquellos modelos incluyen, por ejemplo, ratones portadores de la mutación 717 (numeración APP770) de APP descrita por Games et al., mencionada anteriormente, y ratones portadores de una mutación sueca 670/671 (numeración APP770) de APP tal como la descrita por McConlogue et al., US 5,612,486 y Hsiao et al., Science (Ciencia), 274, 99 (1996); Staufenbiel et al., Proc. Natl. Acad. Sci. Estados Unidos, 94:13287-13292 (1997); Sturchler-Pierrat et al., Proc. Natl. Acad. Sci. Estados Unidos, 94:13287-13292 (1997); Borchelt et al., Neuron (Neurona), 19:939-945 (1997); Richards et al., J. Neurosci. 23:8989-9003, 2003; Cheng, Nat Med. 10(11): 1190-2, 2004 Hwang et al., Exp Neurol. 2004 Mar.. Mutaciones de APP apropiadas para su inclusión en animales transgénicos incluyen la conversión del codón Val717 de tipo silvestre (numeración APP770) a un codón para Ile, Phe, Gly, Tyr, Leu, Ala, Pro, Trp, Met, Ser, Thr, Asn, o Gln. Una sustitución preferida para Val717 es Phe. Otra mutación adecuada es la mutación ártica E693G (numeración APP770). El ratón PSAPP, que tiene una proteína precursora y transgenes de presenilina, descrita por Takeuchi et al., American Journal of Pathology (Revista Americana de Patología). 2000;157:331-339. Un ratón transgénico triple que tiene una proteína precursora amiloide, presenilina y transgenes tau es descrita por LaFerla, (2003), Neuron (Neurona) 39, 409-421. Otro ratón transgénico útil tiene transgenes APP y TGF-β. Las secuencias codificantes proteínicas en los transgenes tienen un enlace operacional con uno o más elementos regulatorios adecuados para la expresión neural. Aquellos elementos incluyen al PDGF, proteína priónica y los promotores Thy-1. Otro ratón transgénico útil tiene un transgen APP con las votaciones sueca y 717. Otro ratón transgénico útil tiene un transgén APP con una mutación ártica (E693G).

25

B. Ensayos para detectar patologías relacionadas de amiloides

[0161] *Ensayos de acondicionamiento de temor contextual.* El acondicionamiento o de temor contextual (CFC - Contextual fear conditioning) es una forma de aprendizaje que es excepcionalmente confiable y rápidamente adquirida en la mayoría animales, por ejemplo, los mamíferos. Los animales de nueva aprenden a tener un estímulo y/o entorno neutral previo por su asociación con una experiencia significativa. (Refiérase, por ejemplo, a Fanselow, Anim. Learn. Behav. 18:264-270 (1990); Wehner et al., Nature Genet. 17:331-334. (1997); Caldarone et al., Nature Genet. 17:335-337 (1997)).

[0162] El acondicionamiento de temor contextual es especialmente útil para determinar la función o disfunción cognitiva, por ejemplo, como un resultado de una enfermedad o de un trastorno, tal como una enfermedad o trastorno neurodegenerativo, una enfermedad o trastorno relacionado con Aβ, una enfermedad o trastorno amiloidogénico, la presencia de una alteración genética no favorable que tiene efectos en la función cognitiva (por ejemplo, mutación genética, ruptura genética o un genotipo no deseado) y/o la eficacia de un reactivo, por ejemplo, un reactivo de conjugación Aβ, en la habilidad cognitiva. Asimismo, el ensayo CFC suministra un método para pruebas independientes y/o la validación del efecto terapéutico de reactivos para prevenir o tratar enfermedades o trastornos cognitivos, y en particular, una enfermedad o trastorno que afecta a una o más regiones del cerebro, por ejemplo, el hipocampo, el subículo, corteza cingulada, corteza prefrontal, corteza perirrinal, corteza sensorial y el lóbulo temporal medio (refiérase a US 2008145373).

45

C. Ensayos de fagocitosis para determinar la función ejecutora de los anticuerpos

[0163] Los anticuerpos pueden ser examinados para despejar un depósito de amiloides en un ensayo ex vivo. Una muestra de tejidos de un cerebro de un paciente con la enfermedad de Alzheimer o un modelo animal que tiene la patología característica de Alzheimer es contactada con células fagocíticas portadoras de un receptor Fcy, tal como células microgliales y el anticuerpo que está siendo probado en un medio in vitro. Las células fagocíticas pueden ser un cultivo primario o una línea celular, tal como BV-2, C8-B4, o THP-1. Una serie de medidas son hechas del monto del depósito de amiloides en la mezcla de reacción, que empieza de un valor de línea base antes que la reacción haya procedido, y uno o más valores de prueba durante la reacción. El antígeno puede ser detectado al colorar, por ejemplo, con un anticuerpo marcado fluorescentemente a Aβ u otro componente de las placas de amiloides. Una reducción relativa a la línea base durante la reacción de los depósitos de amiloides indica que el anticuerpo que está siendo probado tiene una actividad de despeje.

[0164] Generalmente, controles de isotipos son agregados para asegurar que la interacción apropiada de los receptores Fc-Fcy está siendo observada. Controles adicionales incluyen el uso de anticuerpos no específicos y anticuerpos con una afinidad conocida para los receptores Fyc en las células fagocíticas. Aquellos ensayos pueden ser ejecutados con tejidos humanos o no humanos y células fagocíticas, y anticuerpos humanos, no humanos o humanizados.

[0165] Una variación en el ensayo de fagocitosis ex vivo elimina la necesidad de un tejido que contiene Aβ, aunque todavía permite la detección de las interacciones entre un anticuerpo particular y los receptores Fcy. En este caso, el

65

ensayo se basa en una matriz sólida que es cubierta con anticuerpos. La matriz sólida está generalmente en una forma que puede ser sumergida por una célula fagocítica, por ejemplo, una esfera o una partícula que podría variar desde nanómetros hasta algunos micrones de tamaño. La matriz sólida puede ser conjugada con una partícula detectable, por ejemplo, un fluoróforo, para que la partícula pueda ser rastreada. Equipos y materiales para los ensayos de fagocitosis de este tipo son comercialmente disponibles, por ejemplo, de Beckman Coulter (Fullerton, CA) y Molecular Probes (Eugene, OR). Un ejemplo de un análisis como éste está suministrado en la sección de ejemplos.

D. Ensayos de enlaces de complemento

[0166] La función ejecutora de anticuerpos también puede ser determinada al detectar la habilidad de un anticuerpo para interactuar con complementos, en particular, el polipéptido de C1q (refiérase a, por ejemplo, Mansouri et al. (1999) Infect. Immun. 67:1461). En el caso del anticuerpo específico de A β , una matriz sólida (por ejemplo, un plato de varios pozos) puede ser cubierta con A β , y expuesta a anticuerpos, y, a su vez, expuesta a C1q marcada. Alternamente, la C1q puede ser adherida a la matriz, y se le puede agregar anticuerpos marcados. Alternamente, el anticuerpo puede ser adherido a la matriz y expuesto a C1q, seguido de una detección de C1q. Aquel ensayo de enlaces in vitro son comunes en la industria y son sensibles a modificaciones e iniciaciones tal como sea necesario.

E. Métodos de diagnóstico

[0167] *Herramientas de evaluación de la función cognitiva.* Varias herramientas existen para cuantificar la cognición y la función mental de pacientes con demencia. Estas incluyen los criterios NTB, DAD, ADAS, MMSE, CDR-SOB, NINCDS-ADRDA, y el puntaje RMHI (isquémico de Hachinski modificado por Rosen - Rosen Modified Hachinski Ischemic). Estas herramientas son conocidas generalmente en la industria.

[0168] La NTB (Batería de Pruebas Neuropsicológicas - Neuropsychological Test Battery) es compuesta de nueve pruebas bien aceptadas de la memoria y de la función ejecutiva. La batería de pruebas es aceptable en la más reciente guía EMEA. Los pacientes son evaluados generalmente en las siguientes pruebas de memoria periódicamente: asociaciones emparejadas visuales de escala de memoria de Weschsler; asociaciones emparejadas verbales de escala de memoria de Weschsler; y la prueba de aprendizaje verbal y auditoria de Rey. Las pruebas de la función ejecutiva incluyen: lapso de dígitos de escala de memoria de Wechsler; prueba de asociación de palabras controladas; y prueba de nombres de categorías. Esta prueba es sensible a cambios en pacientes de AD leve y efectos clínicos de reactivos que reducen los amiloides.

[0169] La prueba DAD (Evaluación de Discapacidad por Demencia - Disability Assessment for Dementia) fue desarrollada y validada para medir la discapacidad funcional de pacientes con la enfermedad de Alzheimer (Gelinis et al. (1999) Am J Occup Ther 53:471-81.) Los proveedores de cuidados responden preguntas acerca de la capacidad de los pacientes para realizar actividades instrumentales y básicas del día a día que han sido intentadas en las dos semanas precedentes. La proporción de actividades DAD completadas exitosamente en comparación con aquellas intentadas se determina y se reporta como un porcentaje.

[0170] ADAS-Cog se refiere a la porción cognitiva de la escala de evaluación de la enfermedad de Alzheimer (refiérase a Rosen, et al. (1984) Am J Psychiatry 141:1356-64.). La prueba consiste de 11 tareas que miden las perturbaciones en memoria, lenguaje, práctica, atención y otras habilidades cognitivas.

[0171] La NINCDS-ADRDA (Evaluación de Enfermedades e Impactos Neurológicos y Comunicativos-y Trastornos Relacionados con la Enfermedad de Alzheimer (Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's disease Related Disorders Assessment)) mide ocho criterios afectados con Alzheimer: la memoria, el lenguaje, las destrezas perceptivas, la atención, las habilidades constructivas, la orientación, la solución de problemas y capacidades funcionales (McKhann et al. (1984) Neurology (Neurología) 34: 939-44).

[0172] El MMSE (Mini Examen del Estado Mental - Mini Mental State Exam), las CDR-SOB (Calificación de Demencia Clínica-Suma de Cuadros (Clinical Dementia Rating- Sum of Boxes)) y el puntaje RMHI (isquémico de Hachinski modificado por Rosen) también son conocidos en la industria (refiérase, por ejemplo, a Folstein et al. (1975) J Psych Res 12: 189-198; Morris (1993) Neurology (Neurología) 43: 2412-2414; y Rosen et al. (1980) Ann Neurol. 17:486-488).

[0173] *Biomarcadores.* Biomarcadores para la sintomatología de Alzheimer en humanos puede medirse utilizando volumétrica de MRI, niveles proteínicos de sangre y CSF, y PET (topografía de emisión positrónica - positron emission topography). Por ejemplo, los biomarcadores compatibles con interacción con anticuerpos A β incluyen a A β 40 y A β 42 en el CSF y plasma, y la toma de imágenes de placas de amiloides, por ejemplo, por medio de PET. Los biomarcadores que señalan la modificación de la enfermedad incluyen a morfología cerebral (MRI), CSF tau y niveles de fosfotau, y nuevamente, toma de imágenes de placas amiloides.

XII. EJEMPLOS

Ejemplo 1: Ensayo Fase 1

5 **[0174]** 111 pacientes con una diagnosis de una enfermedad probable de Alzheimer (ligera a moderada) se les administró el anticuerpo humanizado bapineuzumab con dosis que variaban desde 0.15 a 2.0 mg/kilogramo en un estudio de múltiples dosis ascendentes (MAD - multiple ascending dose). El anticuerpo fue administrado por infusión intravenosa cada 13 semanas hasta que el régimen de dosis estuvo completo. Los pacientes también fueron clasificados de acuerdo a su estado de ApoE4. La tabla 2 muestra que 11 pacientes en el estudio experimentaron edema vasogénica detectada por MRI. La tabla 2 también muestra los síntomas experimentados en algunos de los pacientes; en otros pacientes el edema vasogénico asintomático. La tabla 3 muestra el riesgo de edema vasogénico estratificado por genotipo sin importar la dosis. El riesgo es solamente del 2% en pacientes que no tienen un alelo E4 pero es 35% en pacientes que tienen dos alelos E4. La tabla 4 muestra el riesgo de edema vasogénico en solamente el grupo con la dosis más alta (2 mg/kilogramos). El riesgo de edema vasogénico para pacientes con dos alelos E4 es del 60% y aquel para pacientes con un alelo es del 35%.

15 **[0175]** La tabla 5 muestra el riesgo de edema vasogénico con diferentes dosis. El riesgo de edema vasogénico es muy bajo para todos los genotipos para dosis entre 0.15-0.5 miligramos/mililitros pero empieza a volverse significativo para pacientes con dos alelos E4 a una dosis de 1 mg/kilogramo y para pacientes con un alelo E4 a 2 mg/kilogramos. Esta información indica que el riesgo de un edema vasogénico depende del genotipo ApoE, la dosis y los pacientes.

TABLA 2

Estudio	Dosis (mg/kg)	Dosis #	Estado E4	Síntomas
SAD	5	1	ND	-
SAD	5	1	ND	-
SAD	5	1	ND	mareos, confusión
MAD	0.15	2	4/4	abn al andar, confusión
MAD	1	1	4/4	visual
MAD	1	1	4/4	-
MAD	1	2	3/4	-
MAD	2	1	4/4	-
MAD	2	1	3/4	-
MAD	2	1	4/4	confusión
MAD	2	1	3/4	-
MAD	2	1	3/4	HA, letargia, confusión
MAD	2	2	3/4	-
PET	2	1	3/4	-
MAD	2	3	4/4	-

TABLA 3

Genotipo ApoE4 (alelos)	Genotipo casos VE / total de casos VE	% de casos VE	Casos VE / pacientes expuestos	% de pacientes expuestos
2	6/11	55%	6/17	35%
1	4/11	36%	4/52	8%
0	1/11	9%	1/42	2%

TABLA 4

Genotipo ApoE4 (alelos)	Genotipo casos VE / total de casos VE	% de casos VE	Casos VE / pacientes expuestos	% de pacientes expuestos
2	3/7	43%	3/5	60%
1	3/7	43%	3/9	33%
0	1/7	14%	1/14	7%

TABLA 5

Número de pacientes (número que desarrollaron edemas vasogénicos)				
Número de copia de ApoE4	0.15 mg/kg	0.5 mg/kg	1.0 mg/kg	2.0 mg/kg
0	13(0)	11(0)	9(0)	14(1)
1	15(0)	14(0)	14 (1)	9(3)
2	3(1)	4(0)	5(2)	5 (3)

Ejemplo 2: fase 2 del ensayo

[0176] Un estudio aleatorio de dosis ascendentes múltiple controladas con placebos doblemente ciegas fue realizado en una población de 234 pacientes en forma aleatoria desde una población inicial de 317 pacientes examinados. Los pacientes fueron evaluados en lo que se refiere a su estado de portadores de ApoE4, pero los portadores (homocigotos y heterocigotos) y los no portadores recibieron el mismo tratamiento. Los criterios de inclusión fueron los diagnósticos probables de AD; con edades entre los 50-85 años; puntaje NNSE 16-26, puntaje isquémico de Hachinski modificado por Rosen ≤ 4 ; viviendo en su hogar o en una vivienda comunitaria proveedora de cuidados capaz; MRI consistente del diagnóstico de AD; detección MRI de suficiente calidad para un análisis genético; dosis estables de medicación para el tratamiento de condiciones no excluidas; dosis estables de AchEIs y/o memantina durante 120 días antes de la extracción. Los criterios principales de exclusión fueron la manifestación dual de un trastorno psiquiátrico importante (por ejemplo, un trastorno de depresión importante); enfermedad actual sistémica que resultaría muy posiblemente en la deterioración de la condición del paciente; historia o evidencia de una enfermedad o trastorno autoinmune importante del sistema inmunológico; historia de cualquiera de los siguientes cuadros clínicamente evidentes, estenosis / placa carótida o vertebro basilar clínicamente importante, epilepsia, cáncer en los últimos cinco años, dependencia del alcohol/drogas en los últimos dos años, infarto de miocardio en los últimos dos años, una enfermedad neurológica significativa (aparte de AD) que pudiese afectar la cognición. Los equipos del invento y sus marcadores acompañantes, inserciones de paquete que pueden suministrar exclusiones para pacientes que cumplen cualquiera de los criterios de exclusión ya mencionados y cualquiera de sus sub combinaciones.

[0177] Cuatro niveles de dosis fueron utilizados (0.15, 0.5, 1.0 y 2.0 mg/kg) juntos con un placebo. 124 pacientes recibieron bapineuzumab y 110 recibieron un placebo. De aquellos pacientes, 122 y 107, respectivamente, fueron analizados en cuanto a su eficacia. Bapineuzumab fue suplementado como una solución acuosa estéril en 5 ml cordiales que contenía: 100 mg de Bapineuzumab (20 mg/mililitro), 10 mM de histidina, 10 mM de metionina, 4% de manitol, 0.005% de polisorbato 80 (derivado de vegetales), un pH de 6.0. El placebo fue suplementado en viales correspondientes que contenían los mismos constituyentes excepto por bapineuzumab. La medicación del estudio fue diluida en una solución salina normal y administrada en forma de una infusión intravenosa (IV) de 100 ml durante alrededor de una hora.

[0178] El periodo de tratamiento fue de 18 meses con seis infusiones intravenosas en intervalos de 13 semanas. Visitas de seguimiento de seguridad, incluyendo detecciones MRI ocurrieron seis semanas después de cada dosis. Después del período de tratamiento los pacientes fueron monitoreados con un seguimiento de seguridad de un año para un tratamiento continuo en una extensión denominada abierta. El objetivo principal del ensayo fue el evaluar la seguridad y tolerabilidad de bapineuzumab en pacientes con la enfermedad de Alzheimer en un nivel ligero o moderado. Los puntos finales principales del estudio fueron (Escala de Evaluación de la Enfermedad de Alzheimer - Subescala Cognitiva (ADAS-Cog (Alzheimer Disease Assessment Scale-Cognitive Subscale)), Escala de Evaluación de Discapacidad debido a Demencia (DAD - Disability Assessment Scale for Dementia) junto con la seguridad y la tolerabilidad). La ADAS-Cog 12 contiene una prueba adicional que involucra el recordar en una forma retrasada una lista de palabras de 10 elementos para la ADAS-Cog 11. El objetivo secundario del estudio fue el evaluar la eficacia de bapineuzumab en pacientes con enfermedad de Alzheimer leve a moderada. Otros puntos finales fueron la batería de pruebas neuropsicológica (NTB - neuropsychological test battery), el inventario neuropsiquiátrico (NPI - neuropsychiatric inventory), la suma de cuadros de la clasificación de demencia clínica (CDR-SB - clinical dementia rating sum of boxes), volúmenes cerebrales por MRI y medidas CSF.

[0179] Un resumen de la población total, desglosadas por grupos de dosis y por estados de portación se suministra en las siguientes tablas.

TABLA 6

	Demográfica y características de los pacientes	
	Todo placebo	Todo Bapineuzumab
	n=107	N=122
Edad	67.9	70.1
Género (% F)	59.8	50.0
Etnicidad (% caucásico)	95.3	96.7
Años desde el inicio	3.7	3.5
ApoE4 (% portador)	69.8	60.5
Detección MMSE	20.7	20.9
% utilización de Colinesterasa o memantina	96.3	95.1

TABLA 7

Bapineuzumab	MMSE Prom.	Edad Prom.	Duración de la Enfermedad	Severidad de la Enfermedad		% Portador de APOE	Con Alz Meds	# de pacientes	
				Ligera	Moderada			Linea Base	Wk 78
0.15 mg/kg	20	70	4	29%	71%	64%	100%	31	24
Placebo	20	64	4	33%	65%	46%	96%	26	17
0.5 mg/kg	21	71	4	48%	51%	58%	91%	33	17
Placebo	21	69	4	43%	57%	86%	93%	28	21
1.0 mg/kg	21	69	3	43%	55%	69%	97%	29	25
Placebo	21	69	4	36%	69%	75%	93%	26	21
2.0 mg/kg	2	70	3	63%	34%	53%	90%	29	17
Placebo	21	69	3	56%	44%	70%	100%	27	22
Todo Bapineuzumab	21	70	4	46%	53%	61%	95%	122	83
Todo Placebo	21	68	4	42%	59%	69%	96%	107	81

TABLA 8

	Portador		No Portador	
	Placebo	Bapineuzumab	Placebo	Bapineuzumab
	N=74	N=72	N=32	N=47
Edad	68.6	71.2	66.1	69.1
Género (% F)	59.5	48.6	62.5	51.1
Etnicidad (% Caucásico)	97.3	97.2	90.6	95.7
Años Desde el Inicio	3.8	3.7	3.5	3.0
Detección MMSE	21.0	20.6	19.8	21.4
% Utilización de Colinesterasa o Memantina	95.9	98.6	96.9	89.4

[0180] La comparación de los varios cohortes de dosis con placebo utilizando un modelo lineal de reducción cognitiva en las escalas ADAS-COG y DAD no alcanzó una significancia estadística para cualquiera de los cohortes de dosis o la población de cohortes de dosis combinadas.

[0181] La información fue analizada usando un modelo estadístico sin asumir un declive lineal (a) basándose en todos los pacientes en quienes se determinó una eficacia y (b) basándose sólo en los pacientes que recibieron todas las seis dosis (“terminadores”) y sin incluir a pacientes que salieron por varios motivos. El modelo no lineal se lo

considera más preciso debido a que las habilidades cognitivas no necesariamente se reducen en forma lineal con el tiempo.

5 **[0182]** Los resultados utilizando el modelo de declive no lineal para todos los pacientes en los cuales se determinó una eficacia (portadores y no portadores de ApoE4 combinados) se muestran en la figura 1. Un análisis MITT (intención modificada para tratar - modified intent to treat) fue hecha utilizando el modelo de medidas repetidas sin asumir una linealidad. Las barras sobre el eje X representan un resultado favorable (es decir, un declive inhibido) en relación al placebo. Aunque no se obtuvo una significancia estadística, se observó una tendencia para los cohortes de dosis combinadas utilizando las escalas ADAS-cog y NTB ($0.1 \geq p \geq 0.05$).

10 **[0183]** Los resultados de las poblaciones terminadoras (portadores y no portadores de ApoE4 combinados) se muestran en la figura 2. Los terminadores fueron definidos como pacientes que recibieron las seis infusiones y una evaluación de eficacia en la semana 78. Las barras sobre el eje indican una mejora relativa al placebo. La significancia estadística fue obtenida para los cohortes de dosis combinados para las medidas ADAS-cog y DAD y una tendencia positiva ($0.1 \geq p \geq 0.05$) fue encontrada para las medidas NTB.

15 **[0184]** Análisis separados fueron realizados para los portadores y no portadores ApoE4 usando el modelo lineal y (a) todos los pacientes tratados en los cuales la eficacia fue determinada y (b) los terminadores.

20 **[0185]** La figura 3 muestra los resultados para todos los pacientes portadores de ApoE4 en los cuales se midió la eficacia. No se encontró significancia estadística para ninguna de las escalas cognitivas. Nuevamente, el análisis MITT utilizó el modelo de medidas repetidas sin la premisa de linealidad. La figura 4 muestra el análisis para los terminadores portadores de ApoE4, tal como ya se definió. Nuevamente, no se encontró significancia estadística para ninguna de las escalas (ADAS-cog, DAD, NTB, y CDR-SB). Sin embargo, cambios direccionales favorables (barras sobre el eje) fueron encontradas particularmente para las medidas ADAS-cog y DAD.

25 **[0186]** Las figuras 5 y 6 muestran los resultados para todos los pacientes no portadores de ApoE4 en quienes se midió la eficacia. La significancia estadística fue obtenida para las medidas ADAS-cog, NTB, CDR-SB y MMSE para los cohortes de dosis combinados. Las barras sobre el eje indican una mejora relativa en comparación del placebo. La figura 9 muestra un análisis tomado durante el transcurso de tiempo de estos parámetros (ADAS-cog, superior izquierda, DAD, superior derecha, NTB, inferior izquierda, CDR-SB, inferior derecha). El declive de rendimiento cognitivo para pacientes tratados fue menor que aquel para los pacientes con placebo en todos los puntos de tiempo en las escalas ADAS-cog, NTB y CDR-SB. Las figuras 7 y 8 muestran el análisis para terminadores no portadores de ApoE4, tal como ya se definió. La significancia estadística fue obtenida nuevamente para las medidas ADAS-cog, NTB, CDR-SB y MMSE. Otra vez, las barras sobre el eje indican una mejora relativa en comparación del placebo.

30 **[0187]** Se realizaron MRIs hasta siete veces por paciente durante las seis semanas de estudio después de cada infusión. Los cambios en el cerebro fueron evaluados por medio del volumen cerebral, volumen ventricular, cambio integral de límites cerebrales y cambio integral de límites ventriculares. El cambio integral de límites (BSI - boundary shift integral) como una medida derivada de cambios de volúmenes cerebrales a partir de escaneos de resonancia magnética tridimensionales repetidos. El BSI determina el volumen total a través del cual los límites de una estructura cerebral particular se han movido y, por lo tanto, el cambio de volumen, directamente de las intensidades vóxel. El cambio integral ventricular es una medida similar de los cambios de espacios ventriculares. Ambos de estos parámetros crecen en la medida que la enfermedad de Alzheimer progresa. Por lo tanto, la inhibición del crecimiento de estos parámetros en relación al placebo muestra un efecto positivo (es decir, deseado) del tratamiento.

35 **[0188]** En la población tratada total (portadores y no portadores) no se encontraron diferencias significativas para cambios en el volumen cerebral medido por los cambios integrales de límites cerebrales o el volumen ventricular medido por los cambios integrales de límites ventriculares durante 78 semanas en comparación con la población placebo.

40 **[0189]** En la población de no portadores de ApoE4 tratados el declive de volumen cerebral fue significativamente más bajo que aquel para la población placebo no portadora de ApoE4 (media -10.7 cc; 95% CI: -18.0 a -3.4; $p=0.004$). El incremento en volumen ventricular en comparación al placebo también fue reducido pero el cambio no alcanzó significancia estadística. No existió un cambio significativo en el volumen cerebral en comparación con la población placebo portadora de ApoE4. Sin embargo, el volumen ventricular fue incrementado significativamente en comparación con la población placebo (media 2.5 cc; 95% CI: 0.1 a 5.1; $p=0.037$).

45 **[0190]** Los cambios en BBSI en la población total, en la población portadora de ApoE4 y en la población no portadora de ApoE4 se muestran en las figuras 10-12. La figura 12 (los no portadores de ApoE4) muestra una separación estadísticamente significativa entre las líneas para los pacientes tratados y los pacientes placebo. El cambio en volumen cerebral fue reducido en la población tratada en comparación a la población placebo durante todos los puntos de tiempo medidos. La figura 10 (portadores y no portadores de ApoE4) muestra una separación de las líneas para los pacientes tratados y los pacientes placebo pero los resultados no alcanzaron ninguna significancia estadística. La figura 11 (portadores de ApoE4) muestra las líneas para los pacientes tratados y los pacientes placebo que están virtualmente superpuestas. El análisis utilizó el modelo de medidas repetidas con

tiempo como una categoría, ajustando para el estado de portación de ApoE4. La línea base fue el volumen cerebral y el estrato MMSE.

[0191] Una tendencia fue observada para la reducción en fosfo-tau de CSF en la población de pacientes tratados con bapineuzumab en comparación con la población tratada con el placebo a 52 semanas en los ensayos (figura 13). Fosfo-tau es un marcador biológico asociado con la enfermedad de Alzheimer. No se encontraron diferencias significativas entre los niveles de CSF de tau y Aβ42 entre todos los pacientes tratados y los pacientes de control. La figura se basa en un análisis ANCOVA, ajustado para el valor de la línea base. Un dato atípico fue excluido en el cohorte de dosis de placebo de 0.15 miligramos/kilogramo.

[0192] El tratamiento fue generalmente seguro y bien tolerado. Edemas vasogénicos (VE - Vasogenic edema) ocurrieron solamente en pacientes tratados con bapineuzumab. VE ocurrió con mayor frecuencia en portadores de ApoE4 (10) que en no portadores (2) y con mayor frecuencia con dosis crecientes, existiendo 8, 3, 0 y 1 episodios con las dosis 2.0, 1.0, 0.5 y 0.15 miligramos/kilogramo respectivamente. Todos los episodios de VE ocurrieron después de la primera o segunda dosis. La mayoría de episodios de VE fueron detectados sólo por medio de MRI y no hubieron síntomas clínicos detectados. Los episodios de VE fueron resueltos después de semanas o meses. En un paciente, el VE fue tratado con esteroides. Excluyendo el VE, y excluyendo el cohorte de 0.15 miligramos/kilogramo (que pacientes contenían con la enfermedad más avanzada que otros cohortes), eventos adversos serios fueron similares entre los grupos tratados y los grupos placebo. Eventos adversos fueron generalmente ligeros a moderados, transitorios, considerados no relacionados a la droga del estudio, ocurridos en una proporción relativamente pequeña de pacientes y no parecía tener una relación con la dosis.

[0193] La concentración sérica de bapineuzumab y la concentración de plasma de Aβ fueron medidas en pacientes tratados a lo largo del tiempo para los diferentes cohortes de dosis tal como se muestra en la figura 14. El Cmax del bapineuzumab sérico varió desde alrededor de 3.5-50 µg/mililitros en los diferentes cohortes de dosis desde 0.1 miligramos/kilogramos a 2.0 miligramos/kilogramos. El perfil de la concentración media de plasma de Aβ que crecía de acuerdo a las dosis con bapineuzumab y que declinaba cuando la concentración de bapineuzumab se reducía. La concentración de Aβ en el plasma varió desde alrededor de 500-3000 pg/ml. Por ejemplo, incrementando la dosis desde 0.15 miligramos/kilogramos hasta 2 miligramos/kilogramos incremento el Aβ del plasma por un factor de alrededor de 2.

[0194] Los parámetros PK después de la primera infusión de bapineuzumab se resumen en la tabla 9 a continuación:

TABLA 9

Dosis (mg/kg)	Cmax (µg/mL)	Cavg (µg/mL)	Cmin (µg/mL)	Tmax (days)	AUCinf (µg•h/mL)	CL/F (mL/hr/kg)	Vz/F (mL/kg)	T1/2 (días)
0.2	4.6	0.7	0.1‡	0.1	1794	0.09	76.2	26.7
0.5*	17.7	3.0	1.1‡	0.4	7165	0.07	63.7	26.4
1.0	28.0	5.5	1.8‡	0.1	13499	0.08	75.4	28.4
2.0	56.3	9.5*	1.7‡	0.1	21802	0.09*	65.08*	20.5*

N=6 a menos que se especifique de otra forma; *n=5

‡ - valores de vaguada de la segunda infusión; todos los valores por debajo del límite de cuantificación para la vaguada de la primera infusión.

Abreviaciones: Cavg - concentración promedio durante 13 semanas; Cmin - concentración mínima ("vaguada"); Tmax - tiempo de concentración máxima; AUC inf - área bajo la concentración vs. curva de tiempo extrapolada a la infinidad; CLss/F - tasa de despeje extravascular a un estado constante (CLss) y la magnitud de la biodisponibilidad (F); Vz/F - tasa de volumen aparente de distribución en un estado constante (Vz) y F; t ½ - vida media de eliminación (o terminal) en días.

Conclusiones

[0195]

1. El ensayo suministra evidencia de que los portadores y los no portadores de ApoE4 reaccionan diferentemente a la terapia inmunológica.
2. El ensayo suministra evidencia de que el edema vasogénico ocurre más frecuentemente de en portadores de ApoE4 y en dosis más altas.
3. El ensayo suministra evidencia estadísticamente significativa de la eficacia en los no portadores ApoE4 y en pacientes que reciben por lo menos 6 dosis de bapineuzumab (portadores y no portadores de ApoE4).
4. El ensayo suministra evidencia de tendencias o cambios direccionalmente favorables en una población total (portadores y no portadores de ApoE4) y la población portadora de ApoE4 de acuerdo a algunas medidas. La significancia estadística puede ser mostrada con poblaciones más grandes. Regímenes alternativos de

tratamiento en estos pacientes tal como ya se mencionó podrían mejorar la eficacia tal como se mencionó anteriormente.

5. El ensayo suministra evidencia que el tratamiento es generalmente seguro y bien tolerado.

5 Ejemplo 3: Estudio clínico de la administración subcutánea de Bapineuzumab en pacientes de Alzheimer.

[0196] Las inyecciones subcutáneas son generalmente más fáciles de administrar, lo que puede ser una consideración para pacientes con una función o coordinación mental discapacitada, o para proveedores de cuidados que administra la medicina a un paciente que no coopera. También es más fácil para hacerlo en la casa, lo cual es menos irritante para el paciente, así como menos caro. Finalmente, la administración subcutánea usualmente resulta en una concentración pico más baja de la composición (Cmax) en el sistema del paciente que en una forma intravenosa. El pico reducido puede bajar la posibilidad de un edema vasogénico.

[0197] Por estas razones, un estudio clínico fue diseñado para la administración subcutánea de bapineuzumab. Los puntos finales primarios del estudio inicial son la seguridad y la biodisponibilidad. Una vez que estos fueron establecidos para la administración subcutánea, las pruebas cognitivas descritas anteriormente serán administradas para determinar su eficacia.

[0198] Bajo el régimen inicial, bapineuzumab es administrado subcutáneamente a pacientes cada 13 semanas durante 24 meses, con nueve dosis totales. Todos los pacientes reciben una dosis de 0.5 miligramos/kilogramos. Se examina a los pacientes y se les monitorea periódicamente tal como se describió en los ejemplos anteriores, por ejemplo, para los niveles sanguíneos del anticuerpo, de la función del corazón y para edemas vasogénicos.

Ejemplo 4: Diseño de anticuerpos específicos de ratón y humanos

[0199] Variantes de anticuerpos humanizados y de ratón 3D6 que difieren en isotipos y/o mutaciones de regiones constantes fueron construidas para probar los efectos de la reducción de la función ejecutora en el despeje de depósitos de amiloides, la función cognitiva y microhemorragias. Los ratones tratados con anticuerpos a proteínas Aβ muestran a menudo señales de microhemorragias en los vasos cerebrales, lo cual es un factor que podría relacionarse al edema vasogénico observado en pacientes humanos que tienen un tratamiento similar.

[0200] Una alineación de los dominios CH2 de IgG1, IgG2, e IgG4 humanos con IgG1 e IgG2a de ratón se muestran en la figura 15. La alineación resalta a los residuos responsables de los enlaces con FcR y C1q. El motivo de enlace C1q es conservado en varias especies e isotipos. El motivo de enlace de FcR es conservado en los IgG1, IgG4 humanos y en el IgG2a murino.

[0201] La siguiente tabla presenta las modificaciones particulares hechas a la región CH2 de la cadena pesada. La numeración de aminoácidos es de acuerdo al sistema EU. El formato es un residuo, posición, residuo mutante de tipo silvestre.

Tabla 10

Anticuerpos derivados de 3D6		
Anticuerpo Derivado de 3D6	Isotipo (especie)	Residuos Mutados
Control de Bapineuzumab AAB-001	IgG1 (humano)	---
2m de 3D6 Humanizada (FcγR)	IgG1 (humano)	L234A/G237A (numeración EU)
3m de 3D6 Humanizada (FcγR) AAB-003	IgG1 (humano)	L234A/L235A/G237A ((numeración EU)
1m de 3D6 Humanizada (región de charnela)	IgG4 (humano)	S241P (Numeración Kabat)
Control de 3D6	IgG1 (ratón)	---
1m de 3D6 (FcγR)	IgG1 (ratón)	E233P
3m de 3D6 (C1q)	IgG1 (ratón)	E318A/K320A/R322A
4m de 3D6 (C1q)	IgG1 (ratón)	E318A/K320A/R322A/E233P
Control de 3D6	IgG2a (ratón)	---
1m de 3D6 (FcγR)	IgG2a (ratón)	D265A
4m de 3D6 (FcγR, C1q)	IgG2a (ratón)	L235A/E318A/K320A/K322A

[0202] Las regiones de enlaces de epítopes de los anticuerpos derivados de 3D6 son los mismos, y la cinética de los enlaces de Aβ son comparables. La tabla 11 presenta la cinética del receptor Fc que se enlaza a los anticuerpos derivados de 3D6 listados en la tabla 10. Estos valores fueron generados de la siguiente forma.

5 [0203] Para los anticuerpos derivados de 3D6 humanizados, las siguientes condiciones de ensayo fueron utilizadas. Biacore 3000 y el chip CM5 cubierto con el anticuerpo (Qiagen, número de catálogo 34660) penta-His (IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 93) fue utilizado en combinación con dominios marcados con His de FcγRI, FcγRII, y FcγRIII humanos (R&D Systems, número de catálogo 1257-Fc, 1330-CD, 1597-Fc). Cada receptor fue capturado por separado en una célula de flujo del chip sensor por el anticuerpo penta-His (IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 93). Una solución del anticuerpo que estaba siendo probado fue inyectada para permitir las medidas de las tasas de asociación y disociación para el receptor capturado. Después de que se realizaron las mediciones, los receptores y los anticuerpos experimentales fueron removidos por medio de la inyección de un amortiguador de pH: 2.5. La célula de flujo estaba lista entonces para el siguiente ciclo. Cada ciclo fue ejecutado por duplicado, y las mismas condiciones (por ejemplo, concentraciones, tasas de flujo y tiempos) fueron utilizadas para cada muestra.

15 [0204] Tal como se indicó por los valores en la tabla 11, el bapineuzumab (región Fc no modificada) se enlazó a todos los receptores FcγR humanos con una afinidad relativamente alta. KD para FcγRI estuvo en el rango de nm, mientras que el KD para FcγRII y III estuvieron en el rango de micrómetros. Para los dos posteriores, los sensogramas mostraron una cinética típica de rápida activación y desactivación. El isotipo IgG4 tuvo enlaces similares a FcγRI, pero no se enlazó con FcγRIII, tal como se esperaba. Los dos derivados IgG1, 2m y 3m de 3D6 de Hu, no mostraron enlaces detectables a FcγRI o FcγRIII.

20 [0205] Para los anticuerpos derivados de 3D6 de ratón, métodos similares fueron utilizados para determinar los enlaces a los FcγRI, II, y III de ratón. FcγRI y III son receptores de activación, mientras que FcγRII es considerado generalmente como inhibitorio. Los anticuerpos probados fueron IgG2a de 3D6, IgG1 de 3D6, y las mutaciones de IgG1, 1m, 3m y 4m de 3D6. Los resultados son expresados como un porcentaje relativo de los enlaces IgG2a de 3D6. Tal como se mostró en la tabla 11, el IgG2a de 3D6 fue el único anticuerpo con la capacidad detectable de enlaces FcγRI. El IgG1 de 3D6 y el IgG1 3m de 3D6 tuvo perfiles de enlaces similares a FcγRII y III.

TABLA 11

30

Habilidad de enlaces con el receptor Fc de los anticuerpos 3D6			
Derivados de 3D6	Capacidad de enlaces relativa* (%)		
	FcγRI Humana**	FcγRII Humana **	FcγRIII Humana**
Control de Bapineuzumab	100	100	100
35 1m de 3D6 Humanizado	85-95	40-50	0
2m de 3D6 Humanizado	0	40-50	0
3m de 3D6 Humanizado en AAB-003	0	8-12	0
40 IgG2a de Control de 3D6	100***	100	100
IgG1a de Control de 3D6	0	180	70
IgG1 de 1m de 3D6	0	15	10
IgG1 de 3m de 3D6	0	180	70
45 Derivados de 3D6	Capacidad de enlaces relativa* (%)		
	FcγRI Humana**	FcγRII Humana **	FcγRIII Humana**
IgG1 de 4m de 3D6	0	25	15

50 *Definido como el monto de enlaces en (RU) relación a aquel del control de IgG2a en un estado continuo.
 **Los mFcγRI y mFcγRIII son receptores activadores, mFcγRII es un receptor inhibitorio. Otro receptor activador potente, mFcγRIV, no es comercialmente disponible.
 ***Un enlace de estado continuo no fue obtenido. Un acoplamiento cinético conllevó a un estimado de K_D en el rango nano molar.

55 [0206] Los resultados del cuadro anterior muestran que el anticuerpo 3m de 3D6 de Hu (AAB-003) tiene el enlace al receptor gama Fc más reducido de los tres que fueron probados. De aquellos probados, el anticuerpo mutante de ratón IgG1 de 1m de 3D fue el más similar a AAB-003, en que sus enlaces con FcγR fueron reducidos a hasta el 10% de lo normal.

60 **Ejemplo 5: Estudios de ratones de anticuerpos derivados de 3D6**

Diseño del estudio

65 [0207] Ratones PDAPP de un año de edad fueron expuestos a un paradigma de tratamiento de seis meses con control con los anticuerpos derivados de 3D6 descritos en la tabla 10. El control negativo fue un anticuerpo IgG2a de

ratón a un epítipo irrelevante no amiloide. Los ratones fueron inyectados con IP con 3 mg/kilogramos del anticuerpo indicado cada semana.

5 **[0208]** Las concentraciones de anticuerpos en el suero fueron probadas durante el transcurso del estudio por medio de ELISA. Los niveles fueron comparables en todos los grupos. Después de seis meses, los ratones fueron sacrificados y perfundidos. Las secciones y tejidos cerebrales fueron preparados de acuerdo a métodos conocidos (1997) Proc. Natl. Acad. Sci., EE.UU. 94:1550-55).

10 **[0209]** La carga de amiloides fue medida en la corteza y en el hipocampo de los ratones transgénicos. Los resultados en la tabla 12A y en la tabla 12B son indicados como una reducción porcentual del área con amiloides (valores p indican una diferencia significativa comparada al anticuerpo de control IgG2a).

TABLA 12A

15

Carga de amiloides corticales (% de reducción)						
	IgG2a de Control	IgG2a de Control de 3D6	IgG1 de Control de 3D6	IgG1 de 1m de 3D6 (FcγR)	IgG1 de 3m de 3D6 (C1q)	
20	Área de % Media	6.25076	0.757259	1.24205	2.06056	1.50084
	Rango	0.069-17.073	0-9.646	0-17.799	0-24.531	0-17.069
25	Control de Cambio % IgG2a	---	88 p<0.0001	80 p<0.0001	67 p<0.003	76 p<0.0001
	Cambio % 3D6 IgG1	---	---	---	165.9	120.8
30	Número	32	34	36	36	34

TABLA 12B

35

Carga de amiloides del hipocampo (% de reducción)						
	IgG2a de Control	IgG2a de Control de 3D6	IgG1 de Control de 3D6	IgG1 de 1m de 3D6 (FcγR)	IgG1 de 3m de 3D6 (C1q)	
40	Área de % Media	20.36	8.462	12.29	12.18	8.435
	Rango	4.707-35.79	1.467-17.59	0.2449-18.61	0-26.99	0.8445-18.61
45	Control de Cambio % IgG2a	---	58 p<0.0001	40 p<0.0001	40 p<0.0001	59 p<0.0001
	Cambio % 3D6 IgG1	---	---	---	0.895	31.4
50	Número	34	34	37	37	34

55 **[0210]** Los resultados que se acaban demostrar indican que todos los anticuerpos de 3D6 (IgG2a, IgG1 y mutantes) redujeron significativamente la carga de amiloides en relación a los controles negativos. Las diferencias entre los anticuerpos probados no fueron significativas estadísticamente.

60 **[0211]** El efecto de los anticuerpos derivados de 3D6 fue aprobado entonces en calificaciones de amiloides vasculares. La tabla 13 muestra el número de ratones con la clasificación de amiloides vasculares indicada y el porcentaje de animales con una clasificación de cuatro o más (los valores p indican una diferencia significativa en comparación con los anticuerpos de IgG2 de 3D6).

65

TABLA 13

Porcentaje de ratones que tienen amiloides vasculares				
	Nada - poco (0-3)	Moderado (4+)	Porcentaje con una calificación moderada	
IgG2a de control	11	24	69	p<0.0001
IgG2a de control de 3D6	27	7	21	----
IgG1 de control de 3D6	12	25	68	p<0.0001
IgG1 de 1m (FcγR) de 3D6	15	21	58	p<0.0016
IgG1 de 3m (C1q) de 3D6	20	17	46	<0.0434

[0212] La información que se acaba de presentar muestra que el IgG2a de 3D6 de control positivo redujo significativamente a los amiloides vasculares en comparación con el anticuerpo irrelevante IgG2a. La reducción con IgG2a de 3D6 también fue estadísticamente significativa en relación a aquella con IgG1 de 3D6, IgG1 de 1m de 3D6 e IgG1 de 3m de 3D6. Las diferencias entre el IgG1 de 3D6, IgG1 de 1m de 3D6, IgG1 de 3m de 3D6 y el IgG2a de control no fueron estadísticamente significativas.

[0213] Para determinar si los derivados del anticuerpo de 3D6 causan micro hemorragias en ratones, los niveles de hemosiderina, un marcador para micro hemorragias, fueron examinados en secciones cerebrales de los ratones tratados con 3 mg/kilogramos de anticuerpos. La marcación fue ejecutada con un 2% de ferrocianuro potásico en un 2% de ácido hidroclicórico, seguido por una descoloración en un 1% de solución neutral roja. La tabla 14 indica el porcentaje en un número absoluto de ratones con el nivel indicado de coloración de hemosiderina. Los resultados demuestran que el IgG1 de 1m de 3D6 (FcγR) y el IgG1 de 3m de 3D6 (C1q), que se acabaron demostrar son efectivos en el despeje de placas de amiloides, reduciendo los niveles de micro hemorragias en relación a IgG2a de 3D6. Diferencias entre el IgG1 de 3D6, el IgG1 de 1m de 3D6 y el IgG1 de 3m de 3D6 no alcanzaron una significancia estadística, aunque la diferencia entre el IgG1 de 1m de 3D6 y el IgG1 de 3D6 mostraron una tendencia. (Los valores p indican una diferencia significativa en comparación con el anticuerpo IgG2a de 3D6).

TABLA 14

Nivel de micro hemorragias:	0	1	2	3
IgG2a de Control p<0.0001	68% (23)	32% (11)	0% (0)	0% (0)
IgG2a de Control de 3D6 -----	9% (3)	42% (14)	27% (9)	21% (7)
IgG1 de Control de 3D6 p<0.0023	38% (14)	46%(17)	3%(1)	13% (5)
IgG1 de 1m de 3D6 (FcγR) p<0.0001	51% (19)	49% (18)	0% (0)	0% (0)
IgG1 de 3m de 3D6 (C1q) p<0.0001	53% (19)	42% (15)	0% (0)	5% (2)

Ejemplo 6: Ensayos de fagocitosis

Materiales y métodos

[0214] *Ensayos de fagocitosis de placas ex vivo:* secciones cerebrales congeladas de ratones PDAPP fueron pre-incubadas con IgG1 de 3D6 y los mutantes de función ejecutora descritos en la tabla 10 (1m de 3D6 (FcγR1) y 3m de 3D6 (C1q), ambos del isotipo de IgG1 de ratón). El IgG2a de 3D6 fue utilizado como un control positivo y los anticuerpos irrelevantes IgG1 e IgG2 fueron utilizados como controles de isotipos. Las secciones fueron tratadas con 0.3 o 3 μg/mililitros de anticuerpos durante 30 minutos antes de la adición de micro glía de ratón, a 5% de CO₂ a 37 °C. Los co-cultivos fueron extraídos el día siguiente. El Aβ remanente fue medido por medio de ELISA (anticuerpo 266 para captura, y 3D6-B como reportador) para evaluar el despeje de Aβ.

[0215] La fagocitosis de los derivados de IgG2a murinos fueron probados. Estos experimentos incluyeron a: anticuerpos IgG2a de 3D6 (control positivo); IgG2a no específicos (control negativo); 1m de 3D6 (FcγR1, isotipo IgG2a); y 4m de 3D6 (FcγR1/C1q). Las condiciones fueron similares a aquellas que se acaban de describir.

5 **[0216]** La fagocitosis que no es de placa, fue determinada adicionalmente por medio del 3D6 humanizado (IgG1 de 3D6 de Hu) y los mutantes ejecutores descritos en la tabla 10 (IgG1 de 2m de 3D6 de Hu, IgG1 de 3m de 3D6 de Hu e IgG4 de 1m de 3D6 de Hu). El control negativo fue un anticuerpo IgG1 humano irrelevante. Las condiciones de ensayo y de detección fueron, aparte de eso, las mismas.

10 **[0217]** *Ensayos in vitro:* para los ensayos de anticuerpos de ratón de fagocitosis de esferas conjugadas fluorescentemente, 10 μ M de partículas de fluoesferas (5x10⁶) fueron opsonizadas con 1 mg/mililitro de F(ab')₂, IgG2a de 3D6, IgG1 de 3D6, o Fc γ R de 3D6 mutantes de ratón durante dos horas a la temperatura del cuarto con rotación. Después de dos horas, las esferas fueron lavadas con 1 ml de PBS tres veces para remover el IgG no enlazado. Las partículas opsonizadas fueron añadidas (1:10) a la microglía del ratón para los experimentos Ig2a de 3D6 (3D62a) murinos. Las esferas fueron incubadas con las células durante 90 minutos a 37 °C. Las partículas no enlazadas fueron lavadas y desprendidas con PBS. Las células fueron coloradas con DiffQuick durante 30 segundos para cada coloración y la fagocitosis fue visualizada por medio de un microscopio de luz. Controles para este ensayo fueron esferas no opsonizadas (sin marcar) (para detectar una sumersión no específica) y un pre-tratamiento con fragmentos Fc humanos (3D62a + FC) (para bloquear a Fc γ R1).

20 **[0218]** Para ensayos de anticuerpos humanizados, las condiciones y detección fueron las mismas. Sin embargo, los anticuerpos fueron no anticuerpos (no marcados; control negativo), IgG1 humano irrelevante (IgG1 humano; control positivo), IgG1 de 3D6 de Hu, IgG1 de 2m de 3D6 de Hu, IgG1 de 3m de 3D6 de Hu e IgG4 de 1m de 3D6 de Hu. Las células fagocíticas fueron células THP-1 humanas (diferenciadas con PMA).

Resultados

25 **[0219]** *Ensayos de fagocitosis de placas ex vivo:* El anticuerpo IgG1 de 3D6 y sus mutaciones ejecutoras (1m de 3D6 (Fc γ R1) y 3D6 de 3m (C1q)) fueron ensayados para evaluar su capacidad para facilitar el despeje de amiloides (referirse a la figura 16). El anticuerpo IgG2a de 3D6 estimuló un despeje más robusto que el IgG1 de 3D6, 1m de 3D6 (Fc γ R1) y 3m de 3D6 (C1q). La estimulación de fagocitosis por IgG1 de 3D6, 1m de 3D6 (Fc γ R1) y 3m de 3D6 (C1q) fue mayor que en el control negativo. Las mutaciones de los dominios Fc de IgG1 de 3D6 no pareció amortiguar significativamente su habilidad para estimular el despeje en el ensayo de despeje ex vivo.

35 **[0220]** Para los derivados de 3D6 de IgG2a, las mutaciones estimularon un despeje equivalente al IgG2 de 3D6 de tipo silvestre y en una mayor magnitud en relación a un control emparejado de un isotipo IgG2 irrelevante (refiérase a la figura 17). Por lo tanto, ninguna de las mutaciones inhibieron completamente a la fagocitosis de A β .

40 **[0221]** En los ensayos de anticuerpos humanizados, las mutaciones de la región ejecutora del IgG1 de 3D6 de Hu retuvieron una actividad despeje significativa en relación al control negativo. El IgG1 de 3D6 de Hu estimuló el despeje en el ensayo de despeje de placas A β ex vivo, y las mutaciones de la región ejecutora tuvieron una función moderadamente discapacitada. El IgG4 de 3D6 de Hu indujo fagocitosis en la misma magnitud que el IgG1 de 3D6 de Hu, y la mutación a la región de charnela de IgG4 de 3D6 no apareció para cambiar su función ejecutora (refiérase a la figura 18).

45 **[0222]** *Ensayos de fagocitosis de esferas in vitro:* Para determinar si los resultados ex vivo fueron específicos para el despeje de A β y ver si es que la mutación Fc en el IgG1 de 3D6 alteraba su función ejecutora, ensayos de fagocitosis de esferas mediadas por Fc no específicas fueron realizadas. En el ensayo de fagocitosis de esferas de anticuerpos de ratón, el anticuerpo del isotipo de IgG2a de 3D6 midió la fagocitosis más eficientemente que el IgG1 de 3D6 (referirse a la figura 19). La mutación de Fc en el IgG1 de 3D6 no disminuyó significativamente la capacidad para estimular la fagocitosis, en comparación al IgG2a de 3D6 del control positivo, indicando que la mutación Fc en el IgG1 de 3D6 fue moderadamente efectiva para reducir la fagocitosis.

50 **[0223]** En el ensayo de anticuerpos humanizados, el efecto de la mutación de Fc visto en el ensayo de fagocitosis de placas ex vivo fue verificado en la fagocitosis de esferas mediada por Fc. Nuevamente, las mutaciones en la porción Fc del 3D6 humanizado disminuyeron su capacidad para mediar la fagocitosis de las esferas fluorescentes y no hubo una diferencia significativa entre las mutaciones de 2m y de 3m. Nuevamente, la remoción mediada del isotipo IgG4 teóricamente inefectiva tuvo la misma magnitud que el isotipo IgG1 (refiérase a la figura 20). La mutación de la región de charnela de IgG4 de 3D6 no pareció cambiar su función ejecutora.

Ejemplo 7: Capacidad de enlace con C1q de los derivados de 3D6 humanizados

60 **[0224]** Los derivados de 3D6 humanizados fueron probados para su habilidad de enlazarse con C1q e inducir una respuesta complementaria. Un protocolo de series de dilución de C1q estándar fue seguido, tal como se describe más adelante. Protocolos similares son descritos, por ejemplo, en Idusogie et al. (2000) J. Immunol. 164: 4178-4184.

65 **[0225]** Un A β purificado fue cubierto en placas ELISA y expuesto a uno de los siguientes anticuerpos 3D6 humanizados en las concentraciones indicadas en la figura 21: 2m de 3D6 de Hu (IgG1), 3m de 3D6 de Hu (IgG1), 1m de 3D6 de Hu (IgG4), y 3D6 de Hu no modificado (IgG1). Las placas ELISA fueron lavadas y bloqueadas con

0.02 por ciento de solución caseína en un PBS durante 3 a 24 horas con una agitación lenta. La solución de bloqueo fue removida con otro paso de lavado.

5 [0226] Después, C1q humano purificado (191391, MP Biomedicals) fue agregado a las placas ELISA, con un amortiguador del ensayo de 2µg de C1q/mililitros empezando las series de dilución 2X. A C1q se le permitió enlazarse durante dos horas sin ninguna agitación. Después de eso se hizo otro paso de lavado, 100 µl / pozo de anticuerpos anti C1q (Rb antihumano conjugación FITC de C1q número de catálogo F010 DBS (dbiosys.com)) utilizado a 1:200 fue agregado durante una hora con agitación. Los resultados fueron comparados a un blanco que no contenía anticuerpos anti-C1q.

10 [0227] Tal como se muestra en la figura 21, los anticuerpos derivados de 3D6 humanizados no interactuarán significativamente con C1q. Esto es diferente a lo que pasó con bapineuzumab, que no tiene mutaciones en la región de Fc.

15 [0228] Los anticuerpos derivados fueron probados para su habilidad de inducir lisis mediada por complementos de las células HEK 293 que expresan a Aβ en la superficie. Un ensayo de liberación de ⁵¹Cr estándar fue utilizado, tal como se describe en Phillips et al. (2000) Cancer Res. (Investigación del cáncer) 60:6977-84; Aprile et al. (1981) Clin. Exp. Immunol. 46:565-76.

20 [0229] Las células objetivo fueron las células HEK293 (ATCC, CRL-1573) que expresaron una proteína de fusión con el epítipo Aβ detectado por 3D6 (DAEFR (IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 94)) en la superficie. La secuencia que contenía a Aβ fue insertada en el vector pDisplay (Invitrogen). El vector pDisplay fue alterado para remover la marcación HA y en vez de eso empezar con el péptido que contiene a Aβ después de la secuencia líder. Una agrupación estable de HEK 293 fue movida hacia delante al ensayo ADCC.

25 [0230] Para marcaciones, 10⁷ células fueron suspendidas en 2 ml de RPMI con un 10% de FCS y se les agregó 250uCi de ⁵¹Cr (NEN número de catálogo NEZ-030; ⁵¹Cr cromato de sodio en solución salina). Las células fueron incubadas durante una hora a 37 °C con una agitación ocasional. Al final de la incubación, 10 ml de RPMI con 10% de FCS fueron agregados. Las células fueron centrifugadas para poder remover el material flotante, y re - suspendidas en 10 ml de RPMI que contenían 10% de FCS. Las células fueron incubadas nuevamente, a la temperatura del cuarto durante 1.5 horas con una agitación ocasional, para permitir que el exceso de ⁵¹Cr salga de las células. Las células objetivo fueron lavadas tres veces con 10 ml de RPMI, y una última vez en 10 ml de RPMI que contenía un 10% de FCS. Las células fueron re suspendidas en RPMI con un 10% de FCS a una concentración de 10⁶ células/mililitro.

35 [0231] Las células ejecutoras fueron recolectadas de la sangre humana. Brevemente, la sangre fue diluida 1:1 con PBS y puestas en forma de una capa sobre Ficol (Sigma Histopaque 1077). La columna fue centrifugada durante 20 minutos, 1200 x g, sin ningún freno a 20 °C. Las células fueron recaudadas en el interfaz; se lavaron una vez con 2-3 volúmenes de PBS, y dos veces con RPMI que contenía un 10% de FCS. Se detectó un enriquecimiento de NK con anticuerpos a CD3 y CD56.

40 [0232] Las células ejecutoras y las células objetivo fueron añadidas a platos de 96 pozos a una tasa de 25:1 (ejecutor: objetivo) en un volumen total de 200 µl. Las siguientes muestras de control fueron incluidas: lisis espontánea (que contenía células objetivo sin ejecutores) y lisis total (deja los pozos vacíos) fue incluido. Las células fueron incubadas durante cinco horas a 37 °C. Justo antes de la cosecha, 100 µl con 0.1 por ciento de Tritón X-100 fueron añadidos a la muestra de lisis total para la liberación de ⁵¹Cr. Las reacciones fueron cultivadas en unidades de filtración con un cultivador Skatron (Molecular Devices) y se detectó el total de ⁵¹Cr.

45 [0233] Para calcular el porcentaje de lisis, se determinó el promedio cpm y la desviación estándar para cada muestra. El porcentaje de liberación máxima de ⁵¹Cr se determinó con la siguiente fórmula:

$$\frac{(\text{Experimental-espontánea}) \times 100}{(\text{total-espontánea})}$$

50 [0234] Consistentemente con los resultados del ensayo de enlaces C1q, los anticuerpos derivados mutantes de la función ejecutora de 3D6 humanizados no fueron efectivos para inducir una lisis complementaria de las células HEK 293 que expresan a Aβ. (Refiérase a la Fig. 22).

60 Ejemplo 8: Ensayo Elisa que mide a la capacidad de enlaces de C1q de derivados de 3D6 murinos

60 Materiales y métodos

65 [0235] Un plato fluorescente de 96 pozos fue cubierto con 1, 3 o 6 µg/mililitros de varios anticuerpos en 100 µl de un amortiguador que cubría a los pozos durante la noche a 4 °C. Después de la cobertura, los platos fueron lavados y bloqueados con 200 µl de bloqueador de Elisa de caseína durante una hora a temperatura del cuarto. Los platos fueron lavados y 100 µl de 2 µg/mililitros de C1q humano en un amortiguador diluyente fueron agregados durante

dos horas a la temperatura del cuarto. Después de dos horas, los platos fueron lavados y se agregó C1q anti ratón marcado con FITC (1:1000) durante una hora. Los platos fueron lavados dos veces y leídos a 494/517 en el lector del plato fluorescente en PBS. Los siguientes anticuerpos de ratón fueron probados: IgG2a, IgG2b, IgG2a de 3D6, IgG1, de IgG13D6, y la mutación de C1q de IgG1 de 3D6.

5

Resultados

[0236] El nivel más alto de enlaces C1q fue observado para IgG2 e IgG2a de 3D6 (refiérase a la figura 23). Los enlaces de C1q a IgG1 e IgG1 de 3D6 fueron significativamente más bajos que los de IgG2a. La mutación en el dominio de enlaces de C1q de IgG1 de 3D6 suprimió más enlaces.

10

Ejemplo 9: Ensayo de Acondicionamiento de Miedo Contextual (CFC - Contextual Fear Conditioning)

[0237] Los ratones transgénicos Tg2576 y los de controles de tipo silvestre de cámaras fueron albergados durante por lo menos 2 semanas antes de cualquier prueba y se les permitió acceso a comida y agua ad libitum. CFC ocurrió en cámaras operantes (Med Associates, Inc.) construidas de paredes laterales de aluminio y techos, puertas y pared trasera de plexiglás. Cada Cámara fue equipada con un piso a través del cual una corriente eléctrica de pies podía ser administrada. Adicionalmente, cada cámara tenía dos luces de estímulo, una luz de caja y un solenoide. La iluminación, la corriente eléctrica de pies (US) y el solenoide (CS) fueron controlados por un software MED-PC ejecutado por una computadora. Las cámaras fueron ubicadas en un cuarto con aislamiento de sonido en presencia de una luz roja.

15

20

25

[0238] Los ratones (n = 8-12/genotipo/tratamiento) fueron entrenados y probados en dos días consecutivos. La fase de entrenamiento consistió en colocar a los ratones en las cámaras operantes, iluminando las luces de estímulo y de casa y permitiéndoles explorar durante dos minutos. Al final de los dos minutos, una corriente eléctrica de pies (US 1.5 miliamperios) se administró durante dos segundos. Éste procedimiento fue repetido. 30 segundos después de la segunda corriente eléctrica de pies los ratones fueron removidos de las cámaras y se los regresó a sus jaulas.

30

35

[0239] 20 horas después del entrenamiento, los animales fueron regresados a las cámaras en las cuales fueron entrenados previamente. Comportamiento de congelamiento, en el mismo entorno en el cual recibieron la corriente eléctrica ("contexto"), entonces se grabó, utilizando la misma muestra de tiempo en lapsos de 10 segundos durante cinco minutos (30 puntos de muestra). Congelamiento se definió como la falta de movimiento excepto aquella requerida para la respiración. Al final del contexto de cinco minutos los ratones de prueba fueron regresados a sus jaulas.

40

[0240] Ratones de tipo silvestre de aproximadamente 20 semanas de edad y ratones transgénicos Tg2576 se les administró una sola dosis de anticuerpos de tratamiento por medio de una inyección intraperitoneal a 24 horas antes de la fase de entrenamiento del CFC. Los anticuerpos de tratamiento fueron: (i) anticuerpos IgG1 no específicos; (ii) 3m de 3D6 de Hu (FcγR) (también conocido como AAB-003); y (iii) bapineuzumab (también conocido como AAB-001).

45

[0241] La figura 24 demuestran los resultados. Ratones de tipo silvestre tratados con la sustancia de control mostraron alrededor de un 40% de congelamiento, mientras que en comparación, los ratones transgénicos tratados de control exhibieron un déficit severo en memoria contextual. Cuando se les administró 30 mg/kilogramos, el anticuerpo de 3m de 3D6 de Hu restauró la función cognitiva a los niveles de tipo silvestre. Además, la mutación de la función ejecutora tuvo el mismo efecto en la memoria contextual que el anticuerpo paterno, bapineuzumab.

50

[0242] El efecto del anticuerpo 3m de 3D6 de Hu en la memoria contextual fue observado al pasar del tiempo. La figura 25 ilustra que el tratamiento con 30 mg/kilogramos de anticuerpos 3m de 3D6 de Hu suministró niveles de tipo silvestre de cognición después de por lo menos 5 días después de su administración.

55

[0243] En resumen, los ejemplos que se acaban de mencionar muestran que 3m de 3D6 de Hu resulta en mejoras similares de cognición que bapineuzumab. Esto es a pesar de que el anticuerpo derivado no se enlaza significativamente a los receptores Fc o C1q, o induce fagocitosis o una actividad ADCC.

Ejemplo 10: Estudios de ratones con IgG2 de 4m (FcγR/ C1q) de 4m de 3D6 e IgG1 de 3m de 3D6 de Hu (AAB-003)

60

Diseño del estudio

65

[0244] Ratones PDAPP de un año de edad son expuestos a un paradigma de tratamiento de seis meses con control; IgG2a de 4m (FcγR/ C1q) de 3D6; o IgG1 (refiérase a la tabla 10) de 3m de 3D6 de Hu. Controles negativos incluyen un anticuerpo IgG2a de ratón y un anticuerpo IgG1 humano a un epítipo irrelevante no amiloide. Los controles positivos incluyen a IgG2 de 3D6 y a IgG1 de 3D6 de Hu. Los ratones son divididos en cohortes de dosis e inyectados IP en intervalos semanales con 3, 30, o 300 mg/kg del anticuerpo indicado. Las condiciones experimentales son descritas en el ejemplo 5.

[0245] Después de seis meses, los ratones son sacrificados y se cultiva el tejido cerebral tal como se describió anteriormente. Los tejidos son examinados por cargas corticales, Ab del hipocampo, de amiloides, de amiloides vasculares y micro hemorragias.

5

Ejemplo 11: Estudios de monos Cynomolgus con IgG1 de 3m de 3D6 de Hu (AAB-003)

Diseño del estudio

10 [0246] Los monos Cynomolgus son tratados con el IgG1 de 3m de 3D6 de Hu (AAB-003). El control negativo incluye un anticuerpo IgG1 humano a un epítipo no amiloide irrelevante. El control positivo incluye un IgG1 de 3D6 de Hu (Bapineuzumab). Los monos son divididos en cohortes de dosis recibiendo ya sea, 15, 50, o 150 mg/kg del anticuerpo indicado. Cada cohorte es dividido aún más en grupos de administración IV y SC.

15 [0247] Los monos son inyectados semanalmente durante 13 semanas, con un periodo de observación de dos meses. Al final del estudio, los monos son sacrificados y los tejidos cerebrales son cosechados. Los tejidos son examinados por cargas corticales, de hipocampo de A β y de amiloides, amiloides vasculares y micro hemorragias.

Ejemplo 12: Estudio de Una Sola Dosis Ascendente (SAD - Single Ascending Dose) en humanos del anticuerpo 3m de 3D6 de Hu (AAB-003)

20

[0248] Pacientes de Alzheimer ligero a moderado, incluyendo portadores y no portadores de ApoE4, se dividieron en cohortes para inyecciones intravenosas (IV) o subcutáneas con el anticuerpo AAB-003. A los cohortes se les da una sola dosis con un seguimiento de 12 meses y se los monitorea durante ese tiempo por un comité de monitoreo de seguridad independiente.

25

[0249] El objetivo del estudio es el incrementar la exposición equivalente a por lo menos 5 mg/kilogramos de Bapineuzumab intravenoso (a menos que se observen señales de edemas vasogénicos). Con esta dosis de Bapineuzumab, se observó VE en tres de 10 pacientes.

30

[0250] Los cohortes SC incluyen por lo menos 2 niveles de dosis subcutáneas. Estos pacientes son observados en cuanto a su biodisponibilidad del anticuerpo y su linealidad.

35 [0251] Todos los pacientes son examinados (por ejemplo, en referencia a su estado ApoE) y monitoreados tal como se describió en el ejemplo 1. Para todos los cohortes, el monitoreo de seguridad incluye monitoreos de MRI. Los resultados MRI son comparados a aquellos del estudio Bapineuzumab descritos en los ejemplos anteriores. La eficacia es medida por mediciones cognitivas (por ejemplo, NTB, DAD, ADAS-Cog.); niveles A β en el plasma; niveles CSF de amiloides, tau y fosfotau; y toma de imágenes de amiloides.

40 [0252] Ciertos marcadores biológicos son rastreados en cada paciente durante el estudio. Los biomarcadores para dar apoyo a los enlaces de A β por el anticuerpo incluyen a A β 40 y A β 42 en la toma de imágenes de CSF, plasma y placas de amiloides, por ejemplo, por medio de PET. Los biomarcadores que señalan a la modificación de la enfermedad incluyen a la toma de imágenes de MRI, tau de CSF y niveles de fosfotau, y nuevamente, de placas de amiloides.

45

Ejemplo 13: Perfiles farmacocinéticos del 3m de 3D6 de Hu (AAB-003) en ratones Tg2576 y de tipo silvestre

50 [0253] Los ratones de control transgénicos Tg2576 y de tipo silvestre se les dio una dosis subcutánea (SC) con AAB-003 o intraperitonealmente (IP) para determinar la biodisponibilidad del anticuerpo. El perfil fue típico para el anticuerpo terapéutico.

[0254] El AAB-003 fue eliminado lentamente, con un T1/2 de 66-160 horas. Hubo distribución de bajo volumen (71-96) y buena exposición (tal como se midió por AUC).

55 [0255] Algunas diferencias entre los ratones de tipo silvestre y transgénicos fueron aparentes. Por ejemplo, ratones de tipo silvestre tuvieron un AUC t T1/2 más alto. Los ratones transgénicos tuvieron niveles ligeramente más altos de anticuerpos anti-AAB-003.

Ejemplo 14: Perfiles farmacocinéticos del 3m de 3D6 de Hu (AAB-003) en monos cynomolgus

60

[0256] 10 mg/kilogramos de 3m de 3D6 de Hu o bapineuzumab fueron administrados intravenosamente (IV) a monos cynomolgus (tres animales/tratamiento de anticuerpos) para comparar los perfiles farmacocinéticos y determinar si la mutación de la función ejecutora tuvo algún efecto. Los resultados fueron comparables entre los dos anticuerpos típicos y terapéuticos en general. Hubo un bajo despeje (0.16 \pm 0.06 ml/hr/kg), un bajo volumen de distribución (-62 ml/kg), y una vida media de larga eliminación (309 \pm 226 horas). Uno de los tres animales examinados resultó positivo para anticuerpos en contra de AAB-003.

65

[0257] Las mismas dosis de anticuerpos fueron administradas subcutáneamente (SC). La biodisponibilidad fue buena, aproximándose a 69%, y la vida media varió desde 21-445 horas. Dos de los tres animales examinados resultaron positivos para anticuerpos en contra de AAB-003.

5

Ejemplo 15: El efecto de las mutaciones Fc en la función ejecutora de un anticuerpo Y anti-Lewis

[0258] Para determinar el efecto de mutaciones en la región de charnela baja del IgG1 en la función ejecutora de anticuerpos con diferentes especificidades antigénicas, diseñamos anticuerpos para el antígeno Lewis Y (LeY). LeY es un oligosacárido difucoosilado relacionado con el grupo sanguíneo tipo II que es expresado principalmente en cánceres epiteliales, incluyendo cáncer de mama, de páncreas, de colon, de ovario, grástrico y pulmonar. LeY no parece ser expresado en tumores de origen neuroectodérmico o mesodérmico.

10

[0259] El anticuerpo Ab02 anti-LeY fue generado con una de las regiones constantes de cadenas pesadas: (i) IgG1 humana de tipo silvestre; (ii) IgG4 humana de tipo silvestre; y (iii) IgG1 humana con dos mutaciones de regiones ejecutoras, L234A y G237A (refiérase a las IDENTIFICACIONES SECUENCIALES NÚMEROS: 50 y 51). IgG4 ha demostrado tener una función ejecutora en otros sistemas.

15

[0260] Para el ensayo de ADCC (citotoxicidad de complementos dependientes de anticuerpos - antibody-dependent complement cytotoxicity), células de adenocarcinoma gástricas humanas N87 que sobreexpresan LeY fueron utilizadas como células objetivo, y PBMC humanas recién aisladas fueron utilizadas como células ejecutoras. Las células ejecutoras y objetivas fueron puestas en platos a una tasa de 50:1 en platos de 96 pozos. Se aplicaron anticuerpos a varias concentraciones (0.1, 1 y 10 µg/mililitros) en triplicado con un medio, los controles celulares ejecutores y de objetivo, y controles de anticuerpos. Las actividades ADCC de las versiones de Ab02 de anti Lewis Y son presentadas en la figura 26.

20

25

[0261] Para el ensayo CDC (citotoxicidad dependiente del complemento - complement dependent cytotoxicity), células tumorales positivas LeY (A431 LeY) fueron colocadas en platos de 96 pozos con varios puntos de anticuerpos (0.1, 1 y 10 µg/mililitros). Complemento humano diluido (1:100), fue agregado a cada pozo. Se realizaron pruebas en triplicado a un volumen final de 100 µl/mililitros con un medio, células solas, anticuerpos y controles complementarios. Después de cuatro horas de incubación a 37 °C, las placas fueron removidas y equilibradas a 22 °C.

30

[0262] Un volumen igual de CytoTox-One™ fue agregado en cada pozo, e incubado durante 10 minutos a 22 °C. Como control positivo, 2 µl de amortiguador de lisis por pozo (en triplicado) fue agregado para generar una liberación máxima de LDH (lactato deshidrogenasa) en los pozos de control. La reacción enzimática fue detenida al agregar 50 µl de solución detenedora. La fluorescencia resultante fue registrada con una longitud de onda de excitación de 560 nm y una longitud de onda de emisión de 590 nm. El porcentaje de lisis celular relacionada con el complemento fue calculada como un porcentaje de la liberación de LDH total (figura 27).

35

40

[0263] A pesar de las mutaciones L234A y G237A en IgG1, los anticuerpos mutantes retuvieron completamente su capacidad para mediar a ADCC y CDC en contra de las células tumorales que expresan a Lewis Y, en comparación del IgG1 de tipo silvestre.

45

Ejemplo 16: Efecto de mutaciones Fc en la función ejecutora del anticuerpo anti-5T4

[0264] Para investigar más el efecto de las mutaciones Fc en el IgG1 humano en la función ejecutora de anticuerpos con diferente especificidad de antígenos, diseñamos anticuerpos para la proteína oncofetal 5T4. 5T4 es una proteína asociada con tumores que se muestra en la membrana celular de varios carcinomas, y es un blanco prometedor para el desarrollo de vacunas antitumorales y para terapias dirigidas por anticuerpos.

50

[0265] El anticuerpo anti-5T4 fue generado con diferentes combinaciones de mutaciones en la región constante de cadenas pesadas. Las cadenas pesadas utilizadas fueron: (i) IgG1 humanas de tipo silvestre; (ii) IgG4 humanas de tipo silvestre; (iii) IgG1 humana, L234A y L235A; (iv) IgG1 humana, L234A y G237A; (v) IgG1 humana, L235A y G237A; y (vi) IgG1 humana con tres mutaciones de regiones ejecutoras, L234A, L235A, y G237A (refiérase a las IDENTIFICACIONES SECUENCIALES NÚMEROS: 62 y 63).

55

[0266] La línea celular de carcinoma de mama humana MDAMB435, transfectada establemente con el antígeno 5T4, fue utilizada para los ensayos ADCC y CDC. El ensayo ADCC de anticuerpos anti-5T4 fue descrito en el ejemplo 15, utilizando PBMC humanas recién aisladas como células ejecutoras en una tasa de células ejecutoras:objetivo de 50:1. Las células transfectadas MDAMB435-Neo fueron utilizadas como un control negativo. Los resultados de la actividad ADCC (citotoxicidad específica máxima a la concentración de anticuerpos de 10 µg/mililitros) son resumidas en la tabla 15.

60

65

TABLA 15

Actividad ADCC de anticuerpos anti-5T4 en contra de la línea celular MDAMB435 de carcinoma de mama humano positivo y negativo 5T4		
anticuerpo	% de citotoxicidad específica MDAMB345-5T4	% de citotoxicidad específica MDAMB-Neo
5T4-IgG1wt 81 3	81	3
ST4-IgG1 L234A/G237A	78	2
5T4-IgG1 L234A/L235A	15	2
ST4-IgG1 L235A/G237A	27	2
5T4-IgG1 L234A/L235A/G237A	2	2
5T4-IgG1 N297A	5	3
5T4-IgG4	2	2

[0267] Para evaluar un efecto de las mutaciones Fc en la citotoxicidad inducida de los complementos, células MDAMB435-5T4 de carcinoma de mama humanas fueron incubadas con un complemento humano diluido tal como se describió en el ejemplo 15. Los resultados de los ensayos CDC fueron presentados en la tabla 16.

TABLA 16

Actividad CDC de anticuerpos anti-5T4 en contra de la línea celular MDAMB435 de carcinoma de mama humano positivo y negativo 5T4		
anticuerpo	% de citotoxicidad específica MDAMB345-5T4	% de citotoxicidad específica MDAMB-Neo
5T4-IgG1wt	90	2
5T4-IgG1 L234A/G237A	72	2
5T4-IgG1 L3234A/L235A	5	2
5T4-IgG1 L235A/G237A	19	2
5T4-IgG1 L234A/L235A/G237A	1	1
5T4-IgG1 N297A	1	1
5T4-IgG4	1	1

[0268] La introducción de dos mutaciones en la región de charnela baja de IgG1 humano en cualquiera de las combinaciones intentadas (L234A/L235 ; L234A/G237A; L235A/G237A) sólo redujo parcialmente las actividades ADCC y CDC con L235A/G237A mostrando capacidades funcionales ejecutoras residuales más altas. Sin embargo, el anticuerpo anti-5T4 con tres mutaciones en la región de charnela baja del IgG1 (L234A/ L235A/G237A) demostró actividades ADCC y CDC completamente abolidas.

50 Conclusiones

[0269] Los ejemplos suministraron varias comparaciones de los anticuerpos mutantes de la región Fc con diferentes especificidades de antígenos. El ejemplo 6 describe un ensayo ADCC utilizando anticuerpos específicos A con mutaciones IgG1 Fc en L234A y G237A (mutaciones dobles), o L234, L235A, y G237A (mutaciones triples). Las mutaciones dobles y triples redujeron funciones reducidas significativamente (refiérase a la figura 22). El ejemplo 15 describe ensayos ADCC y CDC usando anticuerpos específicos LeY con mutaciones IgG1 en L234A y G237A. en este caso, el anticuerpo mutante retuvo la función ejecutora (refiérase a las figuras 6 y 27). Finalmente, el ejemplo 16 compara las mutaciones IgG1 Fc de los anticuerpos específicos 5T4. Cada uno de las mutaciones dobles (L234A/L235; L234A/G237A; L235A/G237A) retuvieron más actividad ejecutora que las mutaciones triples (L234A/ L235A/G237A) (refiérase a las tablas 15 y 16). La actividad ejecutora de la mutación doble L234A/L235, sin embargo, fue reducida a casi el mismo nivel que aquella de las mutaciones triples.

[270] Los resultados anteriores demuestran que el efecto de las mutaciones de las regiones de charnela pueden depender de varios factores, incluyendo la densidad del antígeno objetivo en la superficie celular. Sin embargo, la información indica que interrupciones en las tres posiciones son necesarias para eliminar la actividad ejecutora.

[0271] Los ejemplos anteriores son solamente ilustrativos. El alcance del invento está cubierto por las declaraciones.

LISTAS DE SECUENCIAS

5

[0272]

<110> BLACK, RONALD EKMAN, LARS LIEBERBURG, IVAN GRUNDMAN, MICHAEL CALLAWAY, JIM GREGG, KEITH M. JACOBSEN, JACK STEVEN GILL, DAVINDER TCHISTIAKOVA, LIUDMILA WIDOM, ANGELA

10

<120> REGÍMENES DE INMUNOTERAPIA QUE DEPENDEN DEL ESTADO APOE

<130> 15270C-000420US

15

<140>
<141>

<150> 61/083,827 <151> 2008-07-25

<150> 60/999,423 <151> 2007-10-17

20

<160> 99

<170> Versión de patente 3.5

25

<210> 1
<211> 42
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 1

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

35

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

40

Gly	Leu	Met	Val	Gly	Gly	Val	Val	Ile	Ala
		35					40		

45

<210> 2
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

50

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

<400> 2

55

60

65

ES 2 547 230 T3

	Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Pro	Gly
	1				5					10					15	
5	Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Ser
				20					25					30		
10	Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
			35					40					45			
15	Pro	Gln	Arg	Leu	Ile	Tyr	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Asp	Ser	Gly	Val	Pro
		50					55					60				
20	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
	65					70					75					80
25	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Trp	Gln	Gly
					85					90					95	
30	Thr	His	Phe	Pro	Arg	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
				100					105					110		
35	<210> 3															
	<211> 119															
	<212> PRT															
	<213> Secuencia Artificial															
40	<220>															
	<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético															
	<400> 3															
45																
50																
55																
60																
65																

ES 2 547 230 T3

Tyr Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 5
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 10
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 15
 Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 20
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 25
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95
 30
 Thr His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 35
 <210> 5
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 45
 <400> 5
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 50
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 55
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 60
 65

ES 2 547 230 T3

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

5

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

10

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

15

Val Arg Tyr Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

20

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

25

<210> 6
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

35

<400> 6

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

40

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

45

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

50

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

55

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

60

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

65

Thr His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

ES 2 547 230 T3

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140
 5
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 10
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175
 15
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 20
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 25
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 7
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 30
 <400> 7
 35
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 40
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 45
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 50
 Ala Ser Ile Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ser Asp Asn Val
 50 55 60
 55
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 60
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 65
 Val Arg Tyr Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

ES 2 547 230 T3

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

ES 2 547 230 T3

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365

5 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380

10 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400

15 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415

20 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430

25 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

30 Lys

<210> 8
 <211> 112
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

40 <400> 8

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

45 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Asn Ile Ile His Ser
 20 25 30

50 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

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

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

65 Lys Lys Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
 85 90 95

ES 2 547 230 T3

Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Glu
 100 105 110

5 <210> 9
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

<400> 9

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

20 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 20 25 30

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

30 Trp Leu Ala His Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

35 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Arg Lys Gln Val
 65 70 75 80

40 Phe Leu Lys Ile Thr Ser Val Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95

45 Cys Val Arg Arg Pro Ile Thr Pro Val Leu Val Asp Ala Met Asp Tyr
 100 105 110

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

<210> 10
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

60 <400> 10

65

ES 2 547 230 T3

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

40 <210> 12
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 50
 55
 60
 65 <400> 12

ES 2 547 230 T3

1 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 5 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser
 10 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 15 Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser
 20 Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu
 25 Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 30 Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 35 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 40 <210> 13
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 <400> 13
 50 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 55 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser
 60 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu

40

45

<400> 13

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

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

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

65

ES 2 547 230 T3

Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

5

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

10

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

15

Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

20

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 14
<211> 120
25 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

30

<400> 14

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

35

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

40

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

45

Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

50

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

55

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

60

Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

65

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

ES 2 547 230 T3

<210> 15
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 <400> 15
 10 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 15 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser
 20 20 25 30
 20 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45
 25 Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 30 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val
 65 70 75 80
 35 Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95
 40 Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 45 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 16
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 50
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 <400> 16
 55
 60
 65

ES 2 547 230 T3

1 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 5 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 10 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 15 Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser
 20 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val
 25 Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 30 Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 35 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 40 <210> 17
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 <400> 17

40

45

50

55

60

65

ES 2 547 230 T3

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

115

120

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

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

<400> 18

55

60

65

ES 2 547 230 T3

1 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 5 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 10 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 15 Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser
 20 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu
 25 Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 30 Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 35 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 40 <210> 19
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 <400> 19
 50 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 55 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser
 60
 65

ES 2 547 230 T3

Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45
 5
 Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 10
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val
 65 70 75 80
 15
 Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95
 20
 Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 25
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 30
 <210> 20
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 <400> 20
 40
 45
 50
 55
 60
 65

ES 2 547 230 T3

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

40 <210> 21
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 <400> 21

50

55

60

65

ES 2 547 230 T3

1 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 5 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser
 10 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 15 Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser
 20 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu
 25 Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 30 Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 35 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Val
 <210> 22
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 45 <400> 22
 50 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 55 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 60
 65

ES 2 547 230 T3

	Gly	Met	Ser	Val	Gly	Trp	Ile	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu
			35					40					45			
5	Trp	Val	Ala	His	Ile	Trp	Trp	Asp	Asp	Asp	Lys	Tyr	Tyr	Asn	Pro	Ser
		50					55					60				
10	Leu	Lys	Ser	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Thr	Val
	65					70					75					80
15	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr
					85					90					95	
20	Cys	Ala	Arg	Arg	Thr	Thr	Thr	Ala	Asp	Tyr	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln
				100					105					110		
25	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Val							
			115					120								
30	<210>	23	<211>	120	<212>	PRT	<213>	Secuencia Artificial								
35	<220>	<223>	Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintéticos													
	<400>	23														
40																
45																
50																
55																
60																
65																

ES 2 547 230 T3

1 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 5 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 10 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 15 Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser
 20 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu
 25 Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 30 Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 35 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 24

<211> 120

<212> PRT

40 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

45 <400> 24

50

55

60

65

ES 2 547 230 T3

1 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 5 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 10 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 15 Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser
 20 Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu
 25 Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 30 Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 35 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 40 <210> 25
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 <400> 25
 50 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 55 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser
 60
 65

ES 2 547 230 T3

Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45
 5
 Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 10
 Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val
 65 70 75 80
 15
 Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95
 20
 Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 25
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 30
 <210> 26
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 <400> 26
 40
 45
 50
 55
 60
 65

ES 2 547 230 T3

1 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 5 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser
 10 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 15 Trp Val Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser
 20 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu
 25 Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 30 Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 35 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 <210> 27
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 <400> 27

ES 2 547 230 T3

1 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 5 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe Thr Leu Ser Thr Ser
 20 25 30
 10 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45
 15 Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 20 Leu Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu
 65 70 75 80
 25 Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95
 30 Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 35 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 28
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 45 <400> 28
 50 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 55 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 60
 65

ES 2 547 230 T3

	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
	1			5					10						15	
5	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Phe	Ser	Gly	Phe	Thr	Leu	Ser	Thr	Ser
				20					25					30		
10	Gly	Met	Ser	Val	Gly	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu
			35					40					45			
15	Trp	Leu	Ala	His	Ile	Trp	Trp	Asp	Asp	Asp	Lys	Tyr	Tyr	Asn	Pro	Ser
	50						55					60				
20	Leu	Lys	Ser	Arg	Leu	Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Thr	Val
	65					70					75					80
25	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr
				85						90					95	
30	Cys	Ala	Arg	Arg	Thr	Thr	Thr	Ala	Asp	Tyr	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln
				100						105					110	
35	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
			115					120								
40	<210> 30															
	<211> 120															
	<212> PRT															
	<213> Secuencia Artificial															
45	<220>															
	<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético															
	<400> 30															
50																
55																
60																
65																

ES 2 547 230 T3

5 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 20 25 30
 10 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45
 15 Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 20 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val
 65 70 75 80
 25 Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95
 30 Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 35 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 31
 <211> 112
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 45 <400> 31
 Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 50
 55
 60
 65

ES 2 547 230 T3

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

30 <210> 32
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

<400> 32

40

45

50

55

60

65

ES 2 547 230 T3

1 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
 5 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Asn
 10 Gly Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu
 15 Trp Leu Ala His Ile Tyr Trp Asp Glu Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ser
 20 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Asn Asn Gln Val
 25 Phe Leu Lys Ile Thr Asn Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 30 Cys Ala Arg Arg Arg Ile Ile Tyr Asp Val Glu Asp Tyr Phe Asp Tyr
 35 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
 40 <210> 33
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Val o Ile
 55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Ser o Thr
 60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (14)..(14)
 <223> Thr o Ser
 65 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (15)..(15)
 <223> Leu o Pro
 <220>

ES 2 547 230 T3

<221> MOD_RES
 <222> (30)..(30)
 <223> Ile o Val

5 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (50)..(50)
 <223> Arg, Gln o Lys

10 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (88)..(88)
 <223> Val o Leu

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (105)..(105)
 <223> Gln o Gly

20 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (108)..(108)
 <223> Lys o Arg

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (109)..(109)
 <223> Val o Leu
 <400> 33

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

35 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Xaa Tyr Ser
 20 25 30

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

45 Pro Xaa Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

55 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Xaa Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser
 85 90 95

60 Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Xaa Gly Thr Xaa Xaa Glu Ile Lys
 100 105 110

65 Arg

<210> 34
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 10
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Glu o Gln
 15
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Ser o Leu
 20
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (46)..(46)
 <223> Glu, Val, Asp o Ser
 25
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (63)..(63)
 <223> Thr o Ser
 30
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (75)..(75)
 <223> Ala, Ser, Val o Thr
 35
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (76)..(76)
 <223> Lys o Arg
 40
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (89)..(89)
 <223> Glu o Asp
 45
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (107)..(107)
 <223> Leu o Thr
 50
 <400> 34
 55
 60
 65

ES 2 547 230 T3

1 Xaa Val Gln Leu Val Glu Xaa Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 5 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
 10 Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Xaa Leu Val
 15 Ala Gln Ile Asn Ser Val Gly Asn Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Xaa Val
 20 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Xaa Xaa Asn Thr Leu Tyr
 25 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Xaa Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 30 Ala Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Xaa Val Thr Val Ser Ser

<210> 35

<211> 219

<212> PRT

35 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

40 <400> 35

45

50

55

60

65

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

5 <400> 36

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 547 230 T3

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

ES 2 547 230 T3

	225				230					235					240	
5	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu
					245					250					255	
10	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys
				260					265					270		
15	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys
			275					280					285			
20	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu
		290					295					300				
25	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys
	305					310					315					320
30	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
					325					330					335	
35	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Ala	Arg	Tyr	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
				340					345					350		
40	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
			355					360					365			
45	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
		370					375					380				
50	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
	385					390					395					400
55	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
				405						410					415	
60	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
				420					425					430		
65	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	
			435					440					445			

<210> 37
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

ES 2 547 230 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

5 <400> 37

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

10

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Leu His Ser
20 25 30

15

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

20

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

25

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

30

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

35

Ser Leu Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 38

40 <211> 123

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

45 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

<400> 38

50

55

60

65

ES 2 547 230 T3

5 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 10 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 20 25 30
 15 Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 20 Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Ser Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 25 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 30 Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 35 Cys Ala Arg Arg Gln Leu Gly Leu Arg Ser Ile Asp Ala Met Asp Tyr
 100 105 110
 40 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 45 <210> 39
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 50 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 55
 60
 65

ES 2 547 230 T3

5 Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Gly
 1 5 10 15
 10 Ser Ser Ser Asp Val Met Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val
 20 25 30
 15 Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu
 35 40 45
 20 Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Met Gln Lys Pro
 50 55 60
 25 Gly Gln Ser Pro Met Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
 65 70 75 80
 30 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 85 90 95
 35 Leu Lys Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Phe Tyr Cys
 100 105 110
 40 Phe Gln Gly Ser Arg Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
 115 120 125
 45 Glu Leu Lys Arg
 130
 50 <210> 41
 <211> 142
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 60
 65 <400> 41

ES 2 547 230 T3

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

<210> 43

<211> 138

<212> PRT

40 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

45 <400> 43

50

55

60

65

ES 2 547 230 T3

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

45 <210> 44
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

50 <220>
 <223>, Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 <400> 44

55 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 60
 60 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
 65

ES 2 547 230 T3

<210> 46
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

<400> 46

10

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

15

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

20

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

25

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

30

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

35

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

40

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

Ser

45

<210> 47
 <211> 241
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

50

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

<400> 47

55

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp
 1 5 10 15

60

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

65

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

ES 2 547 230 T3

5 Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu
50 55 60

10 Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys
65 70 75 80

15 Leu Asp Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
85 90 95

20 Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val
100 105 110

25 Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly
115 120 125

30 Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile
130 135 140

35 Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val
145 150 155 160

40 Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys
165 170 175

45 Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu
180 185 190

50 Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu
195 200 205

55 Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr
210 215 220

60 His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
225 230 235 240

65 Cys

<210> 48
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

ES 2 547 230 T3

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

5 <400> 48
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 10 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 15 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 20 Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 25 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 30 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95
 35 Thr His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 40 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125
 45 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140
 50 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 55 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175
 60 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 65 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

ES 2 547 230 T3

<210> 49
 <211> 726
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleótido Sintético
 <400> 49
 10 atggacatgc gcgtgcccgc ccagctgctg ggctgctga tgctgtgggt gtccggctcc 60
 tccggcgacg tggatgatgac ccagtcctcc ctgtccctgc ccgtgacccc cggcgagccc 120
 15 gcctccatct cctgcaagtc ctcccagctc ctgctggact ccgacggcaa gacctacctg 180
 aactggctgc tgcagaagcc cggccagtcc ccccagcgc tgatctacct ggtgtccaag 240
 20 ctggactccg gcgtgcccga ccgcttctcc ggctccggct ccggcaccga cttcacctctg 300
 aagatctccc gcgtggaggc cgaggacgtg ggcgtgtact actgctggca gggcacccac 360
 25 ttcccccgca ccttcggcca gggcaccaag gtggagatca agcgtactgt ggctgcacca 420
 tctgtcttca tcttcccgcc atctgatgag cagttgaaat ctggaactgc ctctgttggtg 480
 30 tgctgctga ataactteta tcccagagag gccaaagtac agtggaaggt ggataacgcc 540
 ctccaatcgg gtaactccca ggagagtgtc acagagcagg acagcaagga cagcacctac 600
 35 agcctcagca gcaccctgac gctgagcaaa gcagactacg agaaacacaa agtctacgcc 660
 tgccaagtca cccatcaggg cctgagctcg cccgtcacia agagcttcaa caggggagag 720
 tgttag 726
 40
 <210> 50
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45
 <400> 50
 50
 55
 60
 65

ES 2 547 230 T3

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

ES 2 547 230 T3

<210> 51
 <211> 329
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 51

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

ES 2 547 230 T3

	210		215		220														
5	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu			
	225					230					235					240			
10	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr			
				245						250					255				
15	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn			
			260						265					270					
20	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe			
			275					280					285						
25	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn			
	290						295					300							
30	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr			
	305					310					315					320			
35	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly										
				325															
35	<210>	52																	
	<211>	468																	
	<212>	PRT																	
	<213>	Secuencia Artificial																	
40	<220>																		
	<223>	Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético																	
	<400>	52																	
45	Met	Glu	Phe	Gly	Leu	Ser	Trp	Leu	Phe	Leu	Val	Ala	Ile	Leu	Lys	Gly			
	1				5					10					15				
50	Val	Gln	Cys	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln			
				20					25					30					
55	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe			
			35				40						45						
60	Ser	Asn	Tyr	Gly	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu			
		50					55					60							
65	Glu	Trp	Val	Ala	Ser	Ile	Arg	Ser	Gly	Gly	Gly	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Ser			
	65					70					75					80			
65	Asp	Asn	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn			

ES 2 547 230 T3

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

ES 2 547 230 T3

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 340 345 350
 5
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 355 360 365
 10
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 370 375 380
 15
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 385 390 395 400
 20
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 405 410 415
 25
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 420 425 430
 30
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 435 440 445
 35
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 450 455 460
 40
 Ser Pro Gly Lys
 465
 <210> 53
 <211> 467
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 45
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 <400> 53
 50
 Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15
 55
 Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 20 25 30
 60
 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45
 65
 Ser Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

ES 2 547 230 T3

5
 10
 15
 20
 25
 30
 35
 40
 45
 50
 55
 60
 65

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

Asp Asn Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
 85 90 95

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

Tyr Tyr Cys Val Arg Tyr Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr Trp
 115 120 125

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 145 150 155 160

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 165 170 175

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 180 185 190

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 195 200 205

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 210 215 220

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 225 230 235 240

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Leu
 245 250 255

Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 260 265 270

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 275 280 285

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 290 295 300

ES 2 547 230 T3

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 305 310 315 320
 5
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 325 330 335
 10
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 340 345 350
 15
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 355 360 365
 20
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 370 375 380
 25
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 385 390 395 400
 30
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 405 410 415
 35
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 420 425 430
 40
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 435 440 445
 45
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 450 455 460
 50
 Ser Pro Gly
 465
 <210> 54
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 <400> 54
 60
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 65
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30

ES 2 547 230 T3

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 5
 Ala Ser Ile Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ser Asp Asn Val
 50 55 60
 10
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 15
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 20
 Val Arg Tyr Asp His Tyr Ser Ser Gly Ser Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 25
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 30
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 35
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 40
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 45
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 50
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 55
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 60
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Leu Gly Ala Pro
 225 230 235 240
 65
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270

ES 2 547 230 T3

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 5
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 10
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 15
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 20
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 25
 Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 30
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 35
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 40
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 45
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 50
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 55
 Lys
 <210> 55
 <211> 448
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 60
 <400> 55
 65
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

ES 2 547 230 T3

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 5
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 10
 Ala Ser Ile Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ser Asp Asn Val
 50 55 60
 15
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 20
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 25
 Val Arg Tyr Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 30
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 35
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 40
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 45
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 50
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 55
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 60
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 65
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Leu Gly Ala Pro
 225 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

ES 2 547 230 T3

				260					265					270			
5	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	
			275					280					285				
10	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	
		290					295					300					
15	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	
	305					310					315					320	
20	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	
				325						330					335		
25	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	
				340					345					350			
30	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	
			355					360					365				
35	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	
		370					375					380					
40	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	
	385					390					395					400	
45	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	
					405					410					415		
50	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	
				420					425					430			
55	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	
			435					440						445			
	<210> 56																
	<211> 327																
	<212> PRT																
60	<213> Homo sapiens																
	<400> 56																
65	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	
	1			5					10					15			
70	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	
				20					25					30			

ES 2 547 230 T3

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 5
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 10
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
 65 70 75 80
 15
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 20
 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 25
 Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 115 120 125
 30
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140
 35
 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160
 40
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 165 170 175
 45
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190
 50
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205
 55
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220
 60
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240
 65
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255
 70
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270
 75
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

ES 2 547 230 T3

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 165 170 175
 5
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190
 10
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205
 15
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220
 20
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240
 25
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255
 30
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270
 35
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285
 40
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300
 45
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320
 50
 Leu Ser Leu Ser Leu Gly
 325
 50 <210> 58
 <211> 465
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 <400> 58
 60 Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15
 65 Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 20 25 30

ES 2 547 230 T3

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45
 5
 Ser Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60
 10
 Glu Trp Val Ala Ser Ile Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ser
 65 70 75 80
 15
 Asp Asn Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
 85 90 95
 20
 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 25
 Tyr Tyr Cys Val Arg Tyr Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr Trp
 115 120 125
 30
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 130 135 140
 35
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
 145 150 155 160
 40
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 165 170 175
 45
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 180 185 190
 50
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 195 200 205
 55
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
 210 215 220
 60
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
 225 230 235 240
 65
 Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
 245 250 255
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 260 265 270
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp

ES 2 547 230 T3

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15
 5 Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 20 25 30
 10 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45
 15 Ser Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60
 20 Glu Trp Val Ala Ser Ile Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ser
 65 70 75 80
 25 Asp Asn Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
 85 90 95
 30 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 35 Tyr Tyr Cys Val Arg Tyr Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr Trp
 115 120 125
 40 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 130 135 140
 45 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
 145 150 155 160
 50 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 165 170 175
 55 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 180 185 190
 60 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 195 200 205
 65 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
 210 215 220
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
 225 230 235 240
 Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
 245 250 255

ES 2 547 230 T3

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 260 265 270

5 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
 275 280 285

10 Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 290 295 300

15 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 305 310 315 320

20 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 325 330 335

25 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
 340 345 350

30 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 355 360 365

35 Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 370 375 380

40 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 385 390 395 400

45 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 405 410 415

50 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
 420 425 430

55 Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 435 440 445

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
 450 455 460

60 <210> 60
 <211> 446
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

65 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

<400> 60

ES 2 547 230 T3

5 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

10 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

15 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

20 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

25 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

30 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

35 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

40 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

45 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

50 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

55 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

60 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

65 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

60 <210> 61
<211> 445
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

65 <220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

ES 2 547 230 T3

<400> 61

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

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

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

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

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

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

35 Val Arg Tyr Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

40 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

45 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
 130 135 140

50 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160

55 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175

60 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190

65 Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205

70 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
 210 215 220

75 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240

ES 2 547 230 T3

5 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 10 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 15 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 20 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 25 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 30 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 35 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 40 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 45 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 50 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 55 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 60 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
 435 440 445
 60 <210> 62
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 65 <400> 62

ES 2 547 230 T3

5 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 10 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 15 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 20 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 25 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 30 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110
 35 Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 40 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 45 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 50 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 55 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 60 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 65 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 70 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240
 75 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255

ES 2 547 230 T3

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

5
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

10
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

15
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

20
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 63
 <211> 329
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

25
 <400> 63

30
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15

35
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

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

45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

50
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

55
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

60
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

65
 Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140

ES 2 547 230 T3

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160

5 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175

10 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190

15 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205

20 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220

25 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240

30 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255

35 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

40 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

45 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

50 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

55 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 325

<210> 64
 <211> 468
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

65 <400> 64
 Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15

ES 2 547 230 T3

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 20 25 30
 5
 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45
 10
 Ser Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60
 15
 Glu Trp Val Ala Ser Ile Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ser
 65 70 75 80
 20
 Asp Asn Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
 85 90 95
 25
 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 30
 Tyr Tyr Cys Val Arg Tyr Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr Trp
 115 120 125
 35
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 130 135 140
 40
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 145 150 155 160
 45
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 165 170 175
 50
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 180 185 190
 55
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 195 200 205
 60
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 210 215 220
 65
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 225 230 235 240
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
 245 250 255

ES 2 547 230 T3

Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 260 265 270
 5 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 275 280 285
 10 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 290 295 300
 15 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 305 310 315 320
 20 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 325 330 335
 25 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 340 345 350
 30 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 355 360 365
 35 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 370 375 380
 40 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 385 390 395 400
 45 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 405 410 415
 50 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 420 425 430
 55 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 435 440 445
 60 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 450 455 460
 65 Ser Pro Gly Lys
 465

<210> 65

<211> 467

65 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

ES 2 547 230 T3

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

5 <400> 65
 Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15
 10 Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 20 25 30
 15 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45
 20 Ser Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60
 25 Glu Trp Val Ala Ser Ile Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ser
 65 70 75 80
 30 Asp Asn Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
 85 90 95
 35 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 40 Tyr Tyr Cys Val Arg Tyr Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr Trp
 115 120 125
 45 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 130 135 140
 50 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 145 150 155 160
 55 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 165 170 175
 60 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 180 185 190
 65 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 195 200 205
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 210 215 220
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

ES 2 547 230 T3

<210> 66
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

<400> 66

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

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

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

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

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

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

40 Val Arg Tyr Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

45 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

50 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140

55 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160

60 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175

65 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190

 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205

ES 2 547 230 T3

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 5
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro
 225 230 235 240
 10
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255
 15
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270
 20
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 25
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 30
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 35
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 40
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 45
 Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 50
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 55
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 60
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 65
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

ES 2 547 230 T3

<210> 67
 <211> 448
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

<400> 67

10

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

15

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

20

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

25

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

30

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

35

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

40

Val Arg Tyr Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

45

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

50

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

55

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160

60

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175

65

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190

ES 2 547 230 T3

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 5
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 10
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro
 225 230 235 240
 15
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255
 20
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270
 25
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 30
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 35
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 40
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 45
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 50
 Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 55
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 60
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 65
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430

ES 2 547 230 T3

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

5 <210> 68
 <211> 1407
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleótido Sintético

<400> 68

15 atggagtttg ggctgagctg gctttttctt gtggctatth taaaaggtgt ccagtgtgag 60
 gtgcagctgc tggagtccgg cggcggcctg gtgcagcccg gcggctccct gcgcctgtcc 120
 20 tgcgccgctt ccggtttcac cttctccaac tacggcatgt cctgggtgcy ccaggcccc 180
 ggcaagggcc tggagtgggt ggctccatc cgctccggcy gcggccgcac ctactactcc 240
 gacaacgtga agggccgctt caccatctcc cgcgacaact ccaagaacac cctgtacctg 300
 25 cagatgaact ccctgcgcgc cgaggacacc gccgtgtact actgcgtgcy ctacgaccac 360
 tactccggct cctccgacta ctggggccag ggcaccctgg tgaccgtgtc ctccgcgtcy 420
 30 accaagggcc catcggctt cccctggca ccctcctcca agagcacctc tgggggcaca 480
 gcggccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 540
 tcaggcggcc tgaccagcgg cgtgcacacc ttccccgctg tcctacagtc ctcaggactc 600
 35 tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tcagcagct tgggcaccca gacctacatc 660
 tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agaaagttga gccc aaatct 720
 40 tgtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aagccgctgg ggcaccgtca 780
 gtcttcctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac ccctgaggtc 840
 45 acatgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 900
 gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg 960
 tacctgtggt tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 1020
 50 aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca gccccatcg agaaaacct ctccaaagcc 1080
 aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc 1140
 55 aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggte aaaggcttct atcccagcga catcgcctg 1200
 gagtgggaga gcaatgggca gccggagAAC aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 1260
 60 tccgacggct ccttcttct ctatagcaag ctaccctgg acaagagcag gtggcagcag 1320
 gggAACgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag 1380
 agcctctccc tgtccccggg taaatga 1407

65

ES 2 547 230 T3

<210> 69
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 69

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

ES 2 547 230 T3

<210> 70
 <211> 448
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 70

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

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

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

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

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

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

40 Val Arg Tyr Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

45 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

50 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140

55 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160

60 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175

65 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190

70 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205

75 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

ES 2 547 230 T3

	210		215		220											
5	Thr 225	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu 235	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro 240
10	Ser	Val	Phe	Leu	Phe 245	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys 250	Asp	Thr	Leu	Met	Ile 255	Ser
15	Arg	Thr	Pro	Glu 260	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val 265	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp 270
20	Pro	Glu	Val 275	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr 280	Val	Asp	Gly	Val	Glu 285	Val	His	Asn
25	Ala	Lys 290	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu 295	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser 300	Thr	Tyr	Arg	Val
30	Val 305	Ser	Val	Leu	Thr	Val 310	Leu	His	Gln	Asp	Trp 315	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu 320
35	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val 325	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu 330	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu 335	Lys
40	Thr	Ile	Ser	Lys 340	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro 345	Arg	Glu	Pro	Gln	Val 350	Tyr	Thr
45	Leu	Pro	Pro 355	Ser	Arg	Glu	Glu	Met 360	Thr	Lys	Asn	Gln	Val 365	Ser	Leu	Thr
50	Cys	Leu 370	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr 375	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala 380	Val	Glu	Trp	Glu
55	Ser 385	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu 390	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr 395	Thr	Pro	Pro	Val	Leu 400
60	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser 405	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser 410	Lys	Leu	Thr	Val	Asp 415	Lys
65	Ser	Arg	Trp	Gln 420	Gln	Gly	Asn	Val	Phe 425	Ser	Cys	Ser	Val	Met 430	His	Glu
70	Ala	Leu	His 435	Asn	His	Tyr	Thr	Gln 440	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu 445	Ser	Pro	Gly

ES 2 547 230 T3

<210> 71
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 <400> 71
 10 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 15 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 20 25 30
 20 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 25 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 30 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 35 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95
 40 Thr His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg
 45
 <210> 72
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 50
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 <400> 72
 55
 60
 65

ES 2 547 230 T3

5
 10
 15
 20
 25
 30
 35

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

40 <210> 73
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

<400> 73

50

55

60

65

ES 2 547 230 T3

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 5
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Asn Ile Ile His Ser
 20 25 30
 10
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 15
 Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 20
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 25
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
 85 90 95
 30
 Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg
 35
 <210> 74
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 45
 <400> 74
 50
 55
 60
 65

ES 2 547 230 T3

1 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
 5 5 10
 20 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 25 20 30
 35 Gly Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 40 35 40 45
 45 Trp Leu Ala His Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ser
 50 50 60
 55 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val
 60 65 70 75 80
 65 Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 70 85 90 95
 75 Cys Val Arg Arg Pro Ile Thr Pro Val Leu Val Asp Ala Met Asp Tyr
 80 100 105 110
 85 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 90 115 120
 95 <210> 75
 100 <211> 112
 105 <212> PRT
 110 <213> Secuencia Artificial
 115 <220>
 120 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 125 <400> 75
 130 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 135 1 5 10 15
 140 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Val Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 145 20 25 30
 150 Asn Gly Tyr Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 155 35 40 45
 160
 165

ES 2 547 230 T3

5 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

20 Arg His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 76
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

<400> 76

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

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

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

45 Ser Phe Ile Ser Asn Leu Ala Tyr Ser Ile Asp Tyr Ala Asp Thr Val
 50 55 60

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

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

60 Val Ser Gly Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

65 Val Ser Ser
 115

ES 2 547 230 T3

1 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 5 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Asn
 10 Gly Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 15 Ser Phe Ile Ser Asn Leu Ala Tyr Ser Ile Asp Tyr Ala Asp Thr Val
 20 Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 25 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 30 Val Ser Gly Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 35 Val Ser Ser
 <210> 79
 <211> 116
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 45 <400> 79
 50
 55
 60
 65

ES 2 547 230 T3

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

40 <210> 80
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

<400> 80

50

55

60

65

ES 2 547 230 T3

5 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 10 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
 20 25 30
 15 Asp Ala Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 20 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Gln Ile Ser Arg Leu Asp Pro Gly Val Pro
 50 55 60
 25 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 30 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Gly
 85 90 95
 35 Thr His Tyr Pro Val Leu Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 40 Arg Thr
 <210> 81
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 <400> 81
 50 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 55 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30
 60 Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 65 Gly Phe Thr Ser Pro Tyr Ser Gly Val Ser Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

ES 2 547 230 T3

5 Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 10 Ala Arg Phe Asp Asn Tyr Asp Arg Gly Tyr Val Arg Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 15 Gln Gly Thr Leu Val
 115
 20 <210> 82
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 25 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético
 <400> 82
 30 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 35 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Asp
 20 25 30
 40 Arg Ile Ser Phe Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 45 Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Thr Lys Gln Gly Thr Gly Val Pro Asp
 50 55 60
 50 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 55 Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Lys
 85 90 95
 60 Glu Phe Pro Trp Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105 110
 65 Thr Val
 <210> 83
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

ES 2 547 230 T3

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

5 <400> 83

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

10

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

15

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

20

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Ser Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

25

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

30

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

35

Cys Ala Arg Arg Asn Tyr Tyr Tyr Asp Asp Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

40

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 84

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

45

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

<400> 84

50

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

55

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30

60

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

65

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

ES 2 547 230 T3

	50		55		60											
5	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
	65					70					75					80
10	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Phe	Gln	Gly
				85						90					95	
15	Ser	His	Val	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
				100					105					110		
	<210> 85															
	<211> 9															
	<212> PRT															
20	<213> Homo sapiens															
	<400> 85															
25				Ala	Glu	Phe	Arg	His	Asp	Ser	Gly	Tyr				
				1				5								
	<210> 86															
	<211> 6															
	<212> PRT															
30	<213> Homo sapiens															
	<400> 86															
35				Ala	Glu	Phe	Arg	His	Asp							
				1				5								
	<210> 87															
	<211> 7															
	<212> PRT															
40	<213> Homo sapiens															
	<400> 87															
45				Glu	Phe	Arg	His	Asp	Ser	Gly						
				1				5								
	<210> 88															
	<211> 5															
	<212> PRT															
50	<213> Homo sapiens															
	<400> 88															
55				Glu	Phe	Arg	His	Asp								
				1				5								
	<210> 89															
	<211> 16															
	<212> PRT															
60	<213> Homo sapiens															
	<400> 89															
65																

ES 2 547 230 T3

	Tyr	Glu	Val	His	His	Gln	Lys	Leu	Val	Phe	Phe	Ala	Glu	Asp	Val	Gly
	1				5					10					15	
5	<210> 90															
	<211> 4															
	<212> PRT															
	<213> Homo sapiens															
10	<400> 90															
										Val	Phe	Phe	Ala			
										1						
15	<210> 91															
	<211> 9															
	<212> PRT															
	<213> Homo sapiens															
20	<400> 91															
						Gln	Lys	Leu	Phe	Phe	Ala	Glu	Asp	Val		
						1				5						
25	<210> 92															
	<211> 9															
	<212> PRT															
	<213> Secuencia Artificial															
30	<220>															
	<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido Sintético															
	<400> 92															
35																
						Lys	Leu	Val	Phe	Phe	Ala	Gly	Asp	Val		
						1				5						
40	<210> 93															
	<211> 5															
	<212> PRT															
	<213> Secuencia Artificial															
	<220>															
45	<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Marcador Sintético 5xHis															
	<400> 93															
50																
						His	His	His	His	His						
						1				5						
	<210> 94															
	<211> 5															
	<212> PRT															
55	<213> Secuencia Artificial															
	<220>															
	<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético															
60	<400> 94															
						Asp	Ala	Glu	Phe	Arg						
						1				5						
65	<210> 95															
	<211> 110															

ES 2 547 230 T3

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 95

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

10 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

15 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

20 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

25 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

30 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

35 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100 105 110

<210> 96
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 96

40

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

50 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
20 25 30

55 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
35 40 45

60 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
50 55 60

65 Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln
65 70 75 80

ES 2 547 230 T3

Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 1 5 10 15
 5
 Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp
 20 25 30
 10
 Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp
 35 40 45
 15
 Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
 50 55 60
 20
 Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp
 65 70 75 80
 25
 Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro
 85 90 95
 30
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
 100 105
 <210> 99
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 35
 <400> 99
 40
 Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15
 45
 Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val
 20 25 30
 50
 Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe
 35 40 45
 55
 Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu
 50 55 60
 60
 Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His
 65 70 75 80
 65
 Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys
 85 90 95
 70
 Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys
 100 105 110

Reivindicaciones

- 5 1. Una forma humanizada de un anticuerpo 3D6 que comprende una región constante de cadenas pesadas humanas con mutaciones L234A, L235A y G237A, donde las posiciones son enumeradas por el sistema de numeración EU, donde 3D6 es un anticuerpo producido por el acceso de ATCC número PTA- 5130.
- 10 2. El anticuerpo humanizado de la reivindicación 1, donde el isotipo es IgG1, IgG2 o IgG4, preferiblemente IgG1 humanos.
- 15 3. El anticuerpo humanizado de la reivindicación, que contiene una secuencia de región variable de cadena ligera madura de la identificación secuencia número: 2, y la secuencia de región variable de cadena pesada madura de la IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 3, donde el anticuerpo tiene un isotipo IgG humano.
- 20 4. El anticuerpo humanizado de la reivindicación 1, que contiene una cadena ligera humanizada que tiene una secuencia de aminoácidos que comprende a la IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 48 y una cadena pesada humanizada que tiene una secuencia de aminoácidos que comprende a la IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 66 o 67.
- 25 5. Una composición farmacéutica que contiene al anticuerpo humanizado de cualquiera de las reivindicaciones 1-4.
- 30 6. Un ácido nucleico aislado que codifica al anticuerpo humanizado de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que tiene una secuencia que comprende a la IDENTIFICACIÓN SECUENCIAL NÚMERO: 68, siempre y cuando los nucleótidos 1-57 que codifican a la secuencia de señalización puedan estar o no presentes.
- 35 7. El anticuerpo humanizado de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para su utilización en un método para tratar o efectuar la profilaxis de una enfermedad amiloidogénica caracterizada por depósitos de amiloides de A β en el cerebro, en un paciente que tiene cero alelos ApoE4.
- 40 8. El anticuerpo humanizado de la reivindicación 7, para su uso en la reivindicación 7, donde el paciente tiene cero alelos ApoE4 y se le administra una dosis de 0.5-2 mg/kilogramos del anticuerpo.
- 45 9. El anticuerpo humanizado de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para su uso en un método de tratamiento o de ejecución de profilaxis de una enfermedad amiloidogénica caracterizada por depósitos de amiloides de A β en el cerebro, en un paciente que tiene uno o dos alelos ApoE4.
- 50 10. El anticuerpo humanizado de la reivindicación 9, para el uso de la reivindicación 9, donde el paciente que tiene uno o dos alelos ApoE4 se le administra una dosis de 0.15-1 mg/kilogramos del anticuerpo.
- 55 11. El anticuerpo humanizado de cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, para la utilización de aquellas reivindicaciones, donde el paciente es monitoreado para detectar edemas vasogénicos, preferiblemente por medio de MRI.
- 60 12. El anticuerpo humanizado de cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, para la utilización de esas reivindicaciones, donde la enfermedad amiloidogénica caracterizada por depósitos de amiloides de A β en el cerebro es la enfermedad de Alzheimer.
- 65 13. Un anticuerpo de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para su uso en el tratamiento o profilaxis de una enfermedad caracterizada por depósitos de amiloides en el cerebro en el paciente, y por lo menos un primer o segundo régimen, donde una medida de un número de copia de ApoE4 es utilizada para seleccionar a uno de los varios regímenes.

Puntos finales de la Eficacia clínica: población total (MITT)

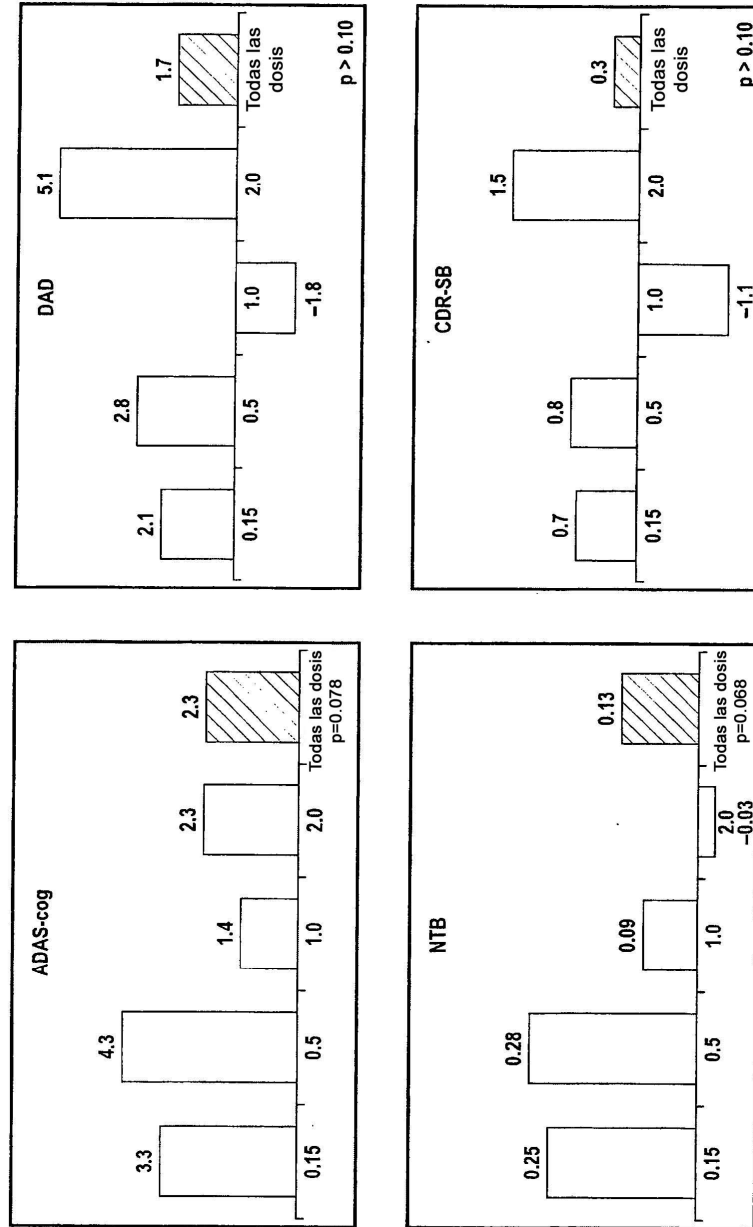


FIG. 1

Puntos finales de la Eficacia clínica: población total (terminadores)

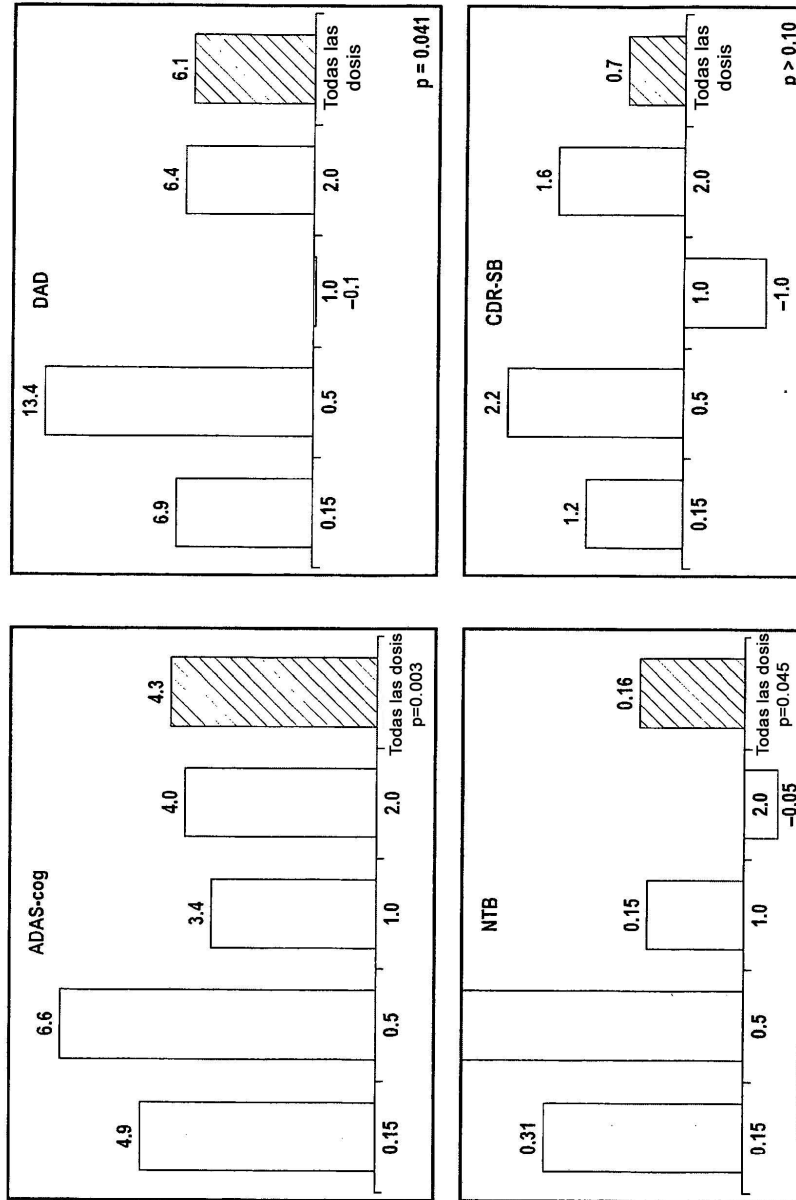


FIG. 2

Puntos finales de la Eficacia clínica: población de portadores ApoE4 (MITT)

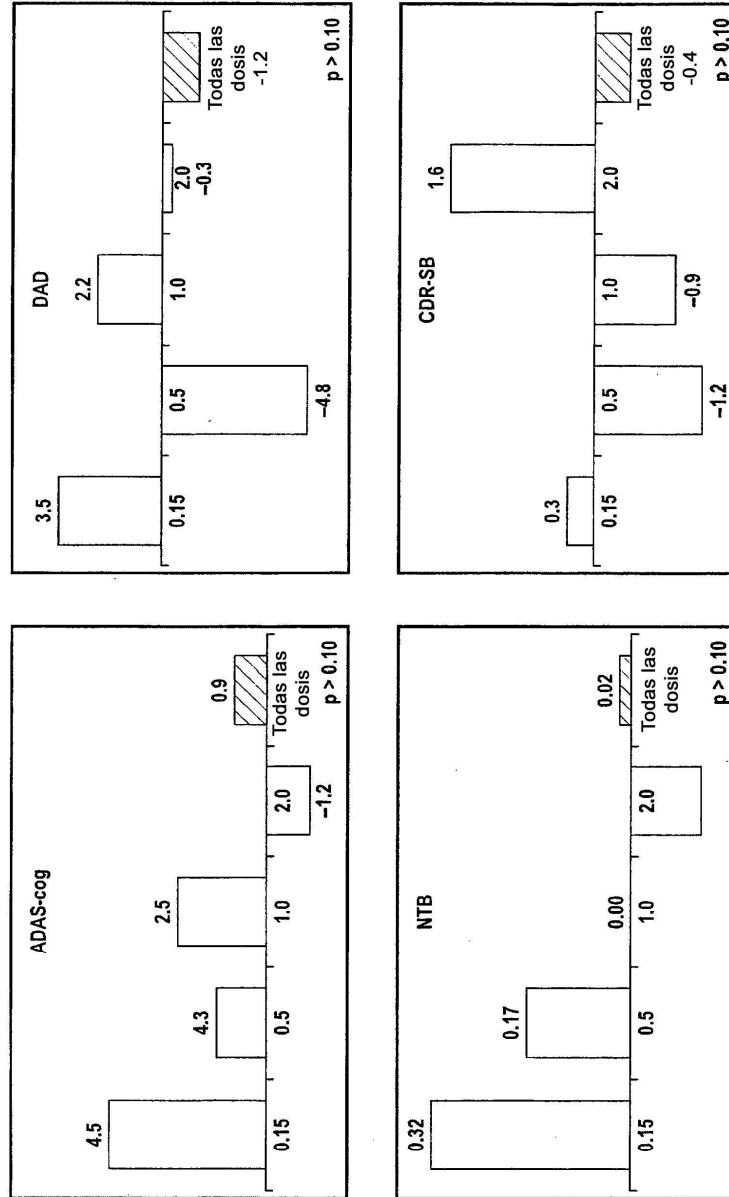


FIG. 3

Puntos finales de la Eficacia clínica: población de portadores ApoE4 (terminadores)

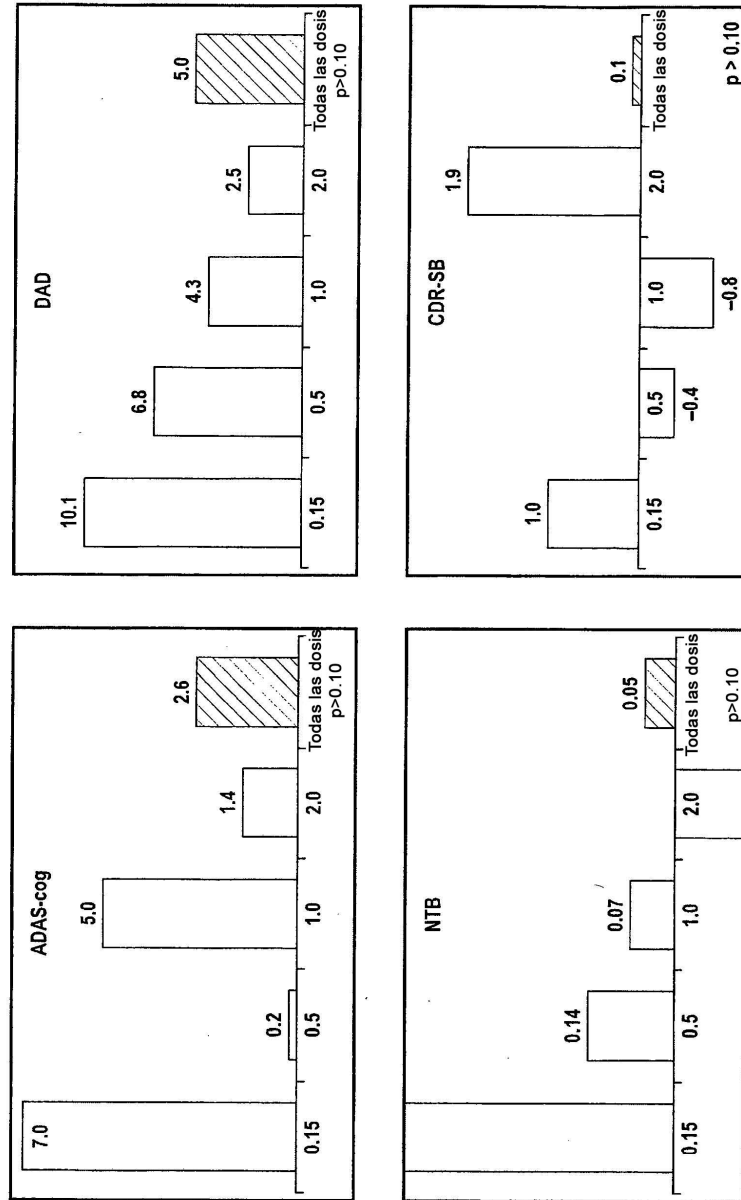


FIG. 4

Puntos finales de la Eficacia clínica: población de no portadores de ApoE4 (MITT)

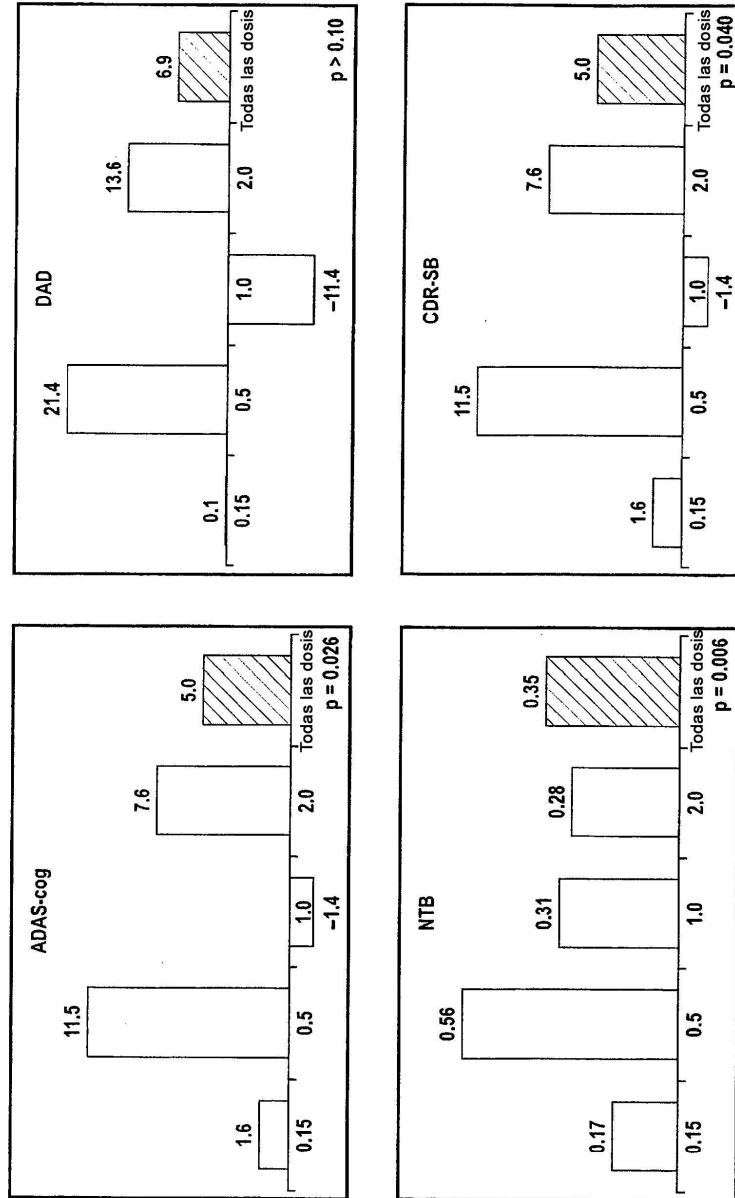


FIG. 5

Puntos finales de la Eficacia clínica: población de no portadores de ApoE4 (terminadores)

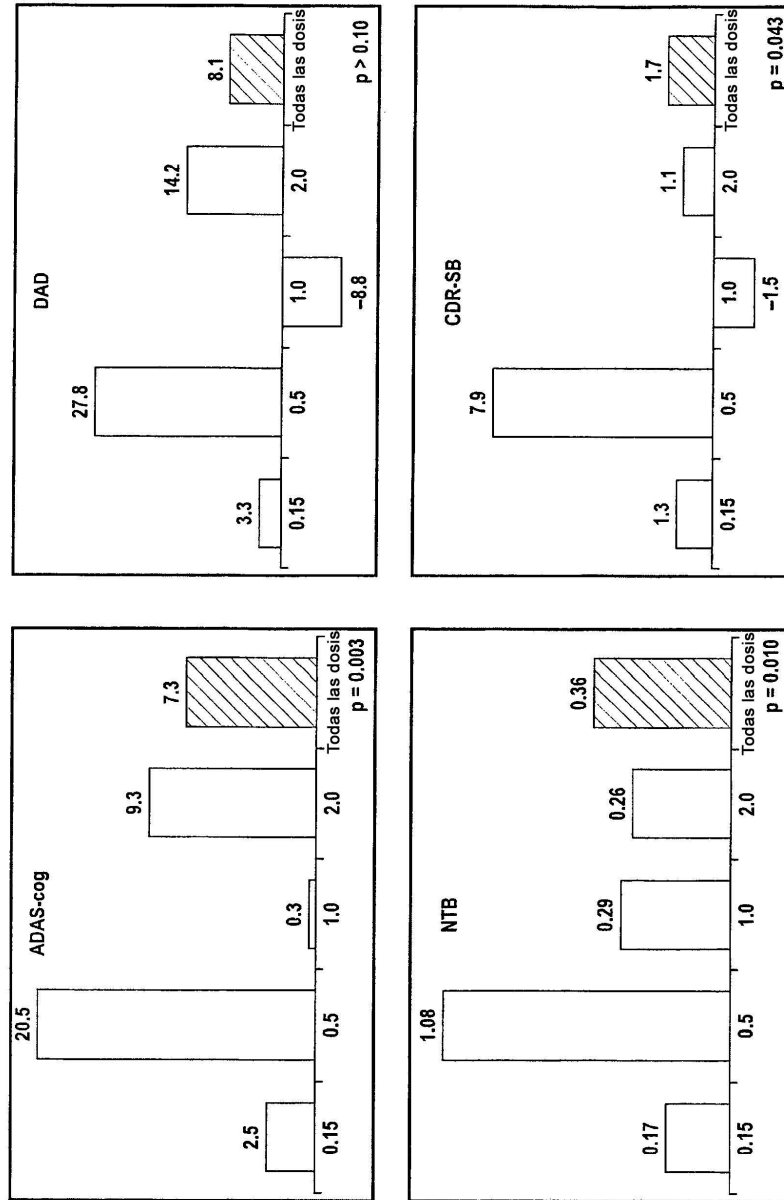


FIG. 6

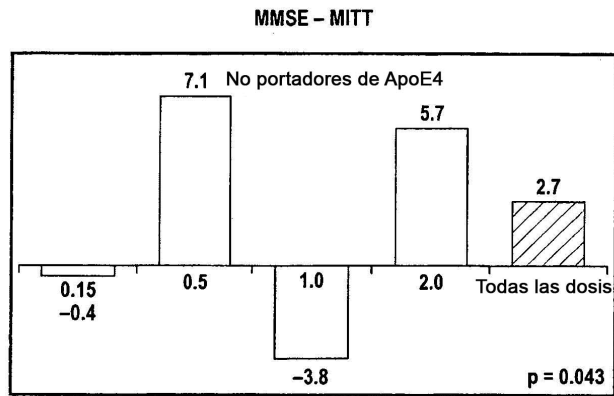


FIG. 7

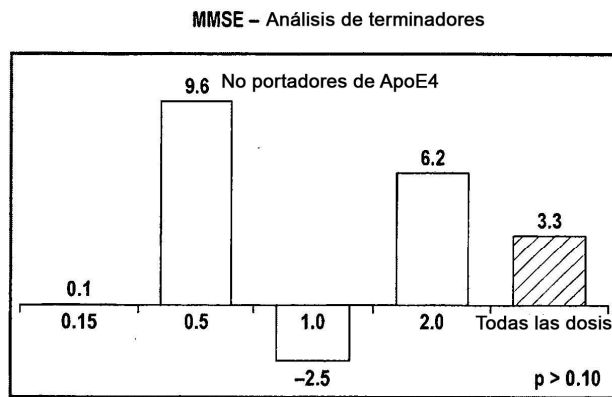


FIG. 8

Puntos finales de la Eficacia clínica: población de no portadores de ApoE4 (MITT)

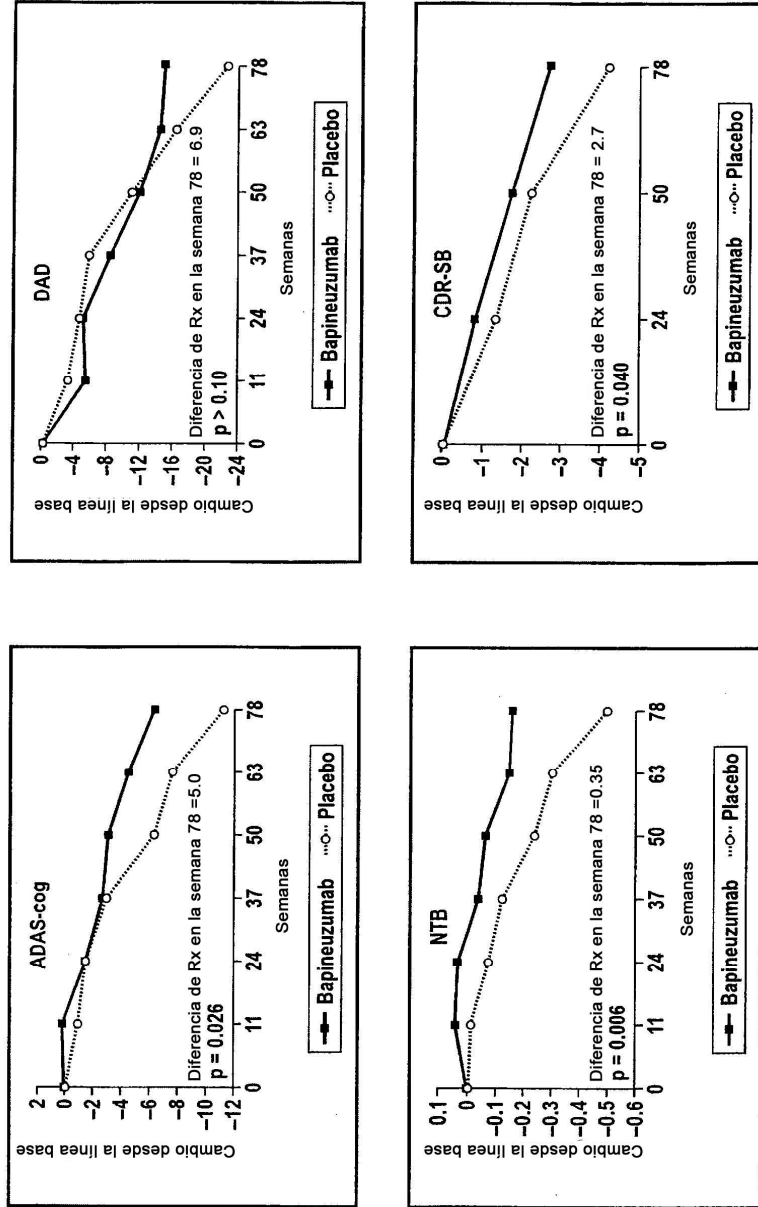


FIG. 9

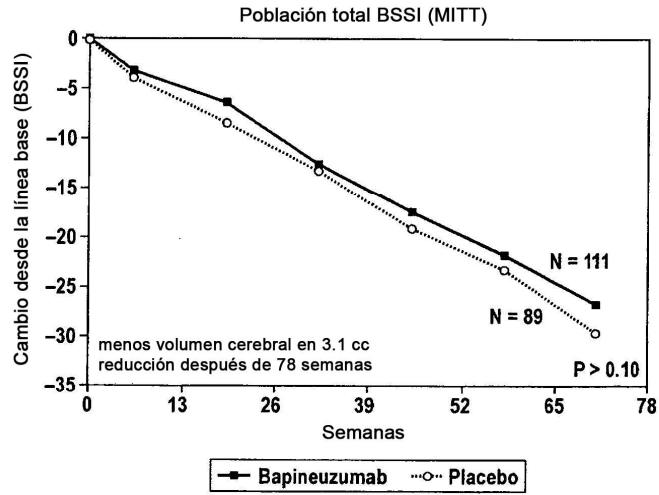


FIG. 10

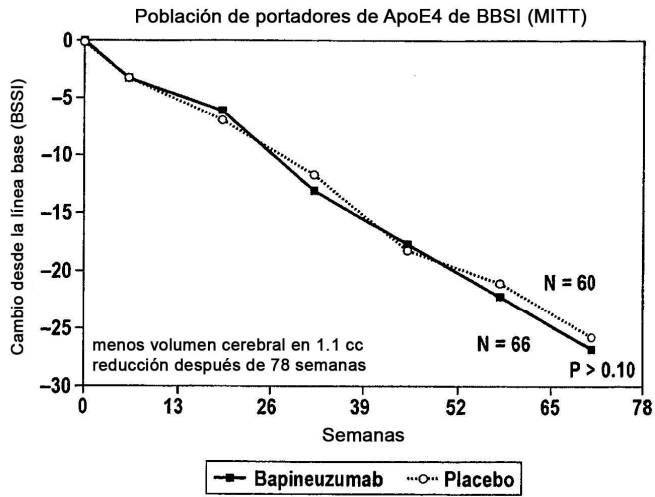


FIG. 11

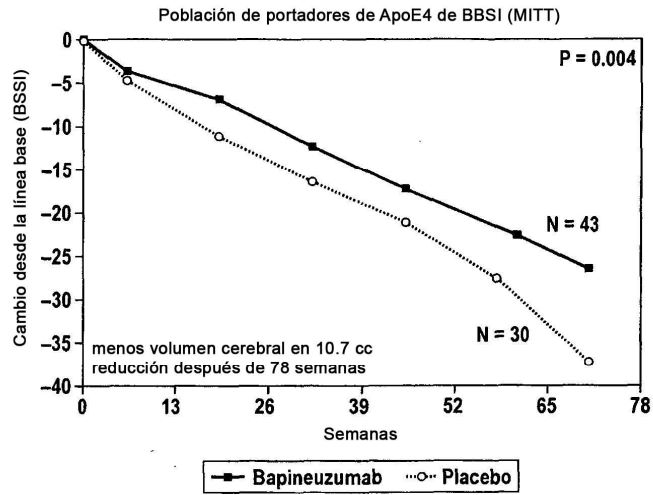


FIG. 12

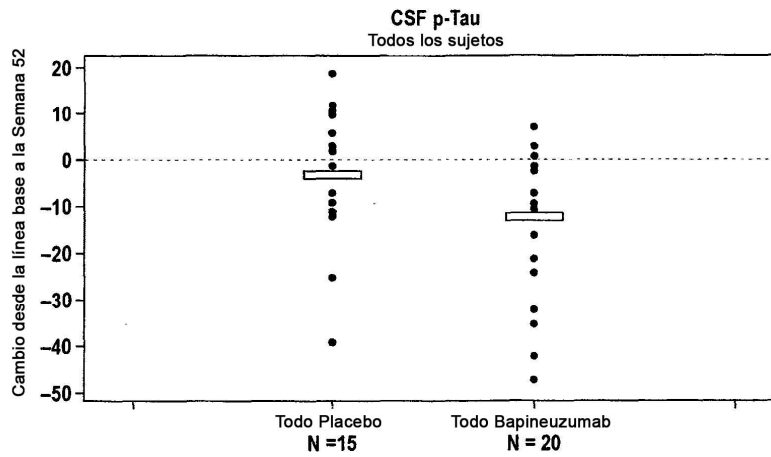


FIG. 13

Concentraciones a lo largo del tiempo de Bapineuzumab Sérico y Aβ en el Plasma

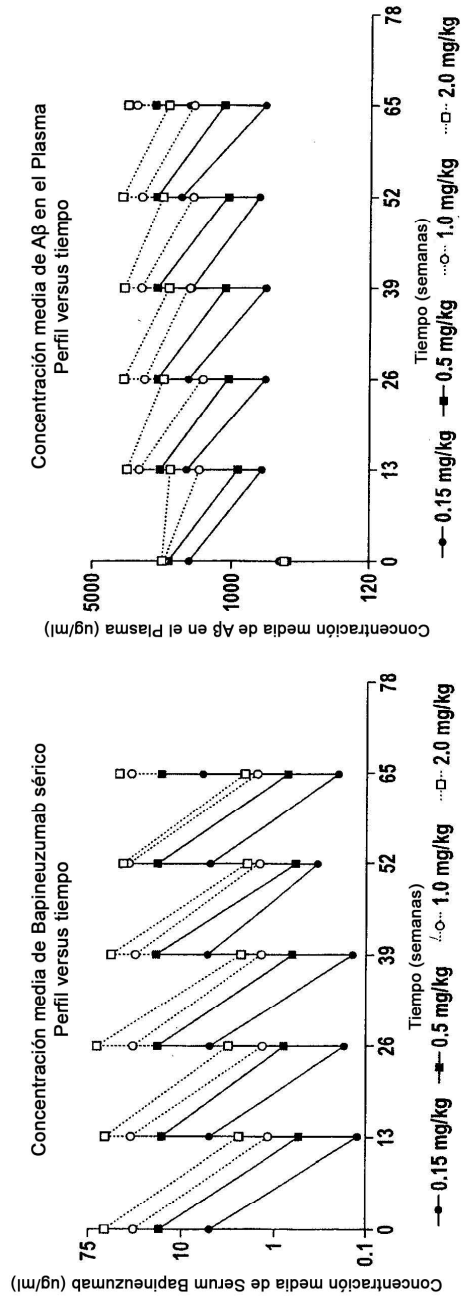


FIG. 14

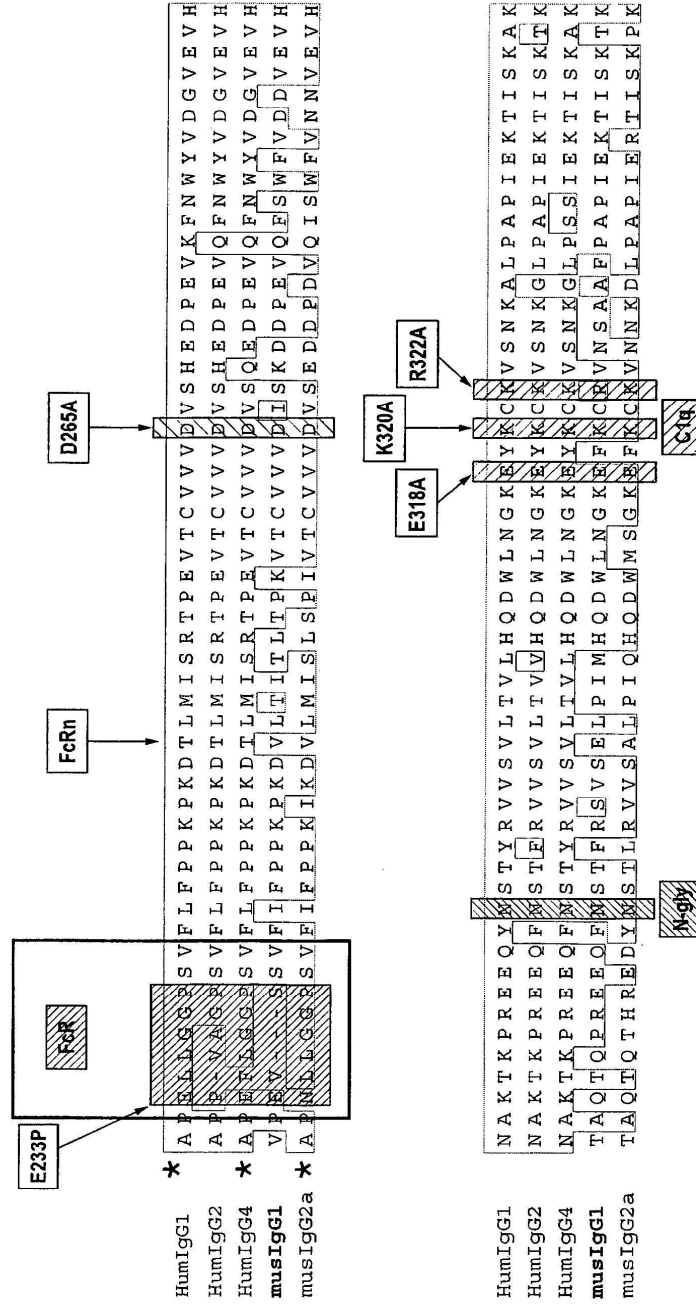


FIG. 15

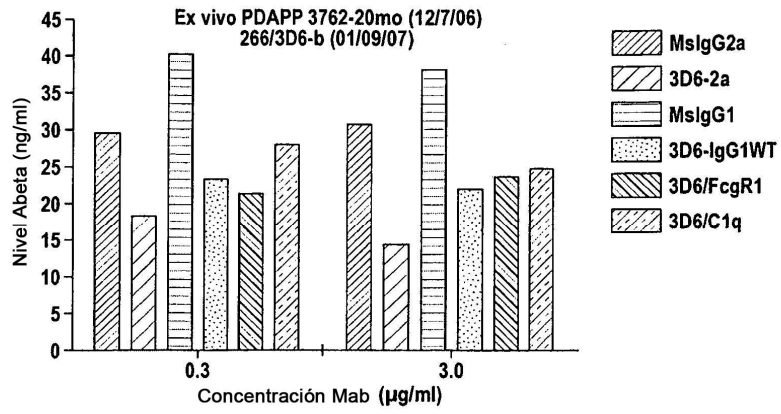


FIG. 16

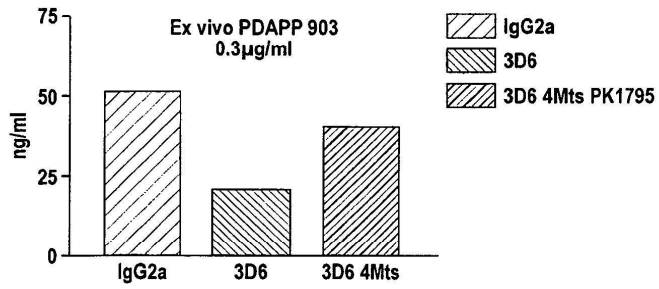


FIG. 17A

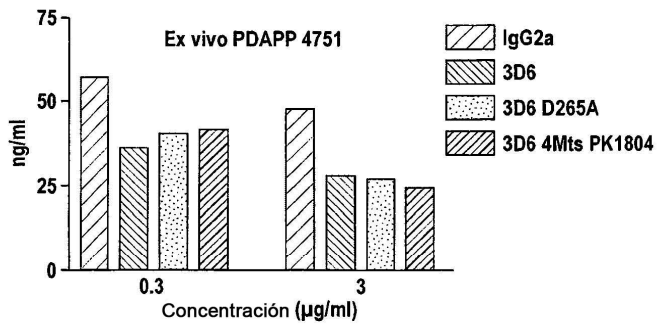


FIG. 17B

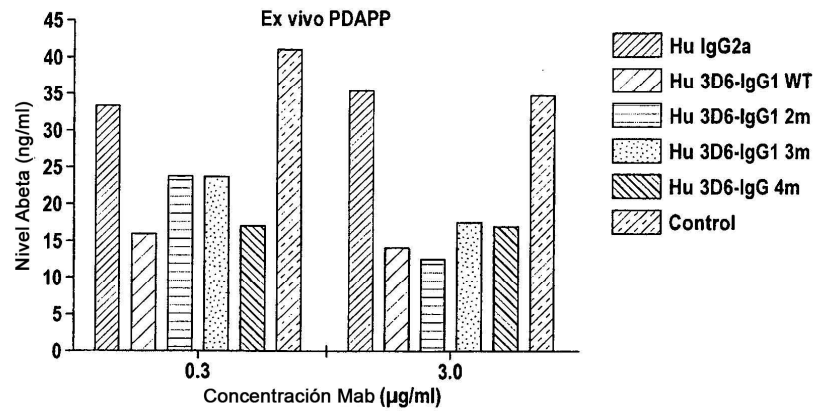


FIG. 18

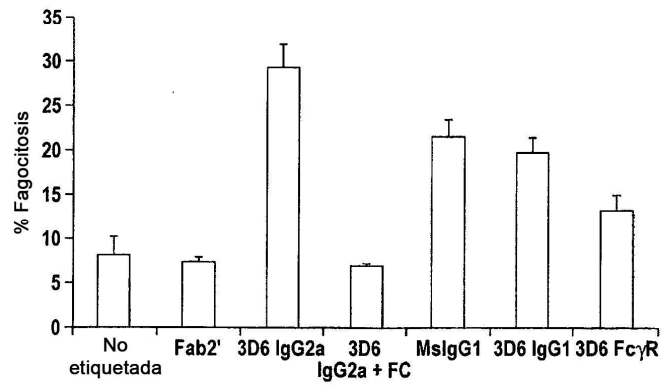


FIG. 19

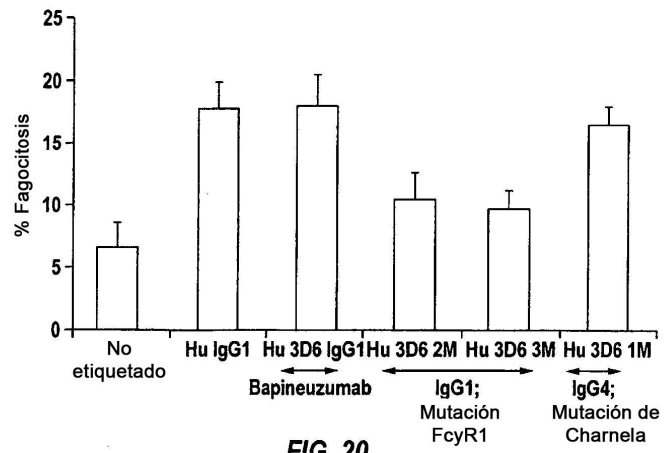


FIG. 20

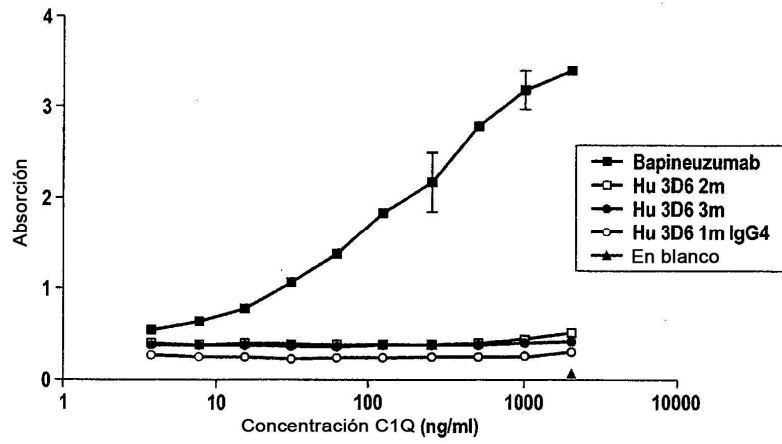


FIG. 21

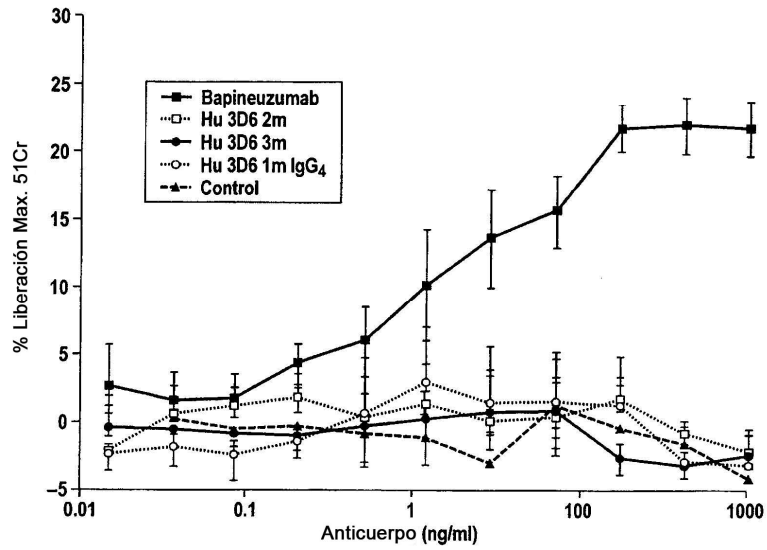


FIG. 22

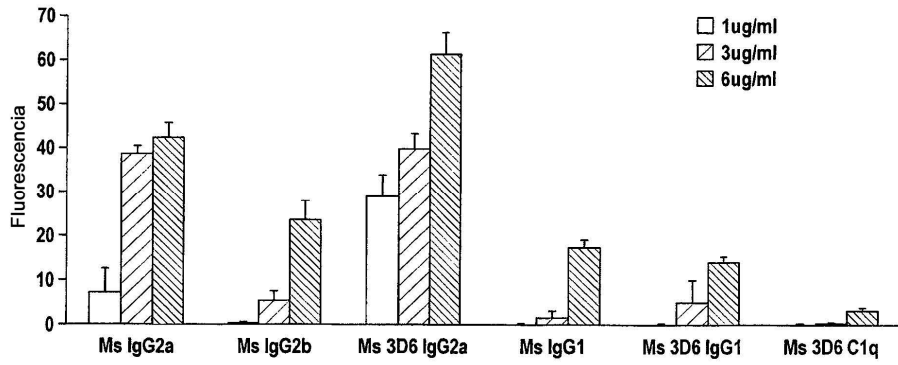


FIG. 23

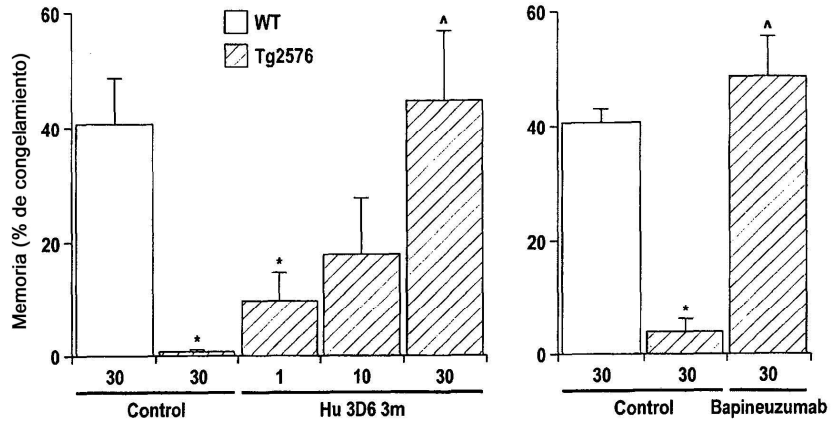


FIG. 24

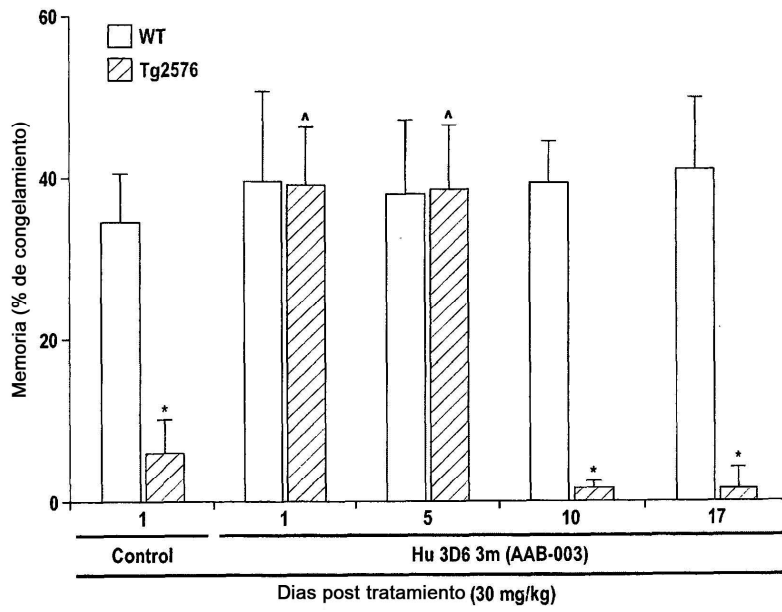


FIG. 25

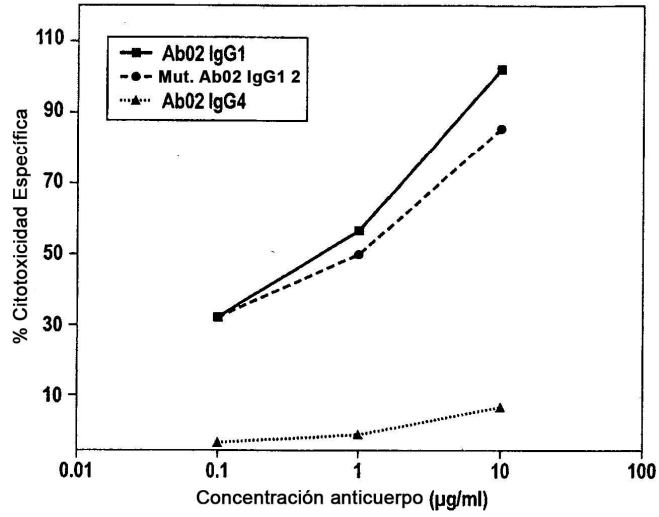


FIG. 26

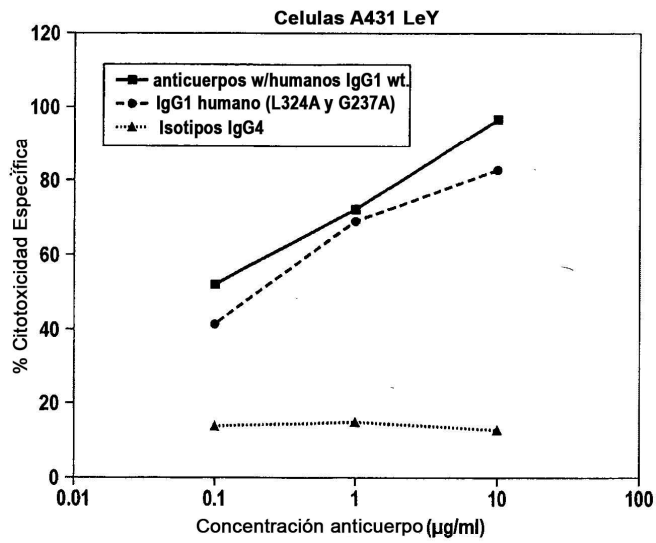


FIG. 27