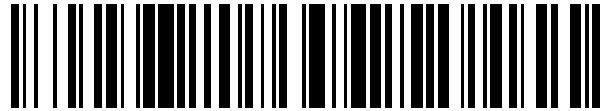


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 565 834**

51 Int. Cl.:

**C07K 16/06** (2006.01)  
**C07K 16/00** (2006.01)  
**A61K 39/395** (2006.01)  
**A61P 43/00** (2006.01)  
**C07K 19/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.05.2008 E 08769936 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.01.2016 EP 2185589**

54 Título: **Agentes de unión a receptor de Fc de región constante de inmunoglobulina**

30 Prioridad:

**01.06.2007 US 941644 P**  
**19.12.2007 US 15127 P**  
**20.12.2007 US 15547**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**07.04.2016**

73 Titular/es:

**UNIVERSITY OF MARYLAND, BALTIMORE (50.0%)**  
**620 W. LEXINGTON STREET, 4TH FLOOR**  
**BALTIMORE, MD 21201, US y**  
**GLIKNIK INC. (50.0%)**

72 Inventor/es:

**STROME, SCOTT E.;**  
**SCHULZE, DAN H.;**  
**BLOCK, DAVID S. y**  
**OLSEN, HENRIK**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 565 834 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Agentes de unión a receptor de Fc de región constante de inmunoglobulina

5 **Antecedentes de la invención****Campo de la invención**

10 La presente invención se refiere generalmente a los campos de la inmunología, la inflamación, y la inmunología tumoral. Más específicamente, la presente invención se refiere a moléculas biomiméticas biológicamente activas que comprenden dominios Fc de inmunoglobulina, a composiciones que comprenden dichos biomiméticos, y a métodos para usar dichos biomiméticos.

15 La invención también se refiere al tratamiento y profilaxis de afecciones patológicas mediadas por células derivadas de monocitos, y más particularmente al uso de porciones funcionales estabilizadas de fragmentos Fc de IgG para dichos tratamiento y profilaxis.

**Descripción de la técnica anterior**

20 Los productos de globulinas inmunitarias de plasma humano se han usado desde comienzos de la década de 1950 para tratar trastornos de inmunodeficiencia y más recientemente, y más comúnmente, para enfermedades autoinmunitarias y autoinflamatorias.

25 Inicialmente, los productos de globulinas humanas se administraron mediante inyección intramuscular. Más recientemente, se han usado globulinas inmunitarias intravenosas (IVIG) y se ha demostrado inicialmente que son eficaces para el tratamiento de la enfermedad autoinmunitaria, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP) (Imbach P, Barandun S, d'Apuzzo V, et al: High-dose intravenous gammaglobulin for idiopathic thrombocytopenic purpura in childhood. Lancet 1981 6 de Jun; 1(8232): 1228-31). Las IVIG humanas (citada en el presente documento como "hIVIG") es una formulación de productos de inmunoglobulina G (IgG) purificados fabricados a partir de plasma humano agrupado que contiene normalmente más de un 95 % de IgG no modificada, con solo cantidades pequeñas y variables de inmunoglobulina A (IgA) o de inmunoglobulina M (IgM) (véase, por ejemplo, Rutter A, Luger TA: High-dose intravenous immunoglobulins: an approach to treat severe immune-mediated and autoimmune diseases of the skin. J Am Acad Dermatol 2001 Jun; 44(6): 1010-24). Actualmente el único uso clínico más común de hIVIG es el tratamiento de la ITP.

35 Aunque las hIVIG han sido un tratamiento clínico eficaz, hay varios inconvenientes para las formulaciones de hIVIG, incluyendo el potencial de una esterilidad inadecuada, la presencia de impurezas, la falta de disponibilidad, y la variación entre lotes. En particular, las preparaciones de hIVIG pueden variar ampliamente en su contenido de inmunoglobulina A (IgA), lo que puede ser una preocupación, porque las IgA pueden provocar reacciones alérgicas y anafilácticas en receptores deficientes en IgA.

40 A la vista de los aspectos negativos de las hIVIG, hay una necesidad de medios mejorados para tratar las enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias.

45 Por ejemplo, la formación de globulinas inmunitarias que pueden contener dominios Fc adicionales en una rama lineal como resultado de la fusión a un dominio Fc existente se describe en el documento WO2005/077981.

50 Además, múltiples afecciones patológicas de una gran variedad de tipos están mediadas por células derivadas de miocitos. Un agente terapéutico y/o profiláctico para su uso en muchas, si no en todas estas afecciones tendría un valor incalculable.

**Sumario de la invención**

55 Las propiedades inmunorreguladoras de las IVIG residen en el dominio Fc de las moléculas de IgG. Por ejemplo, en los modelos murinos de ITP, tanto las IVIG no modificadas como el fragmento Fc solo demuestra eficacia terapéutica para restaurar los recuentos de plaquetas, mientras que los fragmentos Fab de IVIG aislados no son terapéuticos (Samuelsson, A., Towers, T.L. y Ravetch, J.V. Antiinflammatory Activity of IVIG Mediated Through the Inhibitory Fc Receptor. Science 291, 484-486 (2001)). Además, los fragmentos Fc, pero no los Fab de IVIG, son también terapéuticamente eficaces en el tratamiento de la púrpura trombocitopénica idiopática tanto de la infancia como en adultos (Follea, G. et al. Intravenous plasmin-treated gammaglobulin therapy in idiopathic thrombocytopenic purpura. Nouv Rev Fr Hematol 27, 5-10 (1985); Solal-Celigny, P., Bernard, J., Herrera, A. y Biovin, P. Treatment of adult autoimmune thrombocytopenic purpura with high-dose intravenous plasmin-cleaved gammaglobulins. Scand J Haematol 31, 39-44 (1983); Debre, M. y Bonnet, M.-C. Infusion of Gc-gamma fragments for treatment of children with acute immune thrombocytopenic purpura. Lancet 342, 945-49 (1993); Burdach, S.E., Evers, K. y Geurson, R. Treatment of acute idiopathic thrombocytopenic purpura of childhood with intravenous immunoglobulin G: Comparative efficacy of 7S and 5S preparations. J Pediatr 109, 770-775 (1986)).

El efecto terapéutico de las IVIG está mediado inicialmente a través del receptor de Fc gamma (FcγR) y se basa en la intercomunicación entre células dendríticas (DC)-macrófagos para sus efectos tolerogénicos a largo plazo. FcγRIIIa desempeña un papel fundamental en la fase iniciadora y FcγRIIb es necesario para la fase efectora en modelos murinos de ITP (Samuelsson, A., Towers, T.L. y Ravetch, J.V. Anti-inflammatory Activity of IVIG Mediated Through the Inhibitory Fc Receptor. *Science* 291, 484-486 (2001); Siragam, V. et al. Intravenous immunoglobulin ameliorates ITP via activating Fc[gamma] receptors on dendritic cells. *Nat Med* 12, 688 (2006)). De manera similar, estudios en seres humanos demuestran que los anticuerpos anti-receptor de Fcγ son eficaces en el tratamiento de la ITP refractaria (Clarkson, S. et al., Treatment of refractory immune thrombocytopenic purpura with an anti-Fc gamma-receptor antibody. *N Engl J Med* 314, 1236-1239 (1986)). De manera importante, los efectos tolerogénicos a largo plazo están mediados por interacciones célula-célula, ya que la transferencia adoptiva de las DC tratadas con IVIG es eficaz para tratar modelos murinos de ITP (Siragam, V. et al. Intravenous immunoglobulin ameliorates ITP via activating Fc[gamma] receptors on dendritic cells. *Nat Med* 12, 688 (2006)).

Los efectos inmunomoduladores de IVIG requieren de la agregación del FcγR. La agregación de FcγR está mediada por dímeros de IgG presentes en las IVIG (5-15 % de las IVIG totales) (Bleeker, W.K. et al. Vasoactive side effects of intravenous immunoglobulin preparations in a rat model and their treatment with recombinant platelet-activating factor acetylhydrolase. *Blood* 95, 1856-1861 (2000)). Por ejemplo, en un modelo murino de ITP, el tratamiento con IVIG con un alto contenido de "dímeros" (dímeros de moléculas de inmunoglobulina completas) potenció los recuentos de plaquetas mientras que los "monómeros" de IVIG (moléculas de inmunoglobulina completas) no fueron eficaces (Teeling, J.L. et al. Therapeutic efficacy of intravenous immunoglobulin preparations depends on the immunoglobulin G dimers: studies in experimental immune thrombocytopenia. *Blood* 98, 1095-1099 (2001)). Además, a pesar del hecho de que la resina de intercambio iónico y el fraccionamiento de polietilenglicol se usan de manera rutinaria en la fabricación de IVIG para eliminar agregados de IgG, la eficacia clínica de IVIG se correlaciona con la presencia de dímeros en los sueros de pacientes (Augener, W., Friedman, B. y Brittinger, G. Are aggregates of IgG the effective part of high-dose immunoglobulin therapy in adult idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP)? *Blut* 50, 249-252 (1985)). De manera importante, el porcentaje de dímeros también se correlaciona con efectos secundarios vasoactivos, que son tratables con acetilhidrolasa (Bleeker, W.K. et al. Vasoactive side effects of intravenous immunoglobulin preparations in a rat model and their treatment with recombinant platelet-activating factor acetylhydrolase. *Blood* 95, 1856-1861 (2000)).

La presente invención se refiere a moléculas biomiméticas biológicamente activas, a composiciones que comprenden a las mismas, y a métodos para usar las mismas. Estos biomiméticos tienen una gran aplicación para tratar trastornos inmunológicos e inflamatorios, incluyendo, pero sin limitación, enfermedades autoinmunitarias, y tienen utilidad como agentes de bioinmunoterapia para el cáncer. Además, algunos de estos biomiméticos también tienen utilidad como reactivos, tal como para su uso en ensayos inmunológicos para probar la función celular inmune y en el diagnóstico de enfermedades. Además, los biomiméticos y las composiciones de la presente invención tienen la ventaja de superar las limitaciones anteriormente enumeradas de las hIVIG. La invención también se refiere al tratamiento y profilaxis de afecciones patológicas mediadas por células derivadas de monocitos, y más particularmente al uso de porciones funcionales estabilizadas de fragmentos Fc de IgG para dichos tratamiento y profilaxis.

La presente invención es como se define en las reivindicaciones, específicamente un compuesto que comprende dos o más unidades multimerizadas, en el que cada una de dichas unidades comprende una región de multimerización y una región que comprende al menos un dominio Fc que es capaz de unirse a un receptor Fcγ, en el que cada una de dichas unidades comprende dos monómeros dimerizados, en el que cada uno de dichos monómeros comprende un monómero de región de multimerización y una región que comprende al menos un monómero de dominio Fc, en el que la dimerización de los dos monómeros forma una región de multimerización y una región que comprende al menos un dominio Fc que es capaz de unirse a un receptor Fcγ, en el que las regiones de multimerización de las dos o más unidades multimerizan para formar el compuesto, y en el que el compuesto es capaz de unirse a un primer receptor Fcγ a través de un primer dominio Fc y a un segundo receptor Fcγ a través de un segundo dominio Fc, en el que la región de multimerización se selecciona entre el grupo que consiste en una bisagra de IgG2, un dominio CH2 de IgE, una cremallera de leucina, una cremallera de isoleucina y un dedo de cinc, y en el que cada una de las regiones que comprenden al menos un dominio Fc que es capaz de unirse a un receptor Fcγ comprende una bisagra de IgG1, un dominio CH2 de IgG1 y un dominio CH3 de IgG1.

La presente invención también proporciona la composición, la composición farmacéutica, y composiciones para usos tal como se definen en las reivindicaciones.

La presente divulgación también proporciona una serie de realizaciones tal como se exponen más adelante. En la medida de que cualquier realización se encuentre fuera de las reivindicaciones es ilustrativa y parte de la divulgación con fines de referencia.

En una primera realización, la presente divulgación proporciona estradómeros en serie aislados que comprenden dos o más monómeros de estradómero asociados, en los que cada uno de los monómeros de estradómero

comprende dos o más monómeros de dominio Fc, en los que la asociación de los dos o más monómeros de estradómero forma dos o más dominios Fc, y en los que el estradómero en serie se une específicamente a un primer receptor Fc $\gamma$  a través de un primero de dos o más dominios Fc y a un segundo receptor Fc $\gamma$  a través de un segundo de los dos o más dominios Fc. En una realización preferida, los dos o más monómeros de estradómero se asocian a través de un enlace covalente, un enlace disulfuro o reticulación química.

En una realización preferida de los estradómeros en serie aislados de la presente divulgación, los estradómeros en serie aislados están compuestos de dos monómeros en serie de estradómero. En una realización igualmente preferida, los estradómeros en serie aislados están compuestos de dos monómeros de estradómeros aislados en los que ambos monómeros de estradómero comprenden dos monómeros de dominio Fc, y en los que la asociación de los dos monómeros de estradómero forma dos dominios Fc. En un primer ejemplo particular de estas realizaciones dirigido a estradómeros en serie aislados, al menos uno de los dos dominios Fc comprende una bisagra de IgG y un dominio CH2 de IgG. En un segundo ejemplo particular, cada uno de los dos dominios Fc comprende de manera independiente una bisagra de IgG y un dominio CH2 de IgG. En un tercer ejemplo particular, al menos uno de los dos dominios Fc comprende una bisagra de IgG, un dominio CH2 de IgG y un dominio CH3 de IgG. En un cuarto ejemplo particular, cada uno de los dos dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG, un dominio CH2 de IgG y un dominio CH3 de IgG. En un quinto ejemplo particular, al menos uno de los dos dominios Fc comprende una bisagra de IgG1 o una bisagra de IgG3, un dominio CH2 de IgG1 o un dominio CH2 de IgG3, y un dominio CH3 de IgG1 o un dominio CH3 de IgG3. En un sexto ejemplo particular, al menos uno de los dos dominios Fc comprende una bisagra de IgG1 o una bisagra de IgG3, y un dominio CH2 de IgG1 o un dominio CH2 de IgG3. En un séptimo ejemplo particular, cada uno de los dos dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG1 o una bisagra de IgG3, un dominio CH2 de IgG1 o un dominio CH2 de IgG3, y un dominio CH3 de IgG1 o un dominio CH3 de IgG3. En un octavo ejemplo particular, cada uno de los dos dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG1, un dominio CH2 de IgG1, y un dominio CH3 de IgG1. En un noveno ejemplo particular, cada uno de los dos dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG3, un dominio CH2 de IgG3, y un dominio CH3 de IgG3. En un décimo ejemplo particular, cada uno de los dos dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG1, un dominio CH2 de IgG1, y un dominio CH3 de IgG3.

También en esta primera realización, los dos o más dominios Fc son cada uno de una misma clase de Fc de inmunoglobulina, y la clase de Fc de inmunoglobulina se selecciona entre el grupo que consiste en IgG1, IgG2, IgG3, e IgG4. Como alternativa, los dos o más dominios Fc son cada uno de una clase de Fc de inmunoglobulina diferente, y dicha clase de Fc de inmunoglobulina se selecciona entre el grupo que consiste en IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4.

Además en esta primera realización, el primer y el segundo receptor Fc $\gamma$  son cada uno independientemente un receptor Fc $\gamma$  I, un receptor Fc $\gamma$  II, un receptor Fc $\gamma$  III o un receptor Fc $\gamma$  IV. Preferentemente, el primer y el segundo receptor Fc $\gamma$  son cada uno un receptor Fc $\gamma$  IIIa.

En una segunda realización de la presente divulgación se proporcionan estradómeros en serie aislados que comprenden dos monómeros de estradómero asociados, en los que cada uno de los monómeros de estradómero comprende dos monómeros de dominio Fc, en los que la asociación de los dos monómeros de estradómero forma dos dominios Fc, en los que cada uno de dichos dos dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG, un dominio CH2 de IgG y un dominio CH3 de IgG, y en los que el estradómero en serie se une específicamente a un primer receptor Fc $\gamma$  a través de un primero de dos dominios Fc y a un segundo receptor Fc $\gamma$  a través de un segundo de los dos dominios Fc. En una realización preferida, los dos o más monómeros de estradómero se asocian a través de un enlace covalente, un enlace disulfuro o reticulación química.

En un primer ejemplo particular de esta segunda realización, los dos dominios Fc son cada uno de una misma clase de Fc de inmunoglobulina, y la clase de Fc de inmunoglobulina se selecciona entre el grupo que consiste en IgG1, IgG2, IgG3, e IgG4. En un segundo ejemplo particular, los dos dominios Fc son cada uno de una clase diferente de Fc de inmunoglobulina, y dicha clase de Fc de inmunoglobulina se selecciona entre el grupo que consiste en IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. En un tercer ejemplo particular, al menos uno de los dominios Fc comprende una bisagra de IgG y un dominio CH2 de IgG. En un cuarto ejemplo particular, cada uno de los dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG y un dominio CH2 de IgG. En un quinto ejemplo particular, al menos uno de los dominios Fc comprende una bisagra de IgG, un dominio CH2 de IgG y un dominio CH3 de IgG. En un sexto ejemplo particular, cada uno de los dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG, un dominio CH2 de IgG y un dominio CH3 de IgG. En un séptimo ejemplo particular, al menos uno de los dominios Fc comprende una bisagra de IgG1 o una bisagra de IgG3, un dominio CH2 de IgG1 o un dominio CH2 de IgG3, y un dominio CH3 de IgG1 o un dominio CH3 de IgG3. En un octavo ejemplo particular, cada uno de los dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG1 o una bisagra de IgG3, un dominio CH2 de IgG1 o un dominio CH2 de IgG3, y un dominio CH3 de IgG1 o un dominio CH3 de IgG3. En un noveno ejemplo particular, cada uno de los dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG1, un dominio CH2 de IgG1, y un dominio CH3 de IgG1. En un décimo ejemplo particular, cada uno de los dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG3, un dominio CH2 de IgG3, y un dominio CH3 de IgG3. En un undécimo ejemplo particular, cada uno de los dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG1, un dominio CH2 de IgG1, y un dominio CH3 de IgG3.

En una tercera realización, la presente divulgación proporciona estradómeros en serie aislados que comprenden además un dominio Fab, en los que cada uno de los monómeros de estradómero comprende una cadena pesada de fragmento Fab y dos monómeros de dominio Fc, en los que la cadena pesada de fragmento Fab está en una posición amino terminal o carboxi terminal respecto de los dos monómeros de dominio Fc, en los que una cadena ligera de fragmento Fab se asocia independientemente con cada cadena pesada de fragmento Fab, y en los que el dominio Fab tiene actividad de unión a antígeno. En una realización preferida, cada uno de los monómeros de estradómero comprende además un monómero de bisagra de inmunoglobulina, y en los que el monómero de bisagra de inmunoglobulina está en una posición entre la cadena pesada del fragmento Fab y los dos monómeros de dominio Fc.

En una cuarta realización de la presente divulgación se proporcionan estradómeros de núcleo que comprenden un resto de núcleo unido a dos o más unidades de estradómero de núcleo, en los que cada uno de las dos o más unidades de estradómero de núcleo comprende al menos un dominio Fc, y en el que cada una de las unidades de estradómero de núcleo se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en:

- (a) un fragmento Fc, en el que cada fragmento Fc comprende dos monómeros de fragmento Fc asociados, en los que cada uno de dichos monómeros de fragmento Fc comprende un monómero de dominio Fc, y en el que la asociación de los dos monómeros de fragmento Fc forma un dominio Fc,
- (b) un fragmento Fc parcial, en el que cada fragmento Fc parcial comprende dos monómeros de fragmento Fc parcial asociados, en los que cada uno de dichos monómeros de fragmento Fc parcial comprende un monómero de dominio Fc, y en el que la asociación de los dos monómeros de fragmento Fc parcial forma un dominio Fc,
- (c) un dominio Fc, en el que cada dominio Fc comprende dos monómeros de dominio Fc asociados, y en el que la asociación de los dos monómeros de dominio Fc forma un dominio Fc,
- (d) un estradómero en serie, en el que cada estradómero en serie comprende dos o más monómeros de estradómero asociados, en el que cada uno de dichos monómeros de estradómero comprende dos o más monómeros de dominio Fc, y en el que la asociación de los dos o más monómeros de estradómero forma dos o más dominios Fc, y
- (e) un estradómero agrupado, en el que cada estradómero agrupado comprende dos o más unidades de estradómero agrupado multimerizadas, en el que cada una de dichas unidades de estradómero agrupadas comprende una región de multimerización y al menos un dominio Fc, en el que cada una de dichas unidades de estradómero agrupadas comprende dos monómeros de unidad de estradómero agrupado, en el que cada uno de dichos monómeros de unidad de estradómero agrupado comprende un monómero de región de multimerización y al menos un monómero de dominio Fc, en el que la asociación de los dos monómeros de unidad de estradómero agrupado forma una región de multimerización y al menos un dominio Fc, y en el que las regiones de multimerización de las dos o más unidades de estradómero en serie multimerizan para formar el estradómero agrupado, y

en el que el estradómero de núcleo se une específicamente a un primer receptor Fcγ a través de una primera de las dos o más unidades de estradómero de núcleo y a un segundo receptor Fcγ a través de una segunda de las dos o más unidades de estradómero de núcleo.

Preferentemente en esta cuarta realización, el resto de núcleo se selecciona entre el grupo que consiste en una cadena J de inmunoglobulina, albúmina, liposoma, perla, péptido y polietilenglicol.

En realizaciones preferidas dirigidas a estradómeros de núcleo, las dos o más unidades de estradómero de núcleo son cada una independientemente un fragmento Fc. Como alternativa, las dos o más unidades de estradómero de núcleo son cada una independientemente un estradómero en serie.

En una realización adicional preferida dirigida a estradómeros de núcleo, el estradómero de núcleo comprende dos unidades de estradómero de núcleo, en los que cada una de las dos unidades de estradómero de núcleo son cada una independientemente un estradómero en serie, en los que el estradómero en serie comprende dos monómeros de estradómero asociados, en los que ambos de dichos monómeros de estradómero comprenden dos monómeros de dominio Fc, y en los que la asociación de los dos monómeros de estradómero forma dos dominios Fc. En un primer ejemplo particular de esta realización, al menos uno de los dominios Fc de las dos o más unidades de estradómero de núcleo comprende una bisagra de IgG1 o una bisagra de IgG3, un dominio CH2 de IgG1 o un dominio CH2 de IgG3, y un dominio CH3 de IgG1 o un dominio CH3 de IgG3. En un segundo ejemplo particular, al menos uno de los dos dominios Fc de las dos o más unidades de estradómero de núcleo comprende una bisagra de IgG1 o una bisagra de IgG3, y un dominio CH2 de IgG1. En un tercer ejemplo particular, cada uno de los dominios Fc de las dos o más unidades de estradómero de núcleo comprende independientemente una bisagra de IgG1, un dominio CH2 de IgG1, y un dominio CH3 de IgG1. En un cuarto ejemplo particular, cada uno de los dominios Fc de las dos o más unidades de estradómero de núcleo comprende una bisagra de IgG y un dominio CH2 de IgG. En un quinto ejemplo particular, cada uno de los dominios Fc de las dos o más unidades de estradómero de núcleo comprende independientemente una bisagra de IgG y un dominio CH2 de IgG. En un sexto ejemplo particular, cada uno de los dominios Fc de las dos o más unidades de estradómero de núcleo comprende independientemente una bisagra de IgG3, un dominio CH2 de IgG3, y un dominio CH3 de IgG3. En un séptimo ejemplo particular, cada uno de los dominios Fc de las dos o más unidades de estradómero de núcleo comprende independientemente una

bisagra de IgG1, un dominio CH2 de IgG1, y un dominio CH3 de IgG3.

En esta realización, el primer y el segundo receptor Fcγ son cada uno independientemente un receptor Fcγ I, un receptor Fcγ II, un receptor Fcγ III o un receptor Fcγ IV. Preferentemente, el primer y el segundo receptor Fcγ son cada uno un receptor Fcγ IIIa.

En una quinta realización, la presente divulgación proporciona estradómeros agrupados que comprenden dos o más unidades de estradómero agrupado multimerizadas, en los que cada una de las unidades de estradómero agrupado comprende una región de multimerización y al menos un dominio Fc, en el que cada una de las unidades de estradómero agrupadas comprende dos monómeros de unidad de estradómero agrupado, en el que cada uno de los monómeros de unidad de estradómero agrupado comprende un monómero de región de multimerización y al menos un monómero de dominio Fc, en el que la asociación de los dos monómeros de unidad de estradómero agrupado forma una región de multimerización y al menos un dominio Fc, en el que las regiones de multimerización de las dos o más unidades de estradómero en serie multimerizan para formar el estradómero agrupado, y en el que el estradómero agrupado se une específicamente a un primer receptor Fcγ a través de un primer dominio Fc y a un segundo receptor Fcγ a través de un segundo dominio Fc.

En realizaciones preferidas, la región de multimerización se selecciona entre el grupo que consiste en una bisagra de IgG2, un dominio CH2 de IgE, una leucina, una cremallera de isoleucina y un dedo de cinc.

En una realización preferida adicional, los estradómeros agrupados comprenden dos, tres, cuatro o más unidades de estradómero agrupado multimerizadas.

En un primer ejemplo particular de esta quinta realización, al menos uno de los dominios Fc comprende una bisagra de IgG1 o una bisagra de IgG3, un dominio CH2 de IgG1 o un dominio CH2 de IgG3, y un dominio CH3 de IgG1 o un dominio CH3 de IgG3. En un segundo ejemplo particular, cada uno de los dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG1, un dominio CH2 de IgG1, y un dominio CH3 de IgG1. En un tercer ejemplo particular, al menos uno de los dominios Fc comprende una bisagra de IgG y un dominio CH2 de IgG. En un cuarto ejemplo particular, cada uno de los dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG y un dominio CH2 de IgG. En un quinto ejemplo particular, cada uno de los dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG3, un dominio CH2 de IgG3, y un dominio CH3 de IgG3. En un sexto ejemplo particular, cada uno de los dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG1, un dominio CH2 de IgG1, y un dominio CH3 de IgG3. En un séptimo ejemplo particular, cada uno de los dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG, un dominio CH2 de IgG y un dominio CH3 de IgG. En un octavo ejemplo particular, al menos una de las unidades de estradómero agrupado comprende dos o más dominios Fc. En un noveno ejemplo particular, cada una de las unidades de estradómero agrupadas comprende dos o más dominios Fc.

En esta realización, el primer y el segundo receptor Fcγ son cada uno independientemente un receptor Fcγ I, un receptor Fcγ II, un receptor Fcγ III o un receptor Fcγ IV. Preferentemente, el primer y el segundo receptor Fcγ son cada uno un receptor Fcγ IIIa.

En una sexta realización, la presente divulgación proporciona estradocuerpos que comprenden dos o más monómeros de estradómero agrupados y un dominio Fab, en los que cada uno de los monómeros de estradómero comprende una cadena pesada de fragmento Fab y dos o más monómeros de dominio Fc, en los que la cadena pesada de fragmento Fab está en una posición amino terminal o carboxi terminal respecto de los dos o más monómeros de dominio Fc, en los que la asociación de los dos o más monómeros de estradómero forma dos o más dominios Fc, en los que una cadena ligera de fragmento Fab se asocia independientemente con la cadena pesada de fragmento Fab de cada monómero de estradocuerpo, en los que el dominio Fab tiene actividad de unión a antígeno, y en los que el estradocuerpo se une específicamente a un primer receptor Fcγ a través de un primero de dos o más dominios Fc y a un segundo receptor Fcγ a través de un segundo de los dos o más dominios Fc.

En realizaciones preferidas, los dos o más monómeros de estradómero se asocian a través de un enlace covalente, un enlace disulfuro o reticulación química.

En una realización adicional preferida, cada uno de dichos monómeros de estradómero de los estradocuerpos comprende adicionalmente un monómero de bisagra de inmunoglobulina, y en los que el monómero de bisagra de inmunoglobulina está en una posición entre la cadena pesada del fragmento Fab y los dos monómeros de dominio Fc.

En una realización particular, el estradocuerpo comprende dos monómeros de estradómero asociados, en los que cada uno de dichos monómeros de estradómero comprende una cadena pesada de fragmento Fab y dos monómeros de dominio Fc, y en los que la asociación de los dos monómeros de estradómero forma dos dominios Fc. En un primer ejemplo particular de esta realización, al menos uno de los dos dominios Fc comprende una bisagra de IgG, un dominio CH2 de IgG y un dominio CH3 de IgG. En un segundo ejemplo particular, cada uno de los dos dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG, un dominio CH2 de IgG y un dominio CH3 de IgG. En un tercer ejemplo particular, al menos uno de los dominios Fc comprende una bisagra de IgG y un

dominio CH3 de IgG. En un cuarto ejemplo particular, cada uno de los dos dominios Fc comprende una bisagra de IgG y un dominio CH3 de IgG. En un quinto ejemplo particular, al menos uno de los dos dominios Fc comprende una bisagra de IgG1 o una bisagra de IgG3, un dominio CH2 de IgG1 o un dominio CH2 de IgG3, y un dominio CH3 de IgG1 o un dominio CH3 de IgG3. En un sexto ejemplo particular, cada uno de los dos dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG1 o una bisagra de IgG3, un dominio CH2 de IgG1 o un dominio CH2 de IgG3, y un dominio CH3 de IgG1 o un dominio CH3 de IgG3. En un séptimo ejemplo particular, cada uno de los dos dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG1, un dominio CH2 de IgG1, y un dominio CH3 de IgG1. En un octavo ejemplo particular, cada uno de los dos dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG3, un dominio CH2 de IgG3, y un dominio CH3 de IgG3. En un noveno ejemplo particular, cada uno de los dos dominios Fc comprende independientemente una bisagra de IgG1, un dominio CH2 de IgG1, y un dominio CH3 de IgG3. En un décimo ejemplo particular, al menos uno de los dos dominios Fc comprende una bisagra de IgG1 o una bisagra de IgG3, y un dominio CH2 de IgG1 o un dominio CH2 de IgG3. En un undécimo ejemplo particular, al menos uno de los dos dominios Fc comprende una bisagra de IgG1 o una bisagra de IgG3, y un dominio CH2 de IgG1.

En esta realización, el primer y el segundo receptor Fc $\gamma$  son cada uno independientemente un receptor Fc $\gamma$  I, un receptor Fc $\gamma$  II, un receptor Fc $\gamma$  III o un receptor Fc $\gamma$  IV. Preferentemente, el primer y el segundo receptor Fc $\gamma$  son cada uno un receptor Fc $\gamma$  IIIa.

En una séptima realización de la presente divulgación se proporcionan métodos para alterar una respuesta inmunitaria en un sujeto, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un estradómero en serie y un vehículo o diluyente. En una realización preferida, la composición farmacéutica comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de una mezcla heterogénea de estradómeros en serie y un vehículo o diluyente.

En una octava realización de la presente divulgación se proporcionan métodos para alterar una respuesta inmunitaria en un sujeto, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un estradómero de núcleo y un vehículo o diluyente. En una realización preferida, la composición farmacéutica comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de una mezcla heterogénea de estradómeros de núcleo y un vehículo o diluyente.

En una novena realización de la presente divulgación se proporcionan métodos para alterar una respuesta inmunitaria en un sujeto, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un estradómero agrupado y un vehículo o diluyente. En una realización preferida, la composición farmacéutica comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de una mezcla heterogénea de estradómeros agrupados y un vehículo o diluyente.

En una décima realización de la presente divulgación se proporcionan métodos para alterar una respuesta inmunitaria en un sujeto, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un estradocuerpo y un vehículo o diluyente. En una realización preferida, la composición farmacéutica comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de una mezcla heterogénea de estradocuerpos y un vehículo o diluyente.

En una undécima realización, la presente divulgación proporciona métodos para explorar un anticuerpo respecto de una actividad específica en una célula del sistema inmunitario, que comprende: (a) poner en contacto una población homogénea de células del sistema inmunitario con un anticuerpo candidato, (b) medir una actividad de la población de células de (a), (c) poner en contacto la población homogénea de células del mismo tipo celular que en (a) con un estradómero en serie de la reivindicación 1, (d) medir una actividad de la población de células de (c), y (e) comparar la actividad medida en (b) con la actividad medida en (d), de este modo explorando un anticuerpo respecto de una actividad específica en una célula del sistema inmunitario. En una realización preferida, el anticuerpo candidato y el estradómero en serie son de especies coincidentes y de isotipos coincidentes. En una realización adicional preferida, la comparación en (e) en una relación de la actividad medida en (d) frente a la actividad medida en (b).

En una duodécima realización, la presente divulgación proporciona métodos para inhibir la actividad de una célula procedente de monocitos (MDC). El método implica poner en contacto la célula con una composición que contiene un sustrato con un reactivo de Fc unido a esta. La puesta en contacto puede ser *in vitro*, *in vivo*, o *ex vivo*. La célula puede encontrarse en un animal, por ejemplo, un animal que tiene o está en riesgo de desarrollar una afección mediada por células derivadas de monocitos (MDCMC). La célula puede ser, por ejemplo, una célula dendrítica, un macrófago, un monocito, o un osteoclasto.

En una decimotercera realización, la presente divulgación proporciona métodos de tratamiento que incluyen administrar a un animal una composición que comprende un sustrato que tiene un reactivo de Fc unido al mismo, teniendo el animal o estando en riesgo de desarrollar una afección mediada por células derivadas de monocitos (MDCMC).

Lo siguiente son realizaciones comunes para ambos de estos dos métodos (las realizaciones duodécima y

decimotercera).

El animal puede ser, por ejemplo, un ser humano.

5 El reactivo de Fc puede contener o ser una porción funcional de un fragmento Fc humano, por ejemplo, un fragmento Fc de IgG1 humana, un fragmento Fc de IgG3 humana, una IgG2 humana, o un fragmento Fc de IgG4 humana. Además, puede incluir o ser una molécula de IgG. El reactivo de Fc también puede ser o incluir una porción funcional de un fragmento Fc no humano.

10 El sustrato puede ser o incluir un polímero sintético, por ejemplo, nailon, teflón, dacrón, cloruro de polivinilo, PEU (poli(éster de uretano)), PTFE (politetrafluoroetileno), o PPMA (metacrilato de metilo). El sustrato puede incluir o ser un metal o una aleación metálica, por ejemplo, acero inoxidable, platino, iridio, titanio, tántalo, una aleación de níquel-titanio, o una aleación de cobalto-cromo. El sustrato puede contener o ser un tejido animal o un producto de tejido animal, por ejemplo, un injerto de tejido u órgano, hueso (por ejemplo, hueso osteogénico), o cartílago.  
 15 El sustrato puede contener o ser una proteína, por ejemplo, colágeno o queratina. El sustrato también puede ser o contener un polisacárido, por ejemplo, agarosa. Además, el sustrato puede contener o ser una matriz de tejido, por ejemplo, una matriz de tejido acelular. El sustrato puede contener o ser una célula animal (por ejemplo, una célula reparadora de tejidos, tal como un fibroblasto o una célula madre mesenquimal). El sustrato puede contener o ser una sal, por ejemplo, sulfato de calcio. Además, el sustrato puede ser o contener un gel o una crema. También  
 20 puede contener o ser silicona o silástico. También puede contener o ser una fibra natural, por ejemplo, seda algodón, o lana.

El sustrato puede ser un trasplante de unidad folicular o un dispositivo médico implantable, tal como un stent (por ejemplo, un stent vascular, tal como un stent de la arteria coronaria; un stent de las vías aéreas, tal como un stent endotraqueal o nasal; un stent gastrointestinal, tal como un stent biliar o pancreático; o un stent urinario, tal como un stent ureteral). También puede ser una sutura quirúrgica (por ejemplo, una seda trenzada, tripa cromada, nailon, plástico, o una estructura metálica o un clip quirúrgico (por ejemplo, un clip de aneurisma)). Además, el sustrato puede ser una cadera artificial, una articulación artificial de la cadera, una rodilla artificial, una articulación artificial de rodilla, un hombro artificial, una articulación artificial de hombro, o una articulación artificial de un dedo de la mano o  
 30 del pie, una placa ósea, una clavija ósea, un implante óseo no de unión, un implante de disco intervertebral, cemento óseo, o un espaciador de cemento óseo. Puede ser una derivación arteriovenosa, un alambre implantable, un marcapasos, un corazón artificial, un dispositivo de asistencia cardíaca, un implante coclear, un desfibrilador implantable, un estimulador de la médula espinal, un estimulador del sistema nervioso central, un implante de sistema nervioso periférico, una prótesis dental, o una corona dental. Además, el sustrato puede ser un dispositivo o  
 35 jaula de filtrado de émbolos de grandes vasos, un dispositivo percutáneo, un parche dérmico o subdérmico, o un dispositivo de administración de fármaco implantable.

El sustrato también puede ser un injerto de un gran vaso sanguíneo, en el que el vaso sanguíneo es, por ejemplo, una arteria carótida, una arteria femoral, o una aorta. También puede ser un implante subdérmico, un implante de  
 40 córnea, una lente intraocular, o una lente de contacto.

El sustrato puede estar en forma de, por ejemplo, una lámina, una perla, una malla, una partícula de polvo, un filamento, una perla, o una fibra. El sustrato puede contener o ser un sólido, un semisólido, o una sustancia gelatinosa. Por lo tanto, un sustrato incluye sustancias que son sustancialmente insolubles en disolventes acuosos,  
 45 por ejemplo, un lípido liposoluble, tal como un liposoma.

La MDCMC puede ser una afección inflamatoria, una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno de la densidad ósea, una infección aguda, o una infección crónica.

50 Puede ser un proceso hematoinmunológico, por ejemplo, púrpura trombocitopénica idiopática, trombocitopenia aloinmunitaria/autoinmunitaria, trombocitopenia inmunitaria adquirida, neutropenia autoinmunitaria, anemia hemolítica autoinmunitaria, aplasia de glóbulos rojos asociada al parvovirus B19, autoinmunidad anti-factor VIII adquirida, enfermedad de von Willebrand adquirida, mieloma múltiple o gammopatía monoclonal de significado desconocido, septicemia, anemia aplásica, aplasia pura de glóbulos rojos, anemia de Diamond-Blackfan, enfermedad  
 55 hemolítica del neonato, neutropenia mediada por inmunidad, refractariedad a la transfusión de plaquetas, púrpura post-transfusión neonatal, síndrome hemolítico urémico, vasculitis sistémica, púrpura trombocitopénica trombótica, o síndrome de Evan.

Como alternativa, La MDCMC puede ser un proceso neuroinmunológico, por ejemplo, síndrome de Guillain-Barré, polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, polineuropatía desmielinizante de IgM paraproteinémica, síndrome miasténico de Lambert-Eaton, miastenia grave, neuropatía motora multifocal, síndrome de la neurona motora inferior asociado con anticuerpos anti-GM1, desmielinización, esclerosis múltiple y neuritis óptica, síndrome del hombre rígido, degeneración cerebelar paraneoplásica con anticuerpos anti-Yo, encefalomiелitis paraneoplásica, neuropatía sensorial con anticuerpos anti-Hu, epilepsia, encefalitis, mielitis, mielopatía asociada especialmente con  
 65 virus 1 linfotrófico de células T humanas, neuropatía diabética autoinmunitaria, o neuropatía disautonómica idiopática aguda.



La MDCMC puede ser un proceso patológico reumático, por ejemplo, enfermedad de Kawasaki, artritis reumatoide, síndrome de Felty, vasculitis positiva a ANCA, polimiositis espontánea, dermatomiositis, síndromes antifosfolípido, abortos espontáneos recurrentes, lupus eritematoso sistémico, artritis idiopática juvenil, síndrome de Raynaud, síndrome de CREST, o uveítis.

5 Además, la MDCMC puede ser un proceso patológico dermatoinmunológico, por ejemplo, necrólisis epidérmica, gangrena, granuloma, enfermedades de la piel con ampollas autoinmunitarias, incluyendo pénfigo vulgar, pénfigoide bulloso, y pénfigo foliáceo, vitiligo, síndrome de choque tóxico estreptocócico, escleroderma, esclerosis sistémica, incluyendo esclerosis sistémica cutánea difusa y limitada, dermatitis atópica, o dermatitis atópica dependiente de esteroides.

10 Además, la MDCMC puede ser una enfermedad inmunológica musculoesquelética, por ejemplo, miositis por cuerpos de inclusión, fascitis necrotizante, miopatías inflamatorias, miositis, miopatía anti-decorin (antígeno BJ), miopatía necrótica paraneoplásica, miopatía vacuolada ligada a X, polimiositis inducida por penacilamina, aterosclerosis, cardiopatía isquémica, o cardiomiopatía.

15 La MDCMC también puede ser un proceso patológico inmunológico gastrointestinal, por ejemplo, anemia perniciosa, hepatitis crónica activa autoinmunitaria, cirrosis biliar primaria, enfermedad celíaca, dermatitis herpetiforme, cirrosis criptogénica, artritis reactiva, enfermedad de Crohn, enfermedad de Whipple, colitis ulcerosa, o colangitis esclerosante.

20 La MDCMC puede ser, por ejemplo, enfermedad de injerto contra hospedador, rechazo de injerto mediado por anticuerpos, rechazo después de trasplante de médula ósea, enfermedad inflamatoria post-infecciosa, linfoma, leucemia, neoplasia, asma, diabetes mellitus de tipo 1 con anticuerpos anti-células beta, síndrome de Sjögren, enfermedad del tejido conectivo mixto, enfermedad de Addison, síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada, glomerulonefritis membranoproliferativa, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves, tiroiditis de Hashimoto, granulomatosis de Wegener, micropoliarteritis, síndrome de Churg-Strauss, poliarteritis nodosa o fallo orgánico multisistema.

25 En los casos donde la MDCMC es un cáncer, puede ser fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomiomasarcoma, rhabdomyosarcoma, carcinoma de colon, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de las glándulas sudoríparas, carcinoma de las glándulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de células renales, hepatoma, carcinoma del conducto biliar, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilms, cáncer de cuello de útero, tumor testicular, carcinoma de pulmón, carcinoma microcítico de pulmón, carcinoma de vejiga, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, melanoma, neuroblastoma, retinoblastoma, leucemia, linfoma, mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenström, enfermedad mielodisplásica, enfermedad de la cadena pesada, tumores neuroendocrinos, o schwannoma.

30 En los casos donde la MDCMC es un trastorno de la densidad ósea, puede ser osteoporosis, osteopenia, osteopetrosis, hipogonadismo hipogonadotrópico idiopático, anorexia nerviosa, fracturas que no cicatrizan, osteoporosis postmenopáusica, deficiencia o exceso de vitamina D, hiperparatiroidismo primario o secundario, enfermedad tiroidea, o toxicidad por bifosfonato.

35 En los casos donde la MDCMC es una infección aguda, puede ser: un trastorno fúngico, incluyendo candidiasis, candidemia, o aspergilosis; un trastorno bacteriano, incluyendo por *Staphylococcus*, incluyendo *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, afecciones cutáneas u orofaríngeas estreptocócicas, o septicemia Gram negativa; una infección micobacteriana, incluyendo tuberculosis; una infección vírica, incluyendo mononucleosis, infección por el virus respiratorio sincitial, o infección por Herpes zoster; una infección parasítica, incluyendo malaria, esquistosomiasis, o tripanosomiasis.

40 En los casos donde la MDCMC es una infección crónica, puede ser una onicomicosis; un trastorno bacteriano, incluyendo *Helicobacter pylori*; una infección micobacteriana, incluyendo tuberculosis; una infección vírica, incluyendo infección por virus de Epstein Barr, infección por el virus del papiloma humano, o infección por el virus Herpes simplex; o una infección parasítica incluyendo malaria o esquistosomiasis.

45 En una decimocuarta realización, la presente divulgación proporciona una composición que contiene o es un dispositivo médico implantable o acoplable y un reactivo de Fc unido al mismo.

50 En una decimoquinta realización, la presente divulgación proporciona un kit que contiene un dispositivo médico implantable o acoplable y un reactivo de Fc. En estas dos realizaciones, el dispositivo médico implantable o acoplable y el reactivo de Fc puede ser cualquiera de aquellos citados en el presente documento. El kit puede

contener además un recipiente adecuado.

### Breve descripción de los dibujos

- 5 La FIG. 1A muestra de manera esquemática una estructura de monómero de fragmento Fc nativo de IgG1 que tiene un dominio bisagra unido a un dominio CH2 unido a un dominio CH3; La FIG. 1B muestra un fragmento Fc de IgG1 nativo autoagregado formado a partir de dos monómeros de fragmento Fc asociados.  
La FIG. 1C muestra de manera esquemática una estructura de monómero de fragmento Fc nativo de IgG3 que tiene un dominio bisagra unido a un dominio CH2 unido a un dominio CH3; La FIG. 1D muestra un fragmento Fc de IgG3 nativo autoagregado formado a partir de dos monómeros de fragmento Fc asociados.
- 10 Las FIG. 2A y 2B muestran agregados de orden mayor de la estructura de fragmento Fc nativa mostrada en la FIG. 1B. Los fragmentos Fc pueden multimerizar de manera natural en dímeros de dímero (es decir, tetrámeros) o incluso agregados multiméricos de mayor orden.
- 15 La FIG. 3A muestra un esquema de un anticuerpo de IgG1 nativo que tiene un fragmento Fab nativo unido al fragmento Fc en la bisagra del fragmento Fc; La FIG. 3B muestra la estructura análoga de IgG3.  
La FIG. 4A muestra un monómero de estradómero compuesto de dos monómeros de dominio Fc de IgG1 en serie; La FIG. 4B muestra una estructura de monómero de estradómero alternativa que tiene unida en serie Fc de IgG1-Fc de IgG3-Fc de IgE.
- 20 La FIG. 5A y B muestra los monómeros de estradómero de las FIG. 4A y B autodimerizando en un estradómero en serie debido a la capacidad intrínseca del componente de monómeros de dominio Fc.  
La FIG. 6A muestra un monómero de estradómero que contiene Fc de IgG1 - (bisagra - CH2) de IgG1; La FIG. 6B muestra un estradómero que contiene secuencias derivadas de (bisagra - CH2) de IgG1 - (bisagra - CH2) de IgG3 - (bisagra - CH2) de IgE.
- 25 La FIG. 7A y B muestra los monómeros de estradómero de 6A y B autodimerizando en un estradómero en serie debido a la capacidad intrínseca del componente de dominios Fc.  
La FIG. 7C muestra un estradómero en serie que contiene (bisagra) de IgE - Fc de IgG1 - (bisagra-CH2) de IgG1 - (CH3) de IgE. La FIG. 7D muestra un estradómero en serie que contiene un Fc de IgG3 - Fc de IgG1.
- 30 La FIG. 8A muestra una construcción de estradocuerpo que contiene un Fab con una estructura de estradómero en serie en la que cada monómero de estradómero contiene dos monómeros de dominio Fc procedentes de CH2-CH3 de IgG1; La FIG. 8B muestra una construcción de estradocuerpo como en 8A pero con una estructura de estradómero que contiene un Fc de IgG1 unido a un Fc de IgG3 unido a un Fc de IgE. La FIG. 9A muestra un estradocuerpo de Fc de IgG1 - (bisagra - CH2) de IgG1; La FIG. 9B muestra un 3-estradocuerpo de (bisagra - CH2) de IgG1 - (bisagra - CH2) de IgG3 - (bisagra - CH2) de IgE.
- 35 La FIG. 10A muestra un monómero de estradómero de (bisagra - CH2) de IgG1 - CH3 de IgG3 - CH4 de IgM y una proteína de cadena J; La FIG. 10B muestra un estradómero de núcleo basado en un cincómero del estradómero de la FIG. 10A formado mediante asociación a través del dominio CH4 de IgM a la cadena J.  
La FIG. 10C muestra un monómero de estradómero de Fc de IgG1 - Fc de IgG1 - CH4 de IgM y una proteína de cadena J; La FIG. 10D muestra un estradómero de núcleo basado en un cincómero del estradómero de la FIG. 10C formado mediante asociación a través del dominio CH4 de IgM a la cadena J.
- 40 La FIG. 11A muestra un monómero de estradómero de Fc de IgG1 - (bisagra - CH2) de IgG1. La FIG. 11B demuestra cómo el monómero de estradómero de la FIG. 11A puede autodimerizar para formar un estradómero en serie. La FIG. 11C muestra cómo el mismo monómero de estradómero de la FIG. 11A puede tener monómeros de dominios Fc alineados con los mismos monómeros de dominio Fc o similares en otro monómero de estradómero pero no en forma de un autodímero, formando de este modo un estradómero compuesto del mismo monómero de estradómero que el autodímero pero con una estructura de efecto cremallera.
- 45 La FIG. 12A muestra un monómero de estradómero de Fc de IgG3 - Fc de IgG1. La FIG. 12B muestra que la adición de un segundo Fc de IgG3 seguida de autodimerización puede formar un estradómero de Fc de IgG3 - Fc de IgG1 - Fc de IgG3 con estructura ramificada. La FIG. 13A muestra un monómero de estradómero de CH2 de IgE - Fc de IgG1 - (bisagra - CH2) de IgG1 - CH4 de IgE. La FIG. 13B muestra el autodímero del monómero de la FIG. 13A y resalta los dos sitios de unión a FcγR formados.
- 50 La FIG. 14A muestra un estradómero compuesto de dos dominios Fc de IgG1 unidos por un enlazador. La FIG. 14B muestra un estradómero compuesto de dos estradómeros en serie (específicamente en cada caso un estradómero de 2(Fc de IgG1)) unidos por un enlazador.
- 55 La FIG. 15A muestra las secuencias de ácido nucleico (SEQ ID NO: 1) y de aminoácidos (SEQ ID NO: 2) del fragmento Fc de IgG1 humano. La FIG. 15B muestra las secuencias de ácido nucleico (SEQ ID NO: 3) y de aminoácidos (SEQ ID NO: 4) del fragmento Fc de IgG2 humano. La FIG. 15C muestra las secuencias de ácido nucleico (SEQ ID NO: 5) y de aminoácidos (SEQ ID NO: 6) del fragmento Fc de IgG3 humano. La FIG. 15D muestra las secuencias de ácido nucleico (SEQ ID NO: 7) y de aminoácidos (SEQ ID NO: 8) del fragmento Fc de IgG4 humano.
- 60 La FIG. 16 muestra las secuencias de ácido nucleico (SEQ ID NO: 17) y de aminoácidos (SEQ ID NO: 18) de una construcción que comprende {secuencia de señal de IgK - fragmento Fc de IgG1 - fragmento Fc de IgG1}. La secuencia de aminoácidos de la señal de IgK está en negrita. La secuencia de aminoácidos del primer fragmento Fc de IgG1 tiene un subrayado sencillo. La secuencia de aminoácidos del segundo fragmento Fc de IgG1 tiene un subrayado doble. La serina y la lisina marcadas con un asterisco son aquellos aminoácidos que pueden mutarse para alterar la unión a receptor Fcγ.
- 65 La FIG. 17 muestra las secuencias de ácido nucleico (SEQ ID NO: 19) y de aminoácidos (SEQ ID NO: 20) de

una construcción que comprende {sitios de enzima de restricción - secuencia de señal de IgK - sitios de enzima de restricción - (bisagra - CH2 - CH3) de IgG1 - sitios de enzima de restricción - marcadores epitópicos (V5 e His) - PARADA}. La secuencia de aminoácidos de la señal de IgK está en negrita. La secuencia de aminoácidos del fragmento Fc de IgG1 tiene un subrayado sencillo. La secuencia de aminoácidos del marcador V4 está

5 subrayada con una línea discontinua. La secuencia de aminoácidos del marcador His está subrayada en negrita. La FIG. 18 muestra las secuencias de ácido nucleico (SEQ ID NO: 21) y de aminoácidos (SEQ ID NO: 22) de una construcción que comprende {sitios de enzima de restricción - señal de IgK - sitios de enzima de restricción - (bisagra - CH2 - CH3) de IgG1 - sitio de XbaI - (bisagra - CH2 - CH3) de IgG1 - PARADA}. La secuencia de aminoácidos de la señal de IgK está en negrita. La secuencia de aminoácidos del primer fragmento Fc de IgG1

10 tiene un subrayado sencillo. La secuencia de aminoácidos del segundo fragmento Fc de IgG1 tiene un subrayado doble. La FIG. 19 muestra las secuencias de ácido nucleico (SEQ ID NO: 23) y de aminoácidos (SEQ ID NO: 24) de una construcción que comprende {sitios de enzima de restricción - señal de IgK - sitios de enzima de restricción - (bisagra - CH2 - CH3) de IgG1 - sitio de XbaI - (bisagra - CH2 - CH3) de IgG1 - sitios de enzima de restricción - marcadores epitópicos (V5 e His) - PARADA}. La secuencia de aminoácidos de la señal de IgK está

15 en negrita. La secuencia de aminoácidos del primer fragmento Fc de IgG1 tiene un subrayado sencillo. La secuencia de aminoácidos del segundo fragmento Fc de IgG1 tiene un subrayado doble. La secuencia de aminoácidos del marcador V4 está subrayada con una línea discontinua. La secuencia de aminoácidos del marcador His está subrayada en negrita.

La FIG. 20A muestra las secuencias de ácido nucleico (SEQ ID NO: 31) y de aminoácidos (SEQ ID NO: 32) de la secuencia de señal N-terminal de FcRgammallla con el polimorfismo de fenilalanina (F) en negrita y subrayado. El ácido nucleico variable también está en negrita y subrayado. La figura 20B muestra las secuencias de ácido nucleico (SEQ ID NO: 33) y de aminoácidos (SEQ ID NO: 34) de la secuencia de señal N-terminal de FcRgammallla con polimorfismo de valina (V) en negrita y subrayado. El ácido nucleico variable también está en negrita y subrayado. Ambas construcciones contienen un marcador hexaHis C-terminal para su purificación.

La FIG. 21 muestra las secuencias de ácido nucleico (SEQ ID NO: 25) y de aminoácidos (SEQ ID NO: 26) de una construcción que comprende {sitios de enzima de restricción - señal de IgK - sitio de EcoRV - (bisagra - CH2 - CH3) de IgG3 - (bisagra - CH2 - CH3) de IgG1 - sitios de enzima de restricción - marcadores epitópicos (V5 e His) - PARADA}. La secuencia de aminoácidos de la señal de IgK está en negrita. La secuencia de aminoácidos del fragmento Fc de IgG3 tiene un subrayado sencillo. La secuencia de aminoácidos del fragmento Fc de IgG1

25 tiene un subrayado doble. La secuencia de aminoácidos del marcador V4 está subrayada con una línea discontinua. La secuencia de aminoácidos del marcador His está subrayada en negrita.

La FIG. 22 muestra las secuencias de ácido nucleico (SEQ ID NO: 27) y de aminoácidos (SEQ ID NO: 28) de una construcción que comprende {sitios de enzima de restricción - señal de IgK - sitio de EcoRV - (CH2) de IgE - (bisagra - CH2 - CH3) de IgG1 - (CH4) de IgE - PARADA}. La secuencia de aminoácidos de la señal de IgK está en negrita. La secuencia de aminoácidos del dominio (CH2) de IgE tiene un subrayado sencillo. La secuencia de aminoácidos del dominio (bisagra - CH2 - CH3) de IgG1 tiene un subrayado doble. La secuencia de aminoácidos del dominio (bisagra - CH2) de IgG1 está subrayada con una línea discontinua. La secuencia de aminoácidos del dominio (CH4) de IgE está subrayada con una línea ondulada.

La FIG. 23A muestra un fragmento Fc y demuestra que dicho fragmento Fc está compuesto de dos monómeros de fragmento Fc, y comprende además un dominio Fc (círculo discontinuo) y dominios Fc parciales (bisagra, CH2 y CH3 tal como se indica). La FIG. 23B muestra la composición de un estradómero en serie, compuesto de dos monómeros de estradómero que están conectados mediante un engarce entre monómeros de estradómero. El estradómero en serie comprende al menos dos dominios Fc (indicados como círculos discontinuos) y puede comprender opcionalmente una región de unión de dominios. La FIG. 23C muestra la composición de un estradómero de núcleo que comprende un resto de núcleo al que se unen unidades de estradómero de núcleo que contienen al menos un dominio Fc dada una. Las unidades de estradómero de núcleo pueden ser un fragmento Fc, un estradómero en serie o una unidad de estradómero agrupado. La FIG. 23D muestra la composición de un estradómero agrupado que comprende unidades de estradómero agrupado multimerizadas, cada uno de los cuales tiene una región de multimerización y una región que contiene al menos un dominio Fc. La unidad de estradómero agrupado puede ser un fragmento Fc o un estradómero en serie. La región de multimerización, una vez multimerizada, forma la cabeza de un estradómero agrupado. Las patas del estradómero agrupado están formadas por las regiones de dominios Fc de las unidades de estradómero agrupado que están espacialmente menos restringidas que la cabeza multimerizada del estradómero agrupado. La FIG. 24 muestra las secuencias de aminoácidos del estradómero mostrado en la tabla 3.

La FIG. 25 muestra las secuencias de aminoácidos para los monómeros de dominios parciales de Fc (bisagra, CH2 y CH3) de IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 humana (Kabat, EA, Wu, TT, Perry, HM, Gottesman, KS, y Foeller, C. 1991. Sequences of proteins of immunological interest 5ª Ed. US Public Health Services, NIH, Bethesda).

### Descripción detallada de la invención

60 Tal como se observa, la invención es en sí tal como se define en las reivindicaciones.

La estrategia de diseño molecular racional para compuestos de reemplazo de hIVIG descritos en el presente documento incluye la creación recombinante y/o bioquímica de biomiméticos inmunológicamente activos. En

65 métodos preferidos, estos compuestos de reemplazo se exploran *in vitro* para evaluar la eficacia de cada compuesto de reemplazo en la unión al receptor Fcγ y en la modulación de la función inmune. Los compuestos de reemplazo

particulares se seleccionan adicionalmente para validación y optimización de la dosis/administración *in vivo*. Los compuestos de reemplazo tienen utilidad para tratar, por ejemplo, enfermedades autoinmunes, enfermedades inflamatorias, osteoporosis, y el cáncer. Cada fase se describe en detalle a continuación junto con realizaciones ejemplares específicas.

5 Tal como se usa en el presente documento, el uso de la palabra "uno" o "una" cuando se usa en conjunción con la expresión "que comprende" en las reivindicaciones y/o en la memoria descriptiva puede significar "uno", pero también es coherente con el significado de "uno o más", "al menos uno" y "uno o más de uno".

10 Tal como se usa en el presente documento, los términos "biomimético", "molécula biomimética", "compuesto biomimético", y términos relacionados, se refieren a un compuesto producido por el ser humano que imita la función de otro compuesto, tal como hVIG agrupadas, un anticuerpo monoclonal o el fragmento Fc de un anticuerpo. Los biomiméticos "biológicamente activos" son compuestos que poseen actividades biológicas que son iguales o sustancialmente similares a sus homólogos de origen natural. Los biomiméticos "inmunológicamente activos" son biomiméticos que muestran actividad inmunológica igual o sustancialmente similar a moléculas inmunológicamente activas de origen natural, tales como anticuerpos, citocinas, interleucinas u otras moléculas inmunológicas conocidas en la técnica. En realizaciones preferidas, los biomiméticos de la divulgación son estradómeros y estradocuerpos, tal como se definen en el presente documento.

20 Los biomiméticos inmunológicamente activos están diseñados para poseer una o más actividades inmunomoduladoras del dominio Fc de IgG y tienen al menos (i) un primer dominio Fc capaz de unirse a un FcγR, incluyendo FcγRI, FcγRII, FcγRIII y FcγRIV, y (ii) un segundo dominio Fc capaz de unirse a un FcγR, incluyendo FcγRI, FcγRII, FcγRIII y FcγRIV.

25 Los siguientes párrafos definen los bloques de construcción de los biomiméticos, tanto estructural como funcionalmente, y después definen a los biomiméticos en sí. Sin embargo, es de ayuda destacar que, tal como se ha indicado anteriormente, cada uno de los biomiméticos tienen al menos dos dominios Fc. Como mínimo, un dominio Fc es un polipéptido dimérico (o una región dimérica de un polipéptido mayor) que comprende dos cadenas o ramas peptídicas (monómeros) que se asocian para formar un sitio de unión a receptor Fcγ. Por lo tanto, la forma funcional de los fragmentos y dominios individuales discutidos en el presente documento existe en una forma dimérica (o multimérica). Los monómeros de los fragmentos y dominios individuales discutidos en el presente documento son cadenas o ramas individuales que tienen que asociarse con una segunda cadena o rama para formar una estructura dimérica funcional.

### 35 Fragmento Fc

"Fragmento Fc" es un término de la técnica que se usa para describir la región de proteína o la estructura plegada de proteína que se encuentra normalmente en el extremo carboxilo de las inmunoglobulinas (véanse las figuras 3A-3B). El fragmento Fc puede aislarse a partir del fragmento Fab de un anticuerpo monoclonal mediante el uso de digestión de papaína, que es un proceso incompleto e imperfecto (véase Mihaesco C y Seligmann M. *Papain Digestion Fragments Of Human IgM Globulins. Journal of Experimental Medicine*, Vol 127, 431-453 (1968)). En conjunción con el fragmento Fab (que contiene el dominio de unión de anticuerpo) el fragmento Fc constituye el holo-anticuerpo, lo que significa en este caso el anticuerpo completo. El fragmento Fc consiste en las porciones carboxilo terminal de las cadenas pesadas de anticuerpo. Cada una de las cadenas en un fragmento Fc tiene entre aproximadamente 220-265 aminoácidos de longitud y las cadenas están normalmente unidas a través de un enlace disulfuro. El fragmento Fc a menudo contiene uno o más plegamientos estructurales o subdominios funcionales independientes. En particular, el fragmento Fc abarca un dominio Fc, definido en el presente documento como la estructura mínima que se une a un receptor Fcγ (véanse, por ejemplo, las figuras 1B y 1D). Un fragmento Fc aislado está compuesto de dos monómeros de fragmento Fc (por ejemplo, las dos porciones carboxilo terminales de las cadenas pesadas de anticuerpo; definidas adicionalmente en el presente documento) que están dimerizadas. Cuando dos monómeros de fragmento Fc se asocian, el fragmento Fc resultante tiene actividad de unión a receptor Fcγ.

### Fragmento Fc parcial

55 Un "fragmento Fc parcial" es un dominio que comprende menos del fragmento Fc completo de un anticuerpo, aunque retiene estructura suficiente para tener la misma actividad que el fragmento Fc, incluyendo actividad de unión a receptor Fcγ. Un fragmento Fc parcial puede retener por lo tanto la totalidad o parte de la región bisagra, la totalidad o parte de un dominio CH2, la totalidad o parte de un dominio CH3, y/o la totalidad o parte de un dominio CH4, dependiendo del isotipo del anticuerpo del que procede el dominio Fc parcial. Un ejemplo de un fragmento Fc parcial incluye una molécula que comprende las regiones bisagra superior, de núcleo e inferior más el dominio CH2 de IgG3 (Tan, LK, Shopes, RJ, Oi, VT y Morrison, SL, *Influence of the hinge region on complement activation, C1q binding, and segmental flexibility in chimeric human immunoglobulins*, Proc Natl Acad Sci U S A. Enero de 1990; 87(1): 162-166). Por lo tanto, en este ejemplo, el fragmento Fc parcial carece del dominio CH3 presente en el fragmento Fc de IgG3. Los fragmentos parciales de Fc están compuestos de dos monómeros de fragmento parcial de Fc. Tal como se define adicionalmente en el presente documento, cuando se asocian dos de estos monómeros de fragmento parcial de Fc, el fragmento parcial de Fc resultante tiene actividad de unión a receptor Fcγ.

Dominio Fc

Tal como se usa en el presente documento, "dominio Fc" describe la región mínima (en el contexto de un polipéptido mayor) o la estructura plegada de proteína más pequeña (en el contexto de una proteína asociada) que puede unirse a o estar unida por un receptor Fc $\gamma$ . Tanto en un fragmento Fc como en un fragmento parcial de Fc, el dominio Fc es la región de unión mínima que permite la unión de la molécula a un receptor Fc $\gamma$ . Mientras que un dominio Fc puede estar limitado a un polipéptido discreto que está unido por un receptor Fc $\gamma$ , también será evidente que un dominio Fc puede ser una parte o la totalidad de un fragmento Fc, así como parte o la totalidad de un fragmento parcial de Fc. Cuando la expresión "dominios Fc" se usa en la presente divulgación, un experto en la materia reconocerá que significa más de un dominio Fc. Un dominio Fc está compuesto de dos monómeros de dominio Fc. Tal como se define adicionalmente en el presente documento, cuando dos de estos monómeros de dominio Fc se asocian, el dominio Fc resultante tiene actividad de unión a receptor Fc $\gamma$ . Por lo tanto, un dominio Fc es una estructura dimérica que puede unirse funcionalmente a un receptor Fc $\gamma$ .

15 Dominio parcial de Fc

Tal como se usa en el presente documento, "dominio parcial de Fc" describe una porción de un dominio Fc. Los dominios parciales de Fc incluyen los dominios de región constante de cadena pesada individuales (por ejemplo, los dominios CH1, CH2, CH3 y CH4) y regiones bisagra de las diferentes clases y subclases de inmunoglobulina. Por lo tanto, Los dominios parciales de Fc incluyen los dominios CH1 de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD e IgE, los dominios CH2 de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD e IgE, los dominios CH3 de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD e IgE, los dominios CH4 de IgM e IgE, y las regiones bisagra de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD e IgE. El dominio parcial de Fc puede comprender además una combinación de más de uno de estos dominios y bisagras. Sin embargo, los dominios parciales de Fc y las combinaciones de los mismos carecen de la capacidad para unirse a un Fc $\gamma$ R. Por lo tanto, los dominios parciales de Fc y las combinaciones de los mismos comprenden menos de un dominio Fc. Los dominios parciales de Fc pueden unirse juntos para formar un péptido que tiene actividad de unión a receptor Fc $\gamma$ , formando de este modo un dominio Fc. Los dominios parciales de Fc se usan con dominios Fc como bloques de construcción para crear los biomiméticos tal como se definen en el presente documento. Cada dominio parcial de Fc está compuesto de dos monómeros de dominio parcial de Fc. Cuando se asocian dos de estos monómeros de dominio parcial de Fc, se forma un dominio parcial de Fc.

Tal como se indica anteriormente, cada uno de los fragmentos Fc, fragmentos parciales de Fc, dominios Fc y dominios parciales de Fc son proteínas o dominios diméricos. Por lo tanto, cada una de estas moléculas está compuesta de dos monómeros que se asocian para formar la proteína o dominio dimérico. Aunque las características y la actividad de las formas diméricas se discutió anteriormente, los péptidos monoméricos se discuten del modo siguiente.

Monómero de fragmento Fc

40 Tal como se usa en el presente documento, un "monómero de fragmento Fc" es una proteína monocatenaria que, cuando se asocia con otro monómero de fragmento Fc, comprende un fragmento Fc. El monómero de fragmento Fc es por lo tanto la porción carboxilo terminal de una de las cadenas pesadas de anticuerpo que forman el fragmento Fc de un holo-anticuerpo (por ejemplo, la porción continua de la cadena pesada que incluye la región bisagra, el dominio CH2 y el dominio CH3 de IgG) (véase la figura 1A y la figura 1C). En una realización, el monómero de fragmento Fc comprende, como mínimo, una cadena de una región bisagra (un monómero de bisagra), una cadena de un dominio CH2 (un monómero de dominio CH2) y una cadena de un dominio CH3 (un monómero de dominio CH3), unidos de manera contigua para formar un péptido. En otra realización, el monómero de fragmento Fc comprende al menos una cadena de una región bisagra, una cadena de un dominio CH2, una cadena de un dominio CH3, y una cadena de un dominio CH4 (un monómero de dominio CH4) unidos de manera contigua para formar un péptido.

Monómero de dominio Fc

55 Tal como se usa en el presente documento, "monómero de dominio Fc" describe a la proteína monocatenaria que, cuando se asocia con otro monómero de dominio Fc, comprende un dominio Fc que puede unirse a un receptor Fc $\gamma$ . La asociación de dos monómeros de dominio Fc crea un dominio Fc. Un monómero de dominio Fc solo, que comprende solo un lado de un dominio Fc, no puede unirse a un receptor Fc $\gamma$ .

Monómero de dominio parcial de Fc

60 Tal como se usa en el presente documento, "monómero de dominio parcial de Fc" describe a la proteína monocatenaria que, cuando se asocia con otro monómero de dominio parcial de Fc, comprende un dominio parcial de Fc. Las secuencias de aminoácidos de los monómeros de bisagra, CH2 y CH3 de dominio parcial de Fc para IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 se muestran en la bisagra 25. La asociación de dos monómeros de dominio parcial de Fc crea un dominio parcial de Fc.

Estradómeros

En realizaciones particulares, los biomiméticos incluyen estradómeros. Los estradómeros son compuestos biomiméticos capaces de unirse a dos o más receptores Fc $\gamma$  (véase, por ejemplo, figura 13B). En una realización preferida, los estradómeros de la invención se usan para unirse a receptores Fc $\gamma$  en células efectoras, tales como células NK y células dendríticas inmaduras y otras células derivadas de monocitos. En una realización, los receptores Fc $\gamma$  son receptores Fc $\gamma$  de baja afinidad. Un estradómero puede tener cuatro conformaciones físicas diferentes: en serie, agrupados, de núcleo o fragmento Fc, cada una de las cuales se discute en los párrafos siguientes. Como será evidente, los fragmentos Fc, fragmentos parciales de Fc, dominios Fc y dominios parciales de Fc discutidos anteriormente se usan en la construcción de las diversas conformaciones de estradómero. Además, son los monómeros de dominio Fc individuales y los monómeros de dominio parcial de Fc, también discutidos anteriormente, los que se producen en primer lugar, y los que después se auto-asocian para formar las estructuras diméricas que son los estradómeros.

15 Estradómero en serie

Un "estradómero en serie" es un polipéptido dimérico compuesto de dos monómeros de estradómero lineales que, cuando se asocian, forman dos o más dominios Fc. Los dominios Fc del estradómero son solo funcionales cuando las dos cadenas peptídicas (monómeros de estradómero) se asocian (es decir, no funcionales en estado monomérico). Por lo tanto, un estradómero en serie es un compuesto biomimético capaz de unirse a dos o más receptores Fc $\gamma$ . En diferentes realizaciones, los estradómeros en serie pueden tener dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce o más dominios Fc, así como dominios parciales de Fc. Los dominios Fc, y los dominios parciales de Fc, dentro de un estradómero en serie pueden estar unidos mediante enlaces de dominio, tal como se definen adicionalmente en el presente documento.

Tal como se usa en el presente documento, un "dímero de estradómero" es una forma específica de un estradómero, compuesta de solo dos estradómeros. En una realización, los dímeros de estradómero son moléculas formadas por auto-agregación de monómeros de estradómero relevantes. En otra realización, los monómeros de estradómero en los dímeros de estradómero están unidos físicamente mediante una unión entre monómeros de estradómero, tal como se definen en el presente documento. Un "estradómero multimérico" está compuesto de tres o más estradómeros, formados mediante autoagregación de monómeros de estradómero, o a través de un enlace entre monómeros de estradómero, tal como se definen en el presente documento.

35 Monómero de estradómero

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "monómero de estradómero" se refiere a una sola molécula de péptido contigua que, cuando se asocia con al menos un segundo monómero de estradómero, forma un polipéptido que comprende al menos dos dominios Fc (véanse, por ejemplo, las figuras 6A-6B, figura 12A). Aunque en realizaciones preferidas los estradómeros en serie están compuestos de dos monómeros de estradómero asociados (véanse, por ejemplo, las figuras 5A, 5B, 7A, 7B, 7C, 7D), un estradómero en serie también puede contener tres o más monómeros de estradómero (véase la figura 11C). Los monómeros de estradómero pueden asociarse para formar estradómeros mediante enlaces entre monómeros de estradómero o pueden formar estradómeros mediante auto-agregación.

45 Un monómero de estradómero puede tener una secuencia de aminoácidos que formará uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce o más dominios Fc cuando se asocia con otro monómero de estradómero para formar un estradómero. Un monómero de estradómero puede tener además una secuencia de aminoácidos que formará uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce o más dominios parciales de Fc cuando se asocia con otro monómero de estradómero para formar un estradómero.

50 Las regiones de monómeros de estradómero que formarán dominios Fc y dominios parciales de Fc en el contexto de un estradómero pueden disponerse sencillamente de carboxilo terminal a amino terminal de regiones sucesivas de la molécula de monómero de estradómero (véase, por ejemplo, la figura 4A-4B). Como alternativa, las regiones sucesivas de los monómeros de estradómero pueden unirse a través de una secuencia peptídica denominada una "unión de dominio" en el presente documento. La disposición de los monómeros de dominio Fc y monómeros de dominio parcial de Fc particulares que comprenden un monómero de estradómero no es crítica. Sin embargo, la disposición tiene que permitir la formación de dos dominios Fc tras la asociación de dos monómeros de estradómero.

60 En una realización de los estradómeros, se producen monómeros de estradómero que contienen en el extremo N-terminal del péptido un monómero de dominio Fc o un monómero de dominio parcial de Fc que se une fuertemente consigo mismo, tal como en forma de uno solo o dos monómeros de dominio CH2 de IgE terminales o un monómero de dominio de bisagra de IgG3 parcial, para crear un dominio Fc o un dominio parcial de Fc, respectivamente. Cada uno de estos monómeros de estradómero tiene el requisito complementario de que los monómeros de dominio Fc y/o monómeros de dominio parcial de Fc se unan a dos receptores Fc gamma tras la formación de un estradómero. Los estradómeros que son el resultado de la asociación de dichos monómeros de estradómero son biomiméticos

capaces de unirse a dos o más receptores Fc gamma. En una realización preferida, el dominio Fc N-terminal del dominio parcial de Fc contiene un sitio de glucosilación adicional, tal como aquel que existe en el dominio CH2 de IgE.

5 Como ejemplo aclaratorio, el experto en la materia entenderá que las moléculas de estradómero pueden construirse preparando una molécula de polinucleótido que codifica diversas combinaciones de monómeros de dominio Fc y monómeros de dominio parcial de Fc, pero con una combinación que formará un mínimo de dos monómeros de dominio Fc. Dicha molécula de polinucleótido puede insertarse en un vector de expresión, que puede usarse para transformar una población de bacterias. Los monómeros de estradómero pueden producirse entonces cultivando las bacterias transformadas en condiciones de cultivo adecuadas. Los monómeros de estradómero pueden entonces formar estradómeros funcionales bien tras la autoagregación de los monómeros de estradómeros o bien la asociación de monómeros de estradómero usando enlaces entre monómeros de estradómero. La presente invención abarca ambos estradómeros formados mediante la asociación de monómeros de estradómero que tienen secuencias de aminoácidos idénticas, monómeros de estradómero que tienen secuencias de aminoácidos sustancialmente similares, o monómeros de estradómero que tienen secuencias disímiles. En la última realización, la secuencia de aminoácidos de los monómeros de estradómero que comprenden un estradómero necesitan tener únicamente una similitud tal que se forman dos o más sitios de unión a receptor Fcγ.

20 Tal como se indica anteriormente, un dominio Fc puede definirse funcionalmente por su capacidad para unirse a un receptor Fcγ. Como resultado, la secuencia de aminoácidos particular de un dominio Fc variará basándose en los dominios parciales de Fc que comprenden el dominio Fc. Sin embargo, en una realización el dominio Fc comprende la región bisagra y un dominio CH2 de una molécula de inmunoglobulina. En una realización adicional el dominio Fc comprende la región bisagra, un dominio CH2 y un dominio CH3 de una molécula de inmunoglobulina. En una realización adicional, el dominio Fc comprende la región bisagra, un dominio CH2, el dominio CH3 y el dominio CH4 de una molécula de inmunoglobulina. En otra realización más, el dominio Fc comprende la región bisagra, un dominio CH2 y un dominio CH4 de una molécula de inmunoglobulina.

#### Unión de dominio

30 Tal como se indica anteriormente, una "unión de dominio" es un enlace peptídico entre monómeros de dominio Fc y/o monómeros de dominio parciales de Fc que comprenden cada uno de los monómeros de estradómero individuales de los estradómeros en serie o estradocuerpos. La unión de dominio puede tener 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más aminoácidos. Una unión de dominio no tiene lugar entre monómeros de dominio parcial de Fc que se encuentran en su secuencia natural. Es decir, en los casos donde se usan porciones contiguas unidas de manera natural de monómeros de dominio Fc, tal como la región bisagra, el dominio CH2 y el dominio CH3 de IgG, estos monómeros de dominio parcial de Fc comprenden una secuencia contigua y no se requiere unión de dominio entre estos elementos. Por el contrario, por ejemplo, cuando se unen monómeros de dominio Fc o monómeros de dominio parcial de Fc de un modo que no es de origen natural para formar un monómero de estradómero individual, pueden usarse uniones de dominio. Un ejemplo podría ser la unión entre dos péptidos de bisagra/CH2/CH3, creando un monómero de estradómero individual de un estradómero que comprende bisagra/CH2/CH3/L/bisagra/CH2/CH3, en donde "L" es la unión de dominio (véase, por ejemplo, la figura 4A, en donde la unión de dominio (no mostrada) tiene lugar entre el dominio CH3 de IgG1 y la bisagra de IgG1). En los diversos casos descritos, la unión de dominio puede ser una de las partes de origen natural de la cadena pesada que une los dominios de bisagra y CH en el monómero de dominio Fc de un anticuerpo. Como alternativa, la unión de dominio puede ser cualquier otra secuencia de aminoácidos que proporcione el espaciado y la flexibilidad necesarios entre los monómeros de dominio Fc y los monómeros de dominios Fc parciales de un monómero de estradómero individual y que permite que se emparejen los monómeros de estradómero individuales entre sí para formar los estradómeros.

50 El experto en la materia entenderá que la identidad de la unión de dominio no es particularmente importante en tanto que permita que dos o más monómeros de estradómero individuales formen los compuestos biomiméticos, y que los compuestos resultantes tienen la capacidad de reticular más de un FcγR. Se prevé que cada compuesto biomimético inmunológicamente activo contendrá preferentemente al menos una unión de dominio en cada monómero de estradómero del estradómero en serie o del estradocuerpo que funcionará para mantener los dominios Fc del biomimético inmunológicamente activo dentro de una región espacial restringida y que facilitará la activación de FcγR, por ejemplo, agregando FcγR mediante la unión conjunta a los dominios Fc dentro del biomimético inmunológicamente activo. Preferentemente, los enlaces de dominio permitirán el mismo o un mayor grado de variabilidad conformacional al que se proporciona por el dominio bisagra de las moléculas de IgG. Todos los enlaces anteriores se conocen bien en la técnica.

#### Enlace entre monómero de estradómero

65 Un enlace separado encontrado en los compuestos biomiméticos es el "enlace entre monómeros de estradómero" que tiene lugar entre dos o más monómeros de estradómero que comprenden los estradómeros y estradocuerpos. Mientras que los enlaces de dominio son secuencias cortas de aminoácidos que sirven para enlazar los monómeros de dominio Fc y los monómeros de dominio parcial de Fc que comprenden monómeros de estradómero individuales

de los compuestos biomiméticos entre sí, los enlaces entre monómeros de estradómero sirven para unir dos o más monómeros de estradómero que comprenden los compuestos biomiméticos. El enlace entre monómeros de estradómero puede ser cualquier enlace capaz de asociar de manera estable los monómeros de estradómero individuales. En algunas realizaciones, el enlace entre monómeros de estradómero puede ser un enlace covalente entre los monómeros de estradómero. Como alternativa, el enlace entre monómeros de estradómero entre los monómeros de estradómero puede ser una reticulación química directa. En realizaciones preferidas, las estructuras de monómero de estradómero aprovechan las propiedades de autoagregación naturales entre los monómeros de dominio Fc para crear estradómeros autoagregantes. En dichas realizaciones, se forman enlaces disulfuro entre los monómeros de estradómero individuales para formar los estradómeros (véase, por ejemplo, la figura 5A, en donde los enlaces entre monómeros de estradómero (no mostrados) sirven para unir los dos monómeros de estradómero individuales del estradómero). Los enlaces disulfuro se forman entre restos de cisteína de los monómeros de dominio Fc que comprenden las moléculas biomiméticas, usando bien restos de cisteínas que aparecen en la secuencia de monómero de dominio Fc natural o los restos de cisteína incorporados en un monómero de dominio Fc mediante mutagénesis de sitio dirigido. Dichas propiedades naturales de autoagregación también pueden usarse para formar enlaces entre monómeros de estradómero entre monómeros de estradómero individuales en multímeros de estradómero. Las realizaciones alternativas incluyen enlaces entre monómeros de estradómero donde se forman enlaces disulfuro entre restos de cisteína introducidos mediante mutagénesis de sitio dirigido en la secuencia de aminoácidos que comprende los monómeros individuales.

Como se ha discutido anteriormente, en una realización preferida, el enlace entre monómeros de estradómero que forma un estradómero es un enlace que es el resultado de la auto-agregación de monómeros de estradómero. En una realización, los dos monómeros de estradómero que comprenden el estradómero son péptidos individuales, de tal forma que los dos monómeros de estradómero individuales que comprenden el estradómero son idénticos en secuencia. Sin embargo, el experto en la materia entenderá que otras realizaciones incluyen estradómeros donde los monómeros de estradómero difieren entre sí en su secuencia de aminoácidos.

Dos monómeros de estradómero pueden formar un estradómero, por ejemplo, alineándose en paralelo de tal forma que el emparejamiento tiene lugar entre monómeros de dominio parcial de Fc idénticos en los monómeros de estradómero (véanse, por ejemplo, las figuras 5A-B). Sin embargo, la presente divulgación también incluye realizaciones en las que tiene lugar el emparejamiento entre monómeros de dominio parcial de Fc no idénticos, y realizaciones (véase la figura 11C) en donde el emparejamiento tiene lugar entre monómeros de dominio parcial de Fc idénticos en los monómeros de estradómero pero donde el alineamiento de los dos monómeros de estradómero está compensado.

Para controlar la producción y autodimerización de un monómero de estradómero, pueden usarse "regiones taponadoras". Por ejemplo, una secuencia de monómero de estradómero puede comprender los siguientes dominios parciales de Fc: CH2 de IgE / bisagra de IgG 1 / CH2 de IgG1 / CH3 de IgG1 / bisagra de IgG1 / CH2 de IgG1 / CH4 de IgE, (véase la figura 13A) en donde los dominios de IgE sirven como tapón para prevenir un "efecto de cremallera". Un efecto de cremallera puede tener lugar cuando un monómero de estradómero (véase la figura 11A) puede autodimerizar (véase la figura 11B) o puede alinearse no como un autodímero sino como monómeros alternos en paralelo (véase la figura 11C). Un experto habitual en la materia entenderá que diversos dominios parciales de Fc, tales como la bisagra de cualquier inmunoglobulina o el dominio CH4 de IgM o IgE, pueden usarse solos o en combinación para dirigir al estradómero para que autodimerice y para prohibir el efecto de cremallera cuando se desee. Otras estructuras no en serie pueden contener moléculas ramificadas (véase la figura 12B), dos o más estradómeros alineados en paralelo unidos mediante enlazadores, tales como un enlace covalente simple, enlazadores peptídicos, o enlazadores no peptídicos (véanse las figuras 14A y 14B).

#### Estradómero de núcleo

Un "estradómero de núcleo" está compuesto de un resto de núcleo al que se unen dos o más unidades de estradómero de núcleo, en el que cada unidad de estradómero de núcleo comprende al menos un dominio Fc, creando de este modo un compuesto biomimético capaz de unirse a dos o más receptores Fc. Un fragmento Fc, fragmento parcial de Fc, un estradómero en serie o un estradómero agrupado pueden servir cada uno independientemente como uno o ambos (en caso de que comprendan dos dominios Fc) de las unidades de estradómero de núcleo en un estradómero de núcleo porque cada una de estas moléculas contiene al menos un dominio Fc. Por lo tanto, un estradómero de núcleo puede comprender un resto de núcleo al que se une al menos un estradómero en serie.

Tal como se usa en el presente documento, el resto de núcleo de un estradómero de núcleo es cualquier estructura física a la que pueden enlazarse o unirse covalentemente las unidades de estradómero de núcleo. Los polipéptidos preferidos que pueden servir como el resto de núcleo incluyen hemocianina de lapa californiana, albúmina de suero bovino y ovoalbúmina. La reticulación química entre dichos restos de núcleo y unidades de estradómero de núcleo (por ejemplo, fragmento Fc, fragmento parcial de Fc, dominio Fc, estradómero en serie y unidad de estradómero agrupado) puede lograrse mediante numerosos agentes químicos usando técnicas bien conocidas. Los agentes químicos ejemplares adecuados generalmente para su uso en la reticulación incluyen glutaraldehído, carbodiimida, ésteres de succinimida (por ejemplo, MBS, SMCC), bencidina, peryodato, isotiocianato; espaciadores de PEO



(polietileno)/PEG (polietilenglicol), tales como Bis(NHS)PEO<sub>5</sub>, DFDNB (1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzoceno); y reactivos reticulantes homobifuncionales de amina reactiva, incluyendo dextrano activado con aldehído, bis(sulfosuccinimidil)suberato, Bis[2-(succinimidooxycarbonilo)etil]sulfona, adipimidato de dimetilo • 2 HCl, pimelimidato de dimetilo • 2 HCl, suberimidato de dimetilo • 2 HCl, glutarato de disuccinimidilo, propionato de ditiobis(succinimidilo), suberato de disuccinimidilo, tartrato de disuccinimidilo, 3,3'-ditiobispropionimidato de dimetilo • 2 HCl, 3,3'-ditiobis(sulfosuccinimidilpropionato), bis[succinimidilsuccinato] de etilenglicol, bis[sulfosuccinimidilsuccinato] de etilenglicol, ácido β-[Tris(hidroximetil)fosfino]propiónico y aminotriacetato de Tris-succinimidilo. Un experto en la materia será capaz de seleccionar el agente químico de reticulación y las condiciones adecuadas basándose en el resto de núcleo particular seleccionado y en la secuencia de los polipéptidos que contienen dominio Fc que se estén combinando para formar un biomimético inmunológicamente activo. Véase, por ejemplo, Wong, Shan S. Chemistry of protein conjugation and cross-linking. Boca Raton: CRC Press, c1991 (ISBN 0849358868).

En otra realización preferida, una cadena polipeptídica de unión (J) puede usarse como resto de núcleo. Cuando se usa una cadena J como resto de núcleo, pueden usarse puentes de cisteína para conectar unidades de estradómero de núcleo individuales para formar un estradómero de núcleo (véanse las fig. 10A-10D). En una realización de un estradómero de núcleo, se asocian estradómeros en serie (que sirven como las unidades de estradómero de núcleo) que contienen un dominio CH<sub>4</sub> de IgM terminal con una cadena J para formar un estradómero de núcleo. La inclusión del dominio CH<sub>4</sub> de IgM da como resultado la auto-agregación de los estradómeros que comprenden este dominio parcial de Fc con una cadena J para formar un biomimético capaz de unirse a múltiples receptores de Fc gamma. Otro estradómero de núcleo ejemplar es uno que comprende dominios Fc (que sirven como unidades de estradómero de núcleo) en donde los dominios Fc tienen la estructura bisagra de IgG3 / CH<sub>2</sub> de IgG3 / CH<sub>3</sub> de IgG3 / CH<sub>4</sub> de IgM. Los componentes de dominio Fc de esta molécula no pueden unirse individualmente a más de un receptor de Fc gamma, pero la estructura completa puede unirse a cinco receptores Fc gamma cuando los componentes de dominio Fc se asocian con una cadena J.

En otra realización, el resto de núcleo puede ser una entidad no polipeptídica. Puede asociarse físicamente diversas composiciones adecuadas con las unidades de estradómero de núcleo para producir un biomimético inmunológicamente activo. Pueden usarse perlas no tóxicas, polímeros y dendrímeros hiper ramificados, nanopartículas y diversos compuestos que la FDA clasifica como considerados generalmente como seguros (por ejemplo, propilenglicol, sorbitol, liposomas y silicato de calcio). Véase, por ejemplo, Nanoparticulates as Drug Carriers por Vladimir P. Torchilin (Editor), Imperial College Press (Sept. 2006) ISBN: 1860946305/ISBN-13:9781860946301.

Los restos de núcleo preferidos incluyen una perla, albúmina, un liposoma, un péptido y polietilenglicol.

#### Estradómero agrupado

Un "estradómero agrupado" es un biomimético que tiene una forma similar a la de un pulpo con un resto central de "cabeza" y dos o más "patas", en las que cada pata comprende uno o más dominios Fc que son capaces de unirse a al menos un receptor Fc gamma, creando de este modo un biomimético capaz de unirse a dos o más receptores Fc gamma. Cada estradómero agrupado está compuesto de más de una proteína dimérica, cada una denominada como una "unidad de estradómero agrupado". Cada unidad de estradómero agrupado está compuesta de una región que multimeriza y una región de "pata" que comprende al menos un dominio Fc funcional. La región de multimerización crea una "cabeza" de estradómero agrupado una vez que se ha multimerizado con la región de multimerización de otra unidad de estradómero agrupado. La región de pata es capaz de unirse a tantos receptores Fc gamma como dominios Fc haya en cada región de pata. Por lo tanto, un estradómero agrupado es un compuesto biomimético capaz de unirse a dos o más receptores Fc gamma.

La región de multimerización puede ser una secuencia peptídica que hace que las proteínas diméricas multimericen adicionalmente o como alternativa la región de multimerización puede ser una glucosilación que potencia la multimerización de proteínas diméricas. Los ejemplos de regiones de multimerización de péptidos incluyen la bisagra de IgG2, el dominio CH<sub>2</sub> de IgE, la cremallera de isoleucina, y los dedos de cinc. La influencia de la glucosilación en la multimerización de péptidos está bien descrita en la técnica (por ejemplo, Role of Carbohydrate in Multimeric Structure of Factor VIII/V on Willebrand Factor Protein. Harvey R. Gralnick, Sybil B. Williams y Margaret E. Rick. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Vol. 80, N.º 9, [Parte 1: Biological Sciences] (1 de mayo de 1983), págs. 2771-2774; Multimerization and collagen binding of vitronectin is modulated by its glycosylation. Kimie Asanuma, Fumio Arisaka y Haruko Ogawa. International Congress Series Volumen 1223, 2001 de diciembre de Páginas 97-101).

Un experto en la materia reconocerá que una unidad de estradómero agrupado puede comprender por sí misma un estradómero en serie (que contiene dos o más dominios Fc) junto con una región de multimerización. Por lo tanto, las "patas" de un estradómero agrupado pueden estar compuestas de cualquiera de los tipos de estradómeros en serie discutidos en el presente documento y/o uno o más de un fragmento Fc de IgG1 y/o un fragmento Fc de IgG3 y/o un solo dominio Fc. Un experto en la materia reconocerá que cada uno de los fragmentos Fc de IgG1 y fragmentos Fc de IgG3 en dichos biomiméticos pueden modificarse para que comprendan fragmentos parciales de

Fc de cualquier inmunoglobulina. Los monómeros que comprenden la unidad de estradómero agrupado (que, tal como se ha indicado anteriormente, existe como una asociación dimérica de dos péptidos) son "monómeros de unidad de estradómero agrupado". Un estradómero agrupado ejemplar que se ha producido cuya unidad de estradómero agrupado no se uniría a más de un receptor Fc gamma de baja afinidad antes de la multimerización es:

5 CH2 de IgE / bisagra de IgG1 / CH2 de IgG1 / CH3 de IgG1.

Un experto en la materia reconocerá que cuando se usa un estradómero en serie como "pata" de un estradómero agrupado, cada "pata" será capaz de unirse a más de un receptor Fc gamma (como cuando están presentes al menos dos dominios Fc en un estradómero en serie), creando de este modo un biomimético capaz de unirse a más

10 de un receptor Fc gamma. Los dominios parciales de Fc, otras secuencias de inmunoglobulina, y secuencias no de inmunoglobulina pueden colocarse en el extremo de monómeros de unidad de estradómero agrupado individual que comprenden las patas para crear un estradómero agrupado en el que cada pata tiene una proximidad espacial preferida para aumentar su disponibilidad para unirse a uno o más de un receptor Fc gamma.

15 La región de multimerización puede ser una secuencia peptídica que hace que los péptidos dimericen o multimericen e incluye la bisagra de IgG2, el dominio CH2 de IgE, una cremallera de isoleucina y un dedo de cinc. Como se conoce en la técnica, la región bisagra de IgG2 humana puede formar dímeros covalentes (Yoo, E.M. et al. J. Immunol. 170, 3134-3138 (2003); Salfeld Nature Biotech. 25, 1369-1372 (2007)). La formación de dímero de IgG2 está mediada potencialmente a través de la estructura de bisagra de IgG2 mediante enlaces C-C (Yoo et al, 2003),

20 lo que sugiere que la estructura de bisagra sola puede mediar la formación de dímeros. Por lo tanto, los estradómeros en serie que tienen una bisagra de IgG2 (y por lo tanto sirven como unidades de estradómero agrupado) formarán un estradómero agrupado que puede comprender dos estradómeros en serie o incluso tres estradómeros en serie.

25 La secuencia de aminoácidos del monómero de bisagra de IgG2 humana es la siguiente: ERKCCVECPCP (SEQ ID NO: 36). La estructura de núcleo de la bisagra es la porción C-X-X-C del monómero de bisagra. Por lo tanto, los monómeros de estradómero de la presente invención pueden comprender bien la secuencia completa de 12 aminoácidos del monómero de bisagra de IgG2, o el núcleo de cuatro aminoácidos, junto con monómeros de dominio Fc. Mientras que el X-X de la estructura de núcleo puede ser cualquier aminoácido, en una realización

30 preferida la secuencia X-X es V-E o P-P. El experto en la materia entenderá que el monómero de bisagra de IgG2 puede estar compuesto de cualquier porción de la secuencia bisagra además de la estructura de núcleo de cuatro aminoácidos, incluyendo la totalidad de la secuencia de bisagra de IgG2 y parte o la totalidad de las secuencias de monómero de dominio CH2 y CH3 de IgG2. Los ejemplos específicos de posibles construcciones de estradómero en serie de bisagra de IgG2 - dominio Fc de IgG1 son las siguientes:

35

Tabla 1

N-term	H	CH2	CH3	H	CH2	CH3	H	CH2	CH3	C-term
	CXXC			1	1	1				
	CXXC			1	1	1	1	1	1	
	2	2	2	1	1	1				
	2	2	2	1	1	1	1	1	1	
	2			1	1	1				
	2			1	1	1	1	1	1	
	2x	2	2	1	1	1				
	2x	2	2	1	1	1	1	1	1	
	2x	2	2	1	1	1	1	1	1	bisagra de IgE
	2x			1	1	1				

Nomenclatura: H = bisagra, CH2 = dominio pesado constante 2, CH3 = dominio pesado constante 3, 1 = IgG1, 2 = IgG2, X = cualquier aminoácido; 2x = dos bisagras en orden consecutivo

Estos son solo unos pocos de muchos ejemplos. Cualquiera de los dominios Fc de IgG1 pueden, por ejemplo, reemplazarse con un dominio Fc de IgG3. Las proteínas adicionales con dominios de dimerización de IgG2 incluye

40 proteínas quiméricas de IgG2-IgG1 con la adición de secuencias N y/o C-terminales que comprenden secuencias de monómero de dominio de IgM o IgE. Estas secuencias N y C terminales pueden ser las regiones bisagra, los dominios constantes, o ambos.

Tal como se indica anteriormente, también pueden usarse cremalleras de leucina e isoleucina como región de multimerización. Se sabe que las cremalleras de leucina e isoleucina (dominios de hélice superenrollada) facilitan la formación de dímeros, trímeros y tetrámeros de proteína (Harbury et al. Science 262:1401-1407 (1993); O'Shea et al. Science 243 :538 (1989)). Al aprovechar la tendencia natural de una cremallera de isoleucina para formar un trímero, pueden producirse estradómeros agrupados usando estradómeros en serie que comprenden una cremallera de isoleucina. La asociación de tres o más estradómeros en serie (en forma de unidades de estradómero agrupado)

50 que tienen cremalleras de isoleucina da como resultado la formación de estradómeros agrupados que tienen al menos seis regiones de unión a receptor Fc gamma.

Aunque el experto en la materia entenderá que pueden usarse diferentes tipos de cremalleras de leucina e isoleucina, en una realización preferida se usa la cremallera de isoleucina del regulador transcripcional GCN4 modificada de la forma descrita (Morris et al., Mol. Immunol. 44:3112-3121 (2007); Harbury et al. Science 262:1401-1407 (1993)):

5 YTKSLSLSPGKELLGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKKLIGERGHGGGSNSQVSHRYPRFQSIKVFTEYKKE  
 KGFILTS (SEQ ID NO:37). Esta secuencia de cremallera de isoleucina es solo una de varias posibles secuencias que pueden usarse para la multimerización de monómeros de dominio Fc. Aunque puede usarse la secuencia completa mostrada en la SEQ ID NO: 37, la porción subrayada de la secuencia representa la secuencia de núcleo de la cremallera de isoleucina que puede usarse en los estradómeros agrupados. Por lo tanto, los monómeros de  
 10 estradómero pueden comprender bien la secuencia completa de 88 aminoácidos de la cremallera de isoleucina (ILZ), o el núcleo de 28 aminoácidos, junto con uno o más monómeros de dominio Fc. El experto en la materia también entenderá que la cremallera de isoleucina puede estar compuesta de cualquier porción de la cremallera además de la estructura de núcleo de 28 aminoácidos, y por lo tanto puede estar compuesta por más de 28 aminoácidos, pero de menos de los 88 aminoácidos de la cremallera de isoleucina. Los ejemplos específicos de  
 15 construcciones de ILZ - dominio Fc de IgG1 posibles son los siguientes.

Tabla 2

H	CH2	CH3	H	CH2	CH3	
ILZ	1	1	1			
ILZ	1	1	1	1	1	
ILZ	1	1	1	1	1	1
ILZ	1	1	1	3	3	3

Nomenclatura: H = bisagra, CH2 = dominio pesado constante 2, CH3 = dominio pesado constante 3, 1 = IgG1, 3 = IgG3, ILZ = dominio de cremallera de isoleucina

20 Estos son solo unos pocos de muchos ejemplos. Cualquiera de los dominios de IgG1 pueden, por ejemplo, reemplazarse con dominios de IgG3. Las proteínas adicionales con dominios de ILZ incluyen proteínas quiméricas de IgG1 con la adición de secuencias N y/o C terminales de otras moléculas de Ig, tales como IgM o IgE. Estas secuencias N y C terminales pueden ser las regiones bisagra, dominios constantes o ambos.

25 Estradómero de fragmento Fc

Un "estradoómero de fragmento Fc" está compuesto de más de un fragmento Fc. En determinadas circunstancias atribuibles a la modificación postraducciona del fragmento Fc, el fragmento Fc se une con suficiente fuerza a otro fragmento Fc para permitir la formación de una molécula que se une a más de un receptor Fcγ. La modificación postraducciona que permite dicha unión incluye glucosilación y metilación. La identidad de la línea celular en la que se producen los fragmentos Fc recombinantes, y las condiciones en las que se producen, regirá si los fragmentos Fc formarán estradoómeros de fragmento Fc. Por ejemplo, un fragmento Fc recombinante producido en una célula de transfección transitoria CHO FreestyleMax forma multímeros que son visibles en transferencias de Western, se une según un ajuste bivalente en un ensayo de unión de resonancia de plasmón, y demuestra actividad biológica en un ensayo de células dendríticas comparable a IVIG. Por el contrario, el mismo fragmento Fc recombinante producido en una línea celular CHO no forma multímeros del fragmento Fc en transferencias de Western, se une según un ajuste univalente en un ensayo de unión de resonancia de plasmón, y no muestra actividad biológica comparable. Por lo tanto, un estradoómero de fragmento Fc es un compuesto biomimético capaz de unirse a dos o más receptores Fcγ.

40 Tal como también se usa en el presente documento, la expresión "dímero de Fc" es un dímero de fragmentos Fc (véase la figura 2A), la expresión "trímero de Fc" es un trímero de fragmentos Fc, y la expresión "multímero de Fc" es un multímero de fragmentos Fc (véase la figura 2B).

45 Estradocuerpo

La presente divulgación también proporciona estradocuerpos. Tal como se usa en el presente documento, "estradocuerpo" se refiere a una molécula que comprende dos o más dominios Fc, preferentemente en el contexto de un estradoómero (incluyendo estradoómeros en serie, estradoómeros de núcleo, estradoómeros agrupados y estradoómeros de fragmento Fc), al que se une uno o más dominios Fab (véanse, por ejemplo, las figuras 8A-B y 9A-B). Por lo tanto, por obra de dichos dominios Fab, los estradocuerpos tienen tanto capacidad de unión a antígeno, como actividad de unión a receptor Fcγ de estradoómero. En algunas realizaciones, la actividad de unión a receptor Fcγ puede deberse a una capacidad para unirse y reticular a FcγR igual a o mayor que la porción Fc de un holo-anticuerpo de estructura nativa. Preferentemente, la porción Fab del estradocuerpo comprende tanto una cadena pesada como una ligera. La cadena pesada y la cadena ligera variable pueden ser independientemente de cualquier inmunoglobulina compatible, tal como IgA1, IgA2, IgM, IgD, IgE, IgG 1, IgG2, IgG3, o IgG4, y pueden ser del mismo o diferente isotipo de Ig, pero preferentemente son del mismo isotipo de Ig. Las cadenas ligeras kappa o lambda también pueden ser de diferentes isotipos de Ig. Los estradocuerpos, al igual que los estradoómeros, pueden unirse a dos o más FcγR y modular la función inmunitaria.

En una realización, los estradómeros pueden tener un Fab de una inmunoglobulina unido a un dominio bisagra (H) de Fc de un estradómero para generar un estradocuerpo (por ejemplo, figura 8A y B). En otra realización, el estradocuerpo puede estar compuesto de Fc de IgG 1 - (bisagra - CH2) de IgG1 (por ejemplo, figura 9A). En otras realizaciones, el estradocuerpo puede estar compuesto de un dominio y bisagra de IgG1, un dominio y bisagra de IgG3 y un dominio y bisagra de IgE (por ejemplo, figura 9B). El Fab comprende tanto una cadena pesada como una ligera tal como se encuentra en estructuras de inmunoglobulina nativas (figura 3A-B).

Los estradocuerpos poseerán las propiedades de unión a antígeno de la porción Fab y las propiedades de estradómero descritas anteriormente. Dicha combinación servirá para unir, reticular, y activar receptores Fc $\gamma$  en células efectoras a una mayor velocidad de la que puede lograrse mediante un armazón Fc de un holo-anticuerpo, particularmente en el ambiente de baja expresión de epítipo (por ejemplo, el 90 % de los pacientes con cáncer de mama cuyos tumores no se clasifican como altos expresores de her/2-neu), incluyendo ADCC en un mayor porcentaje de pacientes. Tal como se indica anteriormente, pueden añadirse uno o más fragmentos Fab de unión a antígeno a los estradómeros para formar estradocuerpos. Preferentemente, los polipéptidos (distintos de los enlaces descritos en el presente documento) añadidos a los estradómeros no son la totalidad o partes de los polipéptidos no de inmunoglobulina.

El Fab puede ser una estructura quimérica compuesta de regiones constantes humanas y regiones variables no humanas, tales como la región variable de un anticuerpo de ratón, rata, conejo, mono, o cabra. Un experto en la materia será capaz de producir diversas estructuras quiméricas de Fab para su incorporación en estradocuerpos usando metodologías disponibles actualmente y descritas en la bibliografía científica para dichas construcciones. Por lo tanto, pueden diseñarse estradocuerpos "humanizados" análogos a los "anticuerpos monoclonales humanizados".

#### Variantes y homólogos

El experto en la materia entenderá que los estradómeros y otros biomiméticos pueden diseñarse para que incluyan dominios Fc de inmunoglobulina específicos, tal como dos dominios Fc de IgG1 (es decir, bisagra de IgG 1 / CH2 de IgG1 / CH3 de IgG1 / bisagra de IgG1 / CH2 de IgG1 / CH3 de IgG3). Dicho estradómero puede construirse preparando en primer lugar un polinucleótido que codifica dos monómeros de dominio Fc de IgG1 (es decir, monómero de bisagra de IgG 1 / monómero de CH2 de IgG1 / monómero de CH3 de IgG1 / monómero de bisagra de IgG1 / monómero de CH2 de IgG1 / monómero de CH3 de IgG3), y después expresando monómeros de estradómero a partir de los mismos. Tras la asociación de dos de dichos monómeros de estradómero se produciría un estradómero en serie que tiene dos dominios Fc de IgG1.

Los estradómeros y otros biomiméticos también pueden diseñarse basándose en la identidad de dominios parciales de Fc de inmunoglobulina que comprenden los dominios Fc. Por ejemplo, podría producirse un estradómero en serie que tiene dos dominios Fc, en donde el primer dominio Fc comprende bisagra de IgG1 / CH2 de IgG3 / CH3 de IgG1 y el segundo dominio Fc comprende bisagra de IgG3 / CH2 de IgG1 / CH3 de IgG3.

Se entiende que los estradómeros y otras moléculas biomiméticas divulgadas en el presente documento pueden proceder de cualquiera de diversas especies. De hecho, Los dominios Fc, o los dominios parciales de Fc, en una molécula biomimética cualquiera puede proceder de inmunoglobulina de más de una (por ejemplo, de dos, tres, cuatro, cinco, o más) especies. Sin embargo, comúnmente procederán de una sola especie. Además, se apreciará que cualquiera de los métodos divulgados en el presente documento (por ejemplo, métodos de tratamiento) pueden aplicarse a cualquier especie. En general, los componentes de un biomimético aplicados a una especie de interés procederán todos de esa especie. Sin embargo, también pueden usarse biomiméticos en los que todos los componentes son de una especie diferente o son de más de una especie (incluyendo o no la especie a la que se aplican los métodos relevantes).

Los dominios CH1, CH2, CH3 y CH4 y las regiones bisagra específicas que comprenden los dominios Fc y dominios parciales de Fc de los estradómeros y otros biomiméticos pueden seleccionarse independientemente, tanto en términos de la subclase de inmunoglobulina, como del organismo, del que proceden. Por consiguiente, los estradómeros y otros biomiméticos divulgados en el presente documento pueden comprender dominios Fc y dominios parciales de Fc que proceden independientemente de varios tipos de inmunoglobulina, tal como IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgD, IgE, e IgM. De manera similar, cada dominio Fc y dominio parcial de Fc puede proceder de varias especies, preferentemente una especie de mamífero, incluyendo primates no humanos (por ejemplo, monos, babuinos, y chimpancés), seres humanos, murinos, ratas, bovinos, equinos, felinos, caninos, porcinos, conejos, cabras, ciervos, ovejas, hurones, gerbos, cobayas, hámsteres, murciélagos, aves (por ejemplo, pollos, pavos, y patos), peces y reptiles para producir moléculas de estradómero específicas de especie o quiméricas.

Los dominios Fc individuales y dominios parciales de Fc también pueden estar humanizados. Un experto en la materia será consciente de que diferentes dominios Fc y dominios parciales de Fc proporcionarán diferentes tipos de funcionalidades. Por ejemplo, los Fc $\gamma$ R se unen específicamente a inmunoglobulinas de IgG y no a otras clases de inmunoglobulinas. Por lo tanto, un experto en la materia, que pretenda diseñar un estradómero con capacidad de unión a receptor Fc $\gamma$  múltiple, diseñaría dominios Fc de estradómero que incorporasen al menos las bien

caracterizadas secuencias de IgG de unión a receptor Fc $\gamma$ , incluyendo aquellos en la región bisagra de IgG y los dominios CH2 y CH3 de IgG. Un experto habitual en la materia también entenderá que pueden asociarse diversas consecuencias perjudiciales con el uso de dominios de Ig particulares, tales como la anafilaxis asociada con infusiones de IgA. Los biomiméticos divulgados en el presente documento deben diseñarse generalmente para evitar dichos efectos, aunque en circunstancias particulares pueden ser deseables dichos efectos.

La presente divulgación también proporciona estradómeros que comprenden dominios Fc y dominios parciales de Fc que tienen secuencias de aminoácidos que difieren de la secuencia de aminoácidos de origen natural del dominio Fc o del dominio parcial de Fc. Los dominios Fc preferidos para su inclusión en los compuestos biomiméticos tienen una afinidad de unión específica bien para un holo-receptor Fc $\gamma$  o una porción de dominio extracelular soluble de un Fc $\gamma$ R. Las secuencias de aminoácidos primarias y las estructuras cristalográficas de rayos X de numerosos monómeros de dominio Fc están disponibles en la técnica. Véase, por ejemplo, Woof JM, Burton DR. Human antibody-Fc receptor interactions illuminated by crystal structures. *Nat Rev Immunol.* feb 2004;4(2):89-99. Los dominios Fc representativos con capacidad de unión a receptor Fc $\gamma$  incluyen los dominios Fc de los isotipos 1-4 de inmunoglobulina G humana (hIgG<sub>1-4</sub>) (SEQ ID NO: 1, 3, 5 y 7 respectivamente; véase también la figura 15A-D). (Véase la fig. 2 de Robert L. Shields, et al. High Resolution Mapping of the Binding Site on Human IgG 1 for Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RII, Fc $\gamma$ RIII, and FcRn and Design of IgG 1 Variants with Improved Binding to the Fc $\gamma$ R. *J. Biol. Chem.*, Feb de 2001; 276: 6591 - 6604). Estas secuencias nativas pueden someterse a un análisis exhaustivo de estructura-función incluyendo mapeo por mutagénesis de sitio dirigido de secuencias funcionales<sup>14</sup>. Basándose en estos estudios anteriores de estructura-función y los datos cristalográficos disponibles, un experto en la materia puede diseñar variantes de secuencia de dominio Fc funcionales (por ejemplo, de las SEQ ID NO: 1, 3, 5 y 7) a la vez que se conserva la capacidad de unión al receptor Fc $\gamma$  del dominio Fc.

Los cambios de aminoácidos pueden encontrarse a lo largo de la secuencia del dominio Fc, o aislarse a dominios parciales de Fc particulares que comprenden el dominio Fc. Estas variantes funcionales del dominio Fc usadas en los estradómeros y otros biomiméticos tendrán al menos aproximadamente un 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con un dominio Fc nativo. De manera similar, las variantes funcionales de los dominios parciales de Fc usadas en los estradómeros y otros biomiméticos tendrán al menos aproximadamente un 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con un dominio parcial de Fc nativo.

La presente divulgación proporciona además el uso de variantes funcionales de monómeros de dominio Fc en la construcción de monómeros de fragmento Fc, monómeros de fragmento parcial de Fc, monómeros de estradómero y los otros monómeros. Las variantes funcionales de los monómeros de dominio Fc tendrán al menos aproximadamente un 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de monómero de dominio Fc nativo.

De manera similar, la presente divulgación proporciona el uso de variantes funcionales de monómeros de dominios parciales de Fc en la construcción de monómeros de fragmento Fc, monómeros de fragmento parcial de Fc, monómeros de dominios Fc, monómeros de estradómero y los otros monómeros. Las variantes funcionales de los monómeros de dominio parcial de Fc tendrán al menos aproximadamente un 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de monómero de dominio parcial de Fc nativo.

Los cambios de aminoácidos pueden reducir, aumentar, o dejar sin alterar la afinidad de unión del estradómero al receptor Fc $\gamma$ . Preferentemente, dichos cambios de aminoácidos serán sustituciones de aminoácidos conservativas, sin embargo, dichos cambios incluyen eliminaciones, adiciones y otras sustituciones. Las sustituciones conservativas de aminoácidos incluyen normalmente cambios dentro de los siguientes grupos: glicina y alanina; valina, isoleucina, y leucina; ácido aspártico y ácido glutámico; asparagina, glutamina, serina y treonina; lisina, histidina y arginina; y fenilalanina y tirosina.

La expresión "variante funcional", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una secuencia relacionada por homología a una secuencia de referencia que es capaz de mediar los mismos efectos biológicos que la secuencia de referencia (cuando es un polipéptido), o que codifica un polipéptido que es capaz de mediar los mismos efectos biológicos que un polipéptido codificado por la secuencia de referencia (cuando es un polinucleótido). Por ejemplo, una variante funcional de cualquiera de los biomiméticos descritos en el presente documento podría tener una homología o identidad especificada y podría ser capaz de modulación inmunitaria de CD. Las variantes de secuencia funcionales incluyen tanto polinucleótidos como polipéptidos. La identidad de secuencia se evalúa generalmente usando BLAST 2.0 (por sus siglas en inglés, Basic Local Alignment Search Tool, herramienta de búsqueda de alineamiento local básica), operando con los parámetros por defecto: Filter-On, Matriz de puntuación - BLOSUM62, Tamaño de palabra - 3, valor de E - 10, coste por hueco - 11,1 y alineamientos - 50.

A partir de lo anterior, se apreciará que los estradómeros incluyen estradómeros que tienen: (a) solo dominios Fc de origen natural; (b) una mezcla de dominios Fc de origen natural y dominios Fc con secuencias de aminoácidos alteradas; y (c) solo dominios Fc con secuencias de aminoácidos alteradas. Todo lo que se requiere es que los estradómeros que contienen secuencias de aminoácidos alteradas tengan al menos un 25 %; 30 %; 40 %; 50 %; 60

%; 70 %; 80 %; 90 %; 95 %; 96 %; 97 %; 98 %; 99 %; 99,5 %; o 100 % o incluso más de la capacidad de un estradómero correspondiente que comprende dominios Fc con secuencias de origen natural para unirse a dos o más receptores Fc $\gamma$ .

- 5 Los sitios de unión a receptor Fc $\gamma$  anteriormente mencionados que aparecen en los estradómeros y estradocuerpos puede alterarse mediante ingeniería genética para derivar de manera predecible sitios de unión con capacidades y afinidades de unión alteradas en relación a una secuencia nativa. Por ejemplo, pueden alterarse sitios específicos que reducen la unión de dominio Fc de los compuestos biomiméticos a Fc $\gamma$ RII a la vez que se aumenta la unión a Fc $\gamma$ RIIIa. Un ejemplo de una mutagénesis extensiva basándose en el análisis de estructura-función respecto de las
- 10 secuencias de unión de receptor Fc $\gamma$  de hIgG es Robert L. Shields, et al. High Resolution Mapping of the Binding Site on Human IgG 1 for Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RII, Fc $\gamma$ RIII, and FcRn and Design of IgG 1 Variants with Improved Binding to the Fc $\gamma$ R. J. Biol. Chem., Feb de 2001; 276: 6591 - 6604. Se han llevado a cabo estudios similares en Fc de IgG murina (Fc de mIgG). Basándose en las homologías de secuencia estructural y primaria de dominios Fc de IgG nativa entre
- 15 especies, un experto en la materia puede traducir el conocimiento extensivo de estructura-función de Fc de hIgG y de Fc de mIgG para la mutagénesis racional de todas las secuencias de sitio de unión de receptor Fc $\gamma$  en los compuestos biomiméticos para diseñar sitios de unión con especificidades y afinidades de unión de receptor Fc $\gamma$ .

Además de las composiciones de secuencia de aminoácidos de dominios Fc nativos, se sabe que el contenido de carbohidrato del dominio Fc desempeña un papel importante en la estructura de dominio Fc y las interacciones de

20 unión con Fc $\gamma$ R. Véase, por ejemplo, Robert L. Shields, et al. Lack of Fucose on Human IgG 1 N-Linked Oligosaccharide Improves Binding to Human Fc RIII and Antibody-dependent Cellular Toxicity. J. Biol. Chem., Julio de 2002; 277: 26733 - 26740 (doi:10.1074/jbc.M202069200); Ann Wright y Sherie L. Morrison. Effect of C2-Associated Carbohydrate Structure on Ig Effector Function: Studies with Chimeric Mouse-Human IgG 1 Antibodies in Glycosylation Mutants of Chinese Hamster Ovary Cells. J. Immunol., Abril de 1998; 160: 3393 - 3402. El contenido

25 de carbohidratos puede controlarse usando, por ejemplo, sistemas de expresión de proteínas particulares, incluyendo líneas celulares particulares o modificación enzimática *in vitro*. Por lo tanto, la presente divulgación proporciona estradómeros y estradocuerpos que comprenden dominios Fc con el contenido de carbohidrato nativo del holo-anticuerpo del que se obtuvieron los dominios, así como aquellos compuestos biomiméticos que tienen un contenido de carbohidratos alterado.

30 La adición a la cadena de polipéptido de un dominio parcial de Fc, una región de multimerización, o cambios de glucosilación puede crear un cambio conformacional en el dominio Fc que permite la unión potenciada del dominio Fc a un receptor Fc $\gamma$ . Por lo tanto, los cambios aparentemente menores al polipéptido también pueden crear un estradómero capaz de unirse con múltiples receptores Fc $\gamma$ .

### 35 Dominios parciales y fragmentos parciales

El experto en la materia reconocerá adicionalmente que los dominios Fc y dominios parciales de Fc no necesitan ser

40 versiones de longitud completa. Es decir, la presente divulgación proporciona el uso de monómeros de dominio Fc y monómeros de dominio parcial de Fc que carecen de aminoácidos del extremo amino terminal, del extremo carboxilo terminal o la mitad de los monómeros de dominio Fc particulares y monómeros de dominio parcial de Fc que comprenden estradómeros y otros biomiméticos.

Por ejemplo, se ha descrito el sitio de unión en inmunoglobulinas IgG humanas por receptores Fc $\gamma$  (por ejemplo,

45 Radaev, S., Sun, P., 2001. Recognition of Immunoglobulins by Fc $\gamma$  Receptors. Molecular Immunology 38, 1073 - 1083; Shields, R.L. et al., 2001. High Resolution Mapping of the Binding Site on Human IgG 1 for Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RII, Fc $\gamma$ RIII, and FcRn and Design of IgG 1 Variants with Improved Binding to the Fc $\gamma$ R. J. Biol. Chem. 276 (9), 6591-6604). Basándose en ese conocimiento, pueden eliminarse aminoácidos del dominio Fc de estas inmunoglobulinas y determinar los efectos en la interacción de unión entre el dominio Fc y el receptor. Por lo tanto, la presente

50 divulgación puede emplear dominios Fc de IgG que tienen al menos aproximadamente el 90 % de los aminoácidos abarcados por las posiciones 233 a 338 de la bisagra inferior y CH2, tal como se define en Radaev, S., Sun, P., 2001.

Los dominios parciales de Fc de inmunoglobulinas IgG incluyen la totalidad o parte de la región bisagra, la totalidad

55 o parte del dominio CH2, y la totalidad o parte del dominio CH3.

Los dominios parciales de Fc de IgG que tienen solo una parte de la región bisagra, parte del dominio CH2 o parte del dominio CH3 se construyen a partir de monómeros de dominio parcial de Fc. Por lo tanto, la presente divulgación

60 proporciona monómeros de región bisagra de IgG procedentes del extremo N-terminal de la región bisagra o del extremo C-terminal de la región bisagra. Por lo tanto pueden contener, por ejemplo, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, o 62 (hasta 15 para IgG1, hasta 12 para IgG2, hasta 62 para IgG3, hasta 12 para IgG4) aminoácidos de la región bisagra.

La presente divulgación también proporciona monómeros de dominio CH2 de IgG procedentes del extremo N-

65 terminal del dominio CH2 o el extremo C-terminal del dominio CH2. Por lo tanto pueden contener, por ejemplo, 5, 6,

7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, o 110 (hasta 110 para IgG1 e IgG3, hasta 109 para IgG2 e IgG4) aminoácidos del dominio CH2.

La presente divulgación proporciona además monómeros de dominio CH3 de IgG procedentes del extremo N-terminal del dominio CH3 o del extremo C-terminal del dominio CH3. Por lo tanto pueden contener, por ejemplo, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, o 107 (hasta 106 para IgG1 e IgG3, hasta 107 para IgG2 e IgG4) aminoácidos del dominio CH3.

Los dominios parciales de Fc de inmunoglobulinas IgA1, IgA2 e IgD incluyen la totalidad o parte de la región bisagra, la totalidad o parte del dominio CH2, y la totalidad o parte del dominio CH3. Además, la totalidad o parte del dominio CH1 de la inmunoglobulina IgA1, IgA2 o IgD puede usarse como dominio parcial de Fc.

Los dominios parciales de IgA1, IgA2 e IgD que solo tienen una parte de la región bisagra, parte del dominio CH1, parte del dominio CH2 o parte del dominio CH3 se construyen a partir de monómeros de dominio parcial de Fc. Por lo tanto, la presente divulgación puede emplear monómeros de región bisagra procedentes del extremo N-terminal de la región bisagra o del extremo C-terminal de la región bisagra de IgA1, IgA2 o IgD. Por lo tanto pueden contener, por ejemplo, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, o 64 (hasta 26 para IgA1, hasta 13 para IgA2, hasta 64 para IgD) aminoácidos de la región bisagra.

La presente divulgación proporciona monómeros de dominio CH2 procedentes del extremo N-terminal del dominio CH2 o del extremo C-terminal de los dominios CH2 de IgA1, IgA2 o IgD. Por lo tanto pueden contener, por ejemplo, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, o 107 (hasta 102 para IgA1, hasta 96 para IgA2, hasta 107 para IgD) aminoácidos del dominio CH2.

La presente divulgación proporciona dominios CH3 procedentes del extremo N-terminal del dominio CH3 o del extremo C-terminal de los dominios CH3 de IgA1, IgA2 o IgD. Por lo tanto pueden contener, por ejemplo, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, o 131 (hasta 113 para IgA1, hasta 131 para IgA2, hasta 110 para IgD) aminoácidos del dominio CH3.

Los dominios parciales de Fc de las inmunoglobulinas IgM e IgE incluyen la totalidad o parte del dominio bisagra / CH2, la totalidad o parte del dominio CH3, y la totalidad o parte del dominio CH4 de estas moléculas. Además, puede usarse la totalidad o parte del dominio CH1 de las inmunoglobulinas IgM e IgE como dominios parciales de Fc.

Los dominios parciales de IgM e IgE que solo tienen parte del dominio bisagra / CH2, parte del dominio CH3, o parte del dominio CH4 se construyen a partir de monómeros de dominio parcial de Fc. Por lo tanto, la presente divulgación proporciona monómeros de dominio bisagra / CH2 procedentes del extremo N-terminal del dominio bisagra / CH2 o del extremo C-terminal del dominio bisagra / CH2 de IgM o IgE. Por lo tanto pueden contener, por ejemplo, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, o 112 (hasta 112 para IgM, hasta 109 para IgE) aminoácidos del dominio bisagra / CH2.

La presente divulgación proporciona monómeros de dominio CH3 de IgM e IgE procedentes del extremo N-terminal del dominio CH3 o del extremo C-terminal del dominio CH3 de IgM o IgE. Por lo tanto pueden contener, por ejemplo, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, o 106 (hasta 106 para IgM, hasta 105 para IgE) aminoácidos del dominio CH3.

La presente divulgación proporciona monómeros de dominio CH4 de IgM e IgE procedentes del extremo N-terminal

del dominio CH4 o del extremo C-terminal del dominio CH4 de IgM o IgE. Por lo tanto pueden contener, por ejemplo, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, o 130 (hasta 130 para IgM, hasta 105 para IgE) aminoácidos del dominio CH4. Sin embargo, las partes del dominio CH4 de IgM o IgE que incluyen el extremo C-terminal del dominio CH4 tendrán preferentemente más de 18 aminoácidos de longitud, y más preferentemente tendrán más de 30 aminoácidos de longitud, y lo más preferentemente tendrán más de 50 aminoácidos de longitud.

A partir de lo anterior, se apreciará que diferentes realizaciones incluyen estradómeros que contienen: (a) dominios Fc de longitud completa; (b) una mezcla de dominios Fc de longitud completa y dominios parciales de Fc; y (c) dominios parciales de Fc. En cada una de estas realizaciones, los estradómeros pueden comprender además dominios CH1. Tal como se ha discutido en el presente documento, en cada realización de los estradómeros de la presente invención, los estradómeros tienen la capacidad de unirse a dos o más receptores Fcy.

#### Realizaciones preferidas de estradómeros y monómeros de estradómero

Lo siguiente son ejemplos de monómeros de estradómero:

1. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1
2. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG3 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1
3. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG3 - bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1
4. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG3 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1
5. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG1 - CH2 de IgG3 - CH3 de IgG1
6. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG3
7. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG3 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG3 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1
8. bisagra de IgG3 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1
9. bisagra de IgG3 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG3 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1
10. bisagra de IgG3 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG3 - bisagra de IgG1 - CH3 de IgG3 - CH3 de IgG3
11. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG3 - CH2 de IgG3 - CH3 de IgG3 - bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1
12. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG3 - bisagra de IgG1 - CH2 de IgG3 - CH3 de IgG3 - bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1
13. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG3 - CH2 de IgG3 - CH3 de IgG3 - bisagra de IgG1 - CH2 de IgG2 - CH3 de IgG3
14. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG4 - CH2 de IgG4 - CH3 de IgG4 - bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1

En cada una de estas realizaciones, y en las otras realizaciones presentadas en el presente documento, se entenderá que los enlaces de dominio pueden usarse para unir los monómeros de dominio parcial de Fc que forman los monómeros de estradómero. En una realización, los monómeros de dominio parcial de Fc mostrados para cada uno de los monómeros de estradómero expuestos anteriormente son monómeros de dominio parcial de Fc humano.

La presente invención incluye estradómeros que comprenden dos o más de los monómeros de estradómero listados anteriormente. En realizaciones preferidas, la presente invención incluye estradómeros en serie que comprenden dos monómeros de estradómero idénticos proporcionados anteriormente.

Tal como se indica anteriormente, la funcionalidad del estradómero de unirse a más de un receptor Fcy también puede lograrse incorporando una cadena J como un resto de núcleo en un estradómero de núcleo, de manera similar a una molécula de IgM o IgA natural. En las inmunoglobulinas IgA e IgM nativas, la cadena de unión (J) es un péptido de 15 kDa que une las cadenas ligera y pesada de los anticuerpos IgA e IgM mediante puentes disulfuro con un "trozo de cola secretor" de 18 aminoácidos de las porciones Fc de los anticuerpos. Braathen, R., et al., The Carboxyl-terminal Domains of IgA and IgM Direct Isotype-specific Polymerization and Interaction with the Polymeric Immunoglobulin Receptor, *J. Bio. Chem.* 277(45), 42755-42762 (2002).

Dichos estradómeros de núcleo pueden estar compuestos de monómeros de estradómero que contienen un dominio Fc de CH4 de origen natural, preferentemente de inmunoglobulinas IgM, permitiendo de este modo la asociación de los estradómeros que comprenden dichos monómeros de estradómero a una cadena J (véanse las figuras 10A-10D). Lo siguiente son ejemplos de monómeros de estradómero que pueden autodimerizar para formar un estradómero y después asociarse con una cadena J para formar un estradómero de núcleo compuesto de una diversidad (por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, quince, dieciocho, veinte, o más) de estradómeros:

1. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - CH4 de IgM



(véanse las figuras 10C-10D)

2. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG3 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - CH4 de IgM

3. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG3 - bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - CH4 de IgM  
(véanse las figuras 10A-10B)

5 4. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG3 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - CH4 de IgM

5. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG1 - CH2 de IgG3 - CH3 de IgG1 - CH4 de IgM

6. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - CH4 de IgM

7. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG3 - CH4 de IgM

8. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG3 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG3 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - CH4 de IgM

10 9. bisagra de IgG3 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - CH4 de IgM

10. bisagra de IgG3 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG3 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - CH4 de IgM

11. bisagra de IgG3 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - bisagra de IgG1 - CH2 de IgG3 - CH3 de IgG3 - CH4 de IgM

15 En cada una de estas realizaciones, y en las otras realizaciones presentadas en el presente documento, se entenderá que los enlaces de dominio pueden usarse para unir los monómeros de dominio parcial de Fc que forman los monómeros de estradómero. En una realización, los monómeros de dominio parcial de Fc mostrados para cada uno de los monómeros de estradómero expuestos anteriormente son monómeros de dominio parcial de Fc humano.

20 Los estradómeros de núcleo basados en una cadena J también pueden estar compuestos de fragmentos Fc, fragmentos parciales de Fc y/o dominios Fc que tienen un dominio Fc de CH4. En este ejemplo, cada uno de los fragmentos Fc, fragmentos parciales de Fc y dominios Fc que tienen un dominio Fc de CH4 unido al resto de núcleo pueden contener solo un sitio de unión a receptor Fcγ pero en el contexto de dicho estradómero de núcleo, forma un biomimético biológicamente activo que contiene más de un sitio de unión a receptor Fcγ. Un experto en la materia  
25 reconocerá que los dominios parciales de Fc de diferentes inmunoglobulinas nativas pueden usarse para generar los fragmentos Fc funcionales, fragmentos parciales de Fc y dominios Fc de dicho estradómero de núcleo. Lo siguiente son ejemplos de monómeros de fragmentos Fc, fragmentos parciales de Fc y dominios Fc que pueden auto-dimerizar y después asociarse con una cadena J para formar un estradómero de núcleo:

30 1. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - CH4 de IgM

2. bisagra de IgG3 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - CH4 de IgM

3. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG3 - CH3 de IgG1 - CH4 de IgM

4. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG3 - CH4 de IgM

35 5. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG3 - CH3 de IgG3 - CH4 de IgM

6. bisagra de IgG3 - CH2 de IgG3 - CH3 de IgG1 - CH4 de IgM

7. bisagra de IgG3 - CH2 de IgG3 - CH3 de IgG1 - CH4 de IgM

8. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG3 - CH3 de IgG2 - CH4 de IgM

9. bisagra de IgG1 - bisagra de IgG3 - CH2 de IgG3 - CH3 de IgG2 - CH4 de IgM

10. bisagra de IgG1 - CH2 de IgG1 - CH3 de IgG1 - CH4 de IgE - CH4 de IgM

40 En cada una de estas realizaciones, y en las otras realizaciones presentadas en el presente documento, se entenderá que los enlaces de dominio pueden usarse para unir los monómeros de dominio parcial de Fc que forman los monómeros de estradómero. En una realización, los monómeros de dominio parcial de Fc mostrados para cada uno de los monómeros de estradómero expuestos anteriormente son monómeros de dominio parcial de Fc humano.

45 Queda claro a partir de los ejemplos anteriores que los monómeros de estradómero pueden ser de longitudes y composiciones disímiles para lograr el objetivo, cuando se asocian mediante autoagregación o enlaces entre monómeros de estradómero a un segundo monómero de estradómero y se asocian con una cadena J, produciendo un estradómero de núcleo que contiene más de un sitio de unión a Fcγ. Los ejemplos no son en modo alguno  
50 limitantes y un experto en la materia apreciará que son posibles otras múltiples configuraciones de estradómeros en los estradómeros.

#### Receptores Fcγ

55 Los términos "FcγR" y "receptor Fcγ", tal como se usan en el presente documento, incluyen a cada miembro de la familia de proteínas de receptores Fc gamma expresadas en las superficies de las células inmunitarias, tal como se describe en Nimmerjahn F y Ravetch JV. Fcγ receptors: old friends and new family members. Immunity. enero de 2006; 24(1):19-28, o como puedan definirse posteriormente. Se pretende que el término "FcγR" descrito en el presente documento abarque todos los miembros de las familias Fc gamma RI, RII, y RIII. El receptor Fcγ incluye  
60 receptores Fcγ de baja afinidad y de alta afinidad, incluyendo, pero sin limitación FcγRI (CD64); FcγRII (CD32) y sus isotipos y alotipos FcγRIIIa LR, FcγRIIIa HR, FcγRIIIb, y FcγRIIIc; FcγRIII (CD16) y sus isotipos FcγRIIIa y FcγRIIIb. Un experto en la materia reconocerá que la presente invención, que incluye compuestos que se unen a FcγR, se aplicará a futuros FcγR e isotipos y alotipos asociados que pueden no haber sido descubiertos todavía.

65 Se ha descrito que los IVIG se unen y saturan completamente al receptor de Fc neonatal ("FcRn") y que dicha inhibición competitiva de FcRn puede desempeñar un papel importante en la actividad biológica de las IVIG (por

ejemplo, Mechanisms of Intravenous Immunoglobulin Action in Immune Thrombocytopenic Purpura. F. Jin, J. Balthasar. Human Immunology, 2005, Volumen 66, 4ª edición, páginas 403-410). Ya que las inmunoglobulinas que se unen fuertemente a receptores Fcγ también se unen hasta cierto punto a FcRn, un experto en la materia reconocerá que los estradómeros que son capaces de unirse a más de un receptor Fcγ también se unirán a y pueden saturar completamente el FcRn.

La "actividad inmunológica de IgG nativa agregada" se refiere a las propiedades de IgG multimerizada que tiene impacto en el funcionamiento de un sistema inmunitario tras la exposición del sistema inmunitario a los agregados de IgG. Las propiedades específicas de IgG multimerizadas nativas incluyen unión específica alterada a FcγR, reticulación de FcγR en las superficies de células inmunitarias, o una funcionalidad efectora de IgG multimerizada, tal como citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC), fagocitosis (ADCP), o fijación de complemento (véase, por ejemplo, Nimmerjahn F, Ravetch JV. The anti-inflammatory activity of IgG: the intravenous IgG paradox. J Exp Med. 2007; 204:11-15; Augener W, Friedman B, Brittinger G. Are aggregates of IgG the effective part of high-dose immunoglobulin therapy in adult idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP)? Blut. 1985;50:249-252; Arase N, Arase H, Park SY, Ohno H, Ra C, Saito T. Association with FcRγ is essential for activation signal through NKR-P1 (CD161) in natural killer (NK) cells and NK1.1 + T cells. J Exp Med. 1997;186:1957-1963; Teeling JL, Jansen-Hendriks T, Kuijpers TW, et al. Therapeutic efficacy of intravenous immunoglobulin preparations depends on the immunoglobulin G dimers: studies in experimental immune thrombocytopenia. Blood. 2001;98:1095-1099; Anderson CF, Mosser DM. Cutting edge: biasing immune responses by directing antigen to macrophage Fcγ receptors. J Immunol. 2002;168:3697-3701; Jefferis R, Lund J. Interaction sites on human IgG-Fc for Fc[γ]R: current models. Immunology Letters. 2002;82:57; Banki Z, Kacani L, Mullauer B, et al. Cross-Linking of CD32 Induces Maturation of Human Monocyte-Derived Dendritic Cells Via NF-κB Signaling Pathway. J Immunol. 2003;170:3963-3970; Siragam V, Brinc D, Crow AR, Song S, Freedman J, Lazarus AH. Can antibodies with specificity for soluble antigens mimic the therapeutic effects of intravenous IgG in the treatment of autoimmune disease? J Clin Invest. 2005; 115:155-160). Estas propiedades se evalúan generalmente mediante comparación con las propiedades de IgG monovalentes.

"La reticulación o una funcionalidad efectora comparable o superior a la de un receptor Fcγ de una pluralidad de inmunoglobulinas de IgG agregadas de origen natural", tal como se usa en el presente documento, significa que el estradómero genera un valor de ensayo de aproximadamente el 70 % o más del valor logrado usando IVIG. En algunas realizaciones, el valor de ensayo se encuentra al menos dentro del intervalo de error estándar de los valores de ensayo logrados usando IVIG. En otras realizaciones, el valor de ensayo es un 110 % o mayor que el de IVIG. Los ensayos para reticulación de FcγR se conocen bien por los expertos en la materia (véase, por ejemplo, Falk Nimmerjahn y Jeffrey Ravetch. Fcγ receptors as regulators of immune responses. Nature Reviews Immunology, avance publicado on-line el 7 de diciembre de 2007).

"Actividades moduladoras inmunitarias", "respuesta inmunitaria moduladora", "modular el sistema inmunitario" y "modulación inmunitaria" significa alterar los sistemas inmunitarios cambiando las actividades, capacidades, y números relativos de una o más células inmunitarias, incluyendo la maduración de un tipo en su tipo celular u otros tipos celulares. Por ejemplo, la modulación inmunitaria de monocitos inmaduros puede dar lugar a mayores poblaciones de monocitos, células dendríticas, macrófagos u osteoclastos más maduros, todos los cuales proceden de monocitos inmaduros. Por ejemplo, los receptores de células inmunitarias pueden unirse por biomiméticos inmunológicamente activos y activar la señalización intracelular para inducir diversos cambios de células inmunitarias, citados por separado como "modulación inmunitaria activadora". El bloqueo de receptores de células inmunitarias para prevenir la activación del receptor también está abarcado en la "modulación inmunitaria" y puede citarse por separado como "modulación inmunitaria inhibidora".

La modulación de la maduración de un monocito se refiere a la diferenciación de un monocito en una CD madura, un macrófago, o un osteoclasto. La diferenciación puede modularse para acelerar la velocidad de maduración y/o para aumentar el número de monocitos que sufren diferenciación. Como alternativa, la diferenciación puede reducirse en términos de velocidad de diferenciación y/o de número de células que sufren diferenciación.

La expresión polipéptido o péptido "aislado", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un polipéptido o péptido que bien no tiene un homólogo de origen natural o que se ha separado o purificado de componentes que naturalmente lo acompañan, por ejemplo, en tejidos tales como el páncreas, hígado, bazo, ovario, testículos, músculo, tejido articular, tejido neural, tejido gastrointestinal, o tejido mamario o tejido tumoral (por ejemplo, tejido de cáncer de mama), o fluidos corporales, tales como sangre, suero, u orina. Normalmente, el péptido o polipéptido se considera "aislado" cuando está al menos un 70 %, en peso seco, libre de las proteínas y otras moléculas orgánicas de origen natural con las que se asocia normalmente. Preferentemente, una preparación de un polipéptido (o péptido) de la invención es al menos un 80 %, más preferentemente al menos un 90 %, y lo más preferentemente al menos un 99 %, en peso seco, el polipéptido (o péptido), respectivamente, de la invención. Ya que un polipéptido o péptido que se sintetiza químicamente está, por su naturaleza, separado de los componentes que le acompañan de manera natural, el polipéptido o péptido sintético está "aislado".

Puede obtenerse un péptido (o polipéptido) aislado, por ejemplo, mediante extracción a partir de una fuente natural (por ejemplo, de tejidos o fluidos corporales); mediante expresión de un ácido nucleico recombinante que codifica el

polipéptido o péptido; o mediante síntesis química. Un polipéptido o péptido que se produce en un sistema celular diferente de la fuente a partir de la cual se origina de manera natural está "aislado" porque estará necesariamente libre de los componentes que lo acompañan de manera natural. El grado de aislamiento o pureza puede medirse mediante cualquier método adecuado, por ejemplo, cromatografía en columna, electroforesis en gel de poliacrilamida, o análisis por HPLC.

#### Composiciones farmacéuticas

La administración de las composiciones biomiméticas inmunológicamente activas descritas en el presente documento será a través de cualquier ruta común, por vía oral, parenteral, o tópica. Las rutas ejemplares incluyen, pero sin limitación, oral, nasal, bucal, rectal, vaginal, oftálmica, subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, intraarterial, intratumoral, medular, intratecal, intraarticular, intraarterial, subaracnoidea, sublingual, mucosal oral, bronquial, linfática, intrauterina, subcutánea, intratumoral, integrada en un dispositivo implantable, intradural, intracortical, o dérmica. Dichas composiciones se administrarán normalmente en forma de composiciones farmacéuticamente aceptables tal como se describe en el presente documento. En una realización preferida, el biomimético aislado inmunológicamente activo se administra por vía intravenosa.

La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable", tal como se usa en el presente documento, incluye cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción y similares. El uso de dichos medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. Excepto en el caso de que cualquier agente o medio convencional sea incompatible con los vectores o células, se contempla su uso en composiciones terapéuticas. Pueden incorporarse también principios activos suplementarios en las composiciones.

Las composiciones de biomiméticos inmunológicamente activos pueden formularse en una forma neutra o de sal. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de adición de ácido (formadas con los grupos amino libre de la proteína) y que se forman con ácidos inorgánicos, tales como, por ejemplo, ácido clorhídrico o fosfórico, o ácidos orgánicos tales como acético, oxálico, tartárico, mandélico, y similares. Las sales formadas con los grupos carboxilo libres también pueden derivarse de bases inorgánicas, tales como hidróxidos de sodio, potasio, amonio, calcio o férricos, y bases orgánicas, tales como isopropilamina, trimetilamina, histidina, procaína y similares.

Las soluciones inyectables estériles se preparan incorporando el biomimético inmunológicamente activo en la cantidad necesaria en el disolvente adecuado con varios de los otros ingredientes indicados anteriormente, según sea necesario, seguido de esterilización por filtración. En general, las dispersiones se preparan incorporando los varios principios activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y los demás ingredientes necesarios de entre los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos preferidos de preparación son las técnicas secado al vacío y criodesecación que producen un polvo del principio activo más cualquier otro ingrediente adicional deseado a partir de una solución previamente esterilizada por filtración del mismo.

Además, en una realización se proporciona una composición de biomimético inmunológicamente activo adecuada para administración oral en un vehículo farmacéuticamente aceptable con o sin un diluyente inerte. El vehículo debe ser asimilable o comestible e incluye líquido, semisólido, es decir, pastas, o vehículos sólidos. Excepto hasta el punto en que cualquier medio, agente, diluyente o vehículo convencional sea perjudicial para el receptor o para la eficacia terapéutica de una preparación de biomimético inmunológicamente activo contenido en la misma, es adecuado su uso en una composición de biomimético inmunológicamente activo administrable por vía oral para su uso en la puesta en práctica de los métodos. Los ejemplos de vehículos o diluyentes incluyen grasas, aceites, agua, soluciones salinas, lípidos, liposomas, resinas, aglutinantes, cargas y similares, o combinaciones de las mismas. La expresión "administración oral", tal como se usa en el presente documento incluye administración oral, bucal, entérica o intragástrica.

En una realización, la composición se combina con el vehículo de cualquier modo conveniente y práctico, es decir, mediante solución, suspensión, emulsionado, premezcla, encapsulación, microencapsulación, absorción y similares. Dichos procedimientos son rutinarios para los expertos en la materia.

En una realización específica, se combina o mezcla exhaustivamente la composición de biomimético inmunológicamente activo en forma de polvo con un vehículo semisólido o sólido. La mezcla puede llevarse a cabo de cualquier modo convencional, tal como trituración. También pueden añadirse agentes estabilizantes en el proceso de mezclado para proteger a la composición de la pérdida de actividad terapéutica mediante, por ejemplo, desnaturalización en el estómago. Los ejemplos de estabilizantes para su uso en la composición administrable por vía oral incluyen tampones, antagonistas de la secreción de ácidos estomacales, aminoácidos, tales como glicina y lisina, carbohidratos, tales como dextrosa, manosa, galactosa, fructosa, lactosa, sacarosa, maltosa, sorbitol, manitol, etc., inhibidores de enzimas proteolíticas, y similares. Más preferentemente, para una composición administrada por vía oral, el estabilizador también puede incluir antagonistas para la secreción de ácidos estomacales.

Además, la composición de biomimético inmunológicamente activa para administración oral que se combina con un

vehículo semisólido o sólido puede formularse además en cápsulas de gelatina de cobertura dura o blanda, comprimidos, o píldoras. Más preferentemente, cápsulas de gelatina, comprimidos, o píldoras recubren entéricamente. Los recubrimientos entéricos evitan la desnaturalización de la composición en el estómago o en el intestino superior, donde el pH es ácido. Véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos n.º 5.629.001. Tras

5 alcanzar al intestino delgado, el pH básico en el mismo disuelve el recubrimiento y permite que se libere la composición para que interactúe con las células intestinales, por ejemplo, células M de la placa de Peyer.

En otra realización, la composición de biomimético inmunológicamente activo en forma de polvo se combina o mezcla exhaustivamente con materiales que crean una nanopartícula que encapsula al biomimético inmunológicamente activo o a la que se une el biomimético inmunológicamente activo. Cada nanopartícula tendrá un tamaño menor o igual a los 100 micrómetros. La nanopartícula puede tener propiedades mucoadhesivas que permiten la absorción gastrointestinal de un biomimético inmunológicamente activo que de otro modo no estaría biodisponible por vía oral.

10

En otra realización, se combina una composición en polvo con un vehículo líquido, tal como, por ejemplo, agua o solución salina, con o sin un agente estabilizante.

15

Una formulación de biomimético inmunológicamente activo específica que puede usarse es una solución de proteína biomimética inmunológicamente activa en un tampón basado en fosfato hipotónico que está libre de potasio, en donde la composición del tampón es la siguiente: monohidrato monobásico de fosfato de sodio 6 mM, heptahidrato dibásico de fosfato de sodio 9 mM, cloruro de sodio 50 mM, pH 7,0 +/- 0,1. La concentración de proteína biomimética inmunológicamente activa en un tampón hipotónico puede variar desde 10 microgramos/ml a 100 miligramos/ml. Esta formulación puede administrarse a través de cualquier ruta de administración, por ejemplo, pero sin limitación, administración intravenosa.

20

Además, una composición de biomimético inmunológicamente activo para administración tópica que se combina con un vehículo semisólido puede formularse adicionalmente en una pomada en crema o gel. Un vehículo preferido para la formación de una pomada en gel es un polímero de gel. Los polímeros preferidos que se usan para fabricar una composición de gel incluyen, pero sin limitación, carbopol, carboximetilcelulosa, y polímeros pluronic. Específicamente, se combina una composición de multímero de Fc en polvo con un gel acuoso que contiene un agente de polimerización, tal como Carbopol 980 a fuerzas de entre el 0,5 % y el 5 % en peso/volumen para la aplicación a la piel para el tratamiento de enfermedades sobre o bajo la piel. La expresión "administración tópica", tal como se usa en el presente documento, incluye aplicación a una superficie dérmica, epidérmica, subcutánea o mucosal.

25

Tras la formulación, las soluciones se administran de un modo compatible con la formulación de dosificación y en una cantidad tal que sea terapéuticamente eficaz para dar como resultado una mejora o alivio de los síntomas. Las formulaciones se administran fácilmente en diversas formas de dosificación, tales como soluciones ingeribles, cápsulas de liberación de fármaco y similares. Puede haber cierta variación en la dosificación dependiendo de la afección del sujeto que se esté tratando. La persona responsable de la administración puede, en cualquier caso, determinar la dosis adecuada para el sujeto individual. Además, para administración a seres humanos, las preparaciones cumplen estándares de esterilidad, seguridad general y pureza, tal como requiere la Agencia de Estándares biológicos de la FDA.

40

La ruta de administración variará, naturalmente, dependiendo de la localización y naturaleza de la enfermedad que se esté tratando, y pueden incluir, por ejemplo, administración intradérmica, transdérmica, parenteral, intravenosa, intramuscular, intranasales, subcutánea, percutánea, intratraqueal, intraperitoneal, intratumoral, perfusión, lavado, inyección directa, y oral.

45

La expresión "administración parenteral", tal como se usa en el presente documento, incluye cualquier forma de administración en la que el compuesto se absorba en el sujeto sin implicar la absorción a través de los intestinos. Las administraciones parenterales ejemplares que se usan en la presente invención incluyen, pero sin limitación, administración intramuscular, intravenosa, intraperitoneal, intratumoral, intraocular, o intraarticular.

50

A continuación hay ejemplos específicos de diversas categorías de formulación farmacéutica y de rutas de administración preferidas, tal como se ha indicado, para enfermedades ejemplares específicas:

55

Comprimido soluble bucal o sublingual: angina, poliarteritis nodosa.

Intravenosa: púrpura trombocitopénica idiopática, miositis por cuerpos de inclusión, polineuropatía desmielinizante de IgM paraproteinémica, fascitis necrotizante, pénfigo, gangrena, dermatomiositis, granuloma, linfoma, septicemia, anemia aplásica, fallo orgánico multisistema, mieloma múltiple o gammopatía monoclonal de significado desconocido, polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, miopatías inflamatorias, púrpura trombocitopénica trombótica, miositis, anemia, neoplasia, anemia hemolítica, encefalitis, mielitis, mielopatía asociada especialmente con virus 1 linfotrófico de células T humanas, leucemia, esclerosis múltiple y neuritis óptica, asma, necrólisis epidérmica, síndrome miasténico de Lambert-Eaton, miastenia grave, neuropatía, uveítis, síndrome de

60

65

Guillain-Barre, enfermedad de injerto contra hospedador, síndrome del hombre rígido, degeneración cerebelar paraneoplásica con anticuerpos anti-Yo, encefalomielitis paraneoplásica y neuropatía sensorial con anticuerpos anti-Hu, vasculitis sistémica, lupus eritematoso sistémico, neuropatía diabética autoinmunitaria, neuropatía disautonómica idiopática aguda, síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada, neuropatía motora multifocal, síndrome de la neurona motora inferior asociado con anti-/GM1, desmielinización, glomerulonefritis membranoproliferativa, cardiomiopatía, enfermedad de Kawasaki, artritis reumatoide, y síndrome de Evan, IM-ITP, CIDP, MS, dermatomiositis, miastenia grave, distrofia muscular. La expresión "administración intravenosa", tal como se usa en el presente documento incluye técnicas para administrar un compuesto o composición de la presente invención a la circulación sistémica a través de una inyección o infusión intravenosa.

10 Gel dérmico, loción, crema o parche: vitiligo, Herpes zoster, acné, quelitis.

Supositorio, gel o infusión rectal: colitis ulcerosa, inflamación de hemorroides.

15 Oral en forma de pildora, trocisco, encapsulado o con recubrimiento entérico: enfermedad de Crohn, esprúe celíaco, síndrome del intestino irritable, enfermedad inflamatoria del hígado, esófago de Barrett.

Intracortical: epilepsia, Alzheimer, esclerosis múltiple, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington.

20 Infusión o implante intra-abdominal: endometriosis.

Gel o supositorio intravaginal: vaginitis bacteriana, por tricomonas o fúngica.

Dispositivos médicos: recubierto sobre un stent de la arteria coronaria, articulaciones protésicas.

25 Los biomiméticos inmunológicamente activos descritos en el presente documento pueden administrarse en dosificaciones desde aproximadamente 0,01 mg por kg a aproximadamente 300 mg por kg de peso corporal, y especialmente desde 0,01 mg por kg de peso corporal a aproximadamente 300 mg por kg de peso corporal, y puede administrarse al menos una vez al día, semanalmente, bisemanalmente o mensualmente. Puede usarse un régimen de dosificación bifásico en el que la primera fase de dosificación comprende de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 10 % de la segunda fase de dosificación.

#### Aplicaciones terapéuticas de estradómeros y estradocuerpos

35 Basándose en diseño racional y en validaciones *in vitro* e *in vivo*, los biomiméticos inmunológicamente activo servirán como importantes agentes biofarmacéuticos para tratar enfermedades autoinmunitarias y para modular la función inmunitaria en otros diversos contextos, tales como bioinmunoterapia para el cáncer y enfermedades inflamatorias. Las afecciones médicas adecuadas para su tratamiento con los biomiméticos inmunológicamente activos descritos en el presente documento incluyen aquellas que se tratan actualmente de manera rutinaria con hVIG o en las que se ha observado que las hVIG son clínicamente útiles, tales como citopenias autoinmunitarias, síndrome de Guillain-Barre, miastenia grave, enfermedades autoinmunitarias anti-Factor VIII, dermatomiositis, vasculitis, y uveítis (véase, F. G. van der Meche, P. I. Schmitz, N. Engl. J. Med. 326, 1123 (1992); P. Gajdos et al., Lancet i, 406 (1984); Y. Sultan, M. D. Kazatchkine, P. Maisonneuve, U. E. Nydegger, Lancet ii, 765 (1984); M. C. Dalakas et al., N. Engl. J. Med. 329, 1993 (1993); D. R. Jayne, M. J. Davies, C. J. Fox, C. M. Black, C. M. Lockwood, Lancet 337, 1137 (1991); P. LeHoang, N. Cassoux, F. George, N. Kullmann, M. D. Kazatchkine, Ocul. Immunol. Inflamm. 8, 49 (2000)) y aquellos cánceres o patologías inflamatorias en las que puede usarse un anticuerpo monoclonal o ya está actualmente en uso clínico. Las afecciones incluidas entre aquellas que pueden tratarse de manera eficaz por los compuestos que son el objeto de la presente invención incluyen una enfermedad inflamatoria con un desequilibrio en las redes de citocinas, un trastorno autoinmunitario mediado por autoanticuerpos patogénicos o células T autoagresivas, o una fase aguda o crónica de una enfermedad o proceso autoinmunitario, inflamatorio o infeccioso crónico recidivante.

Además, otras afecciones médicas que tienen un componente inflamatorio se beneficiarán del tratamiento con biomiméticos inmunológicamente activos, tales como esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, infarto de miocardio, ictus, hepatitis B, hepatitis C, inflamación asociada con el virus de la inmunodeficiencia humana, adrenoleucodistrofia, y trastornos epilépticos, especialmente aquellos que se cree que están asociados con encefalitis postviral, incluyendo síndrome de Rasmussen, síndrome de West, y síndrome de Lennox-Gastaut.

60 La estrategia de terapia general que usa los biomiméticos inmunológicamente activos aislados descrita en el presente documento es administrara a un sujeto que tiene una enfermedad o afección, una cantidad terapéuticamente eficaz del biomimético inmunológicamente activo aislado para efectuar un tratamiento. En algunas realizaciones, las enfermedades o afecciones pueden categorizarse ampliamente como enfermedades inflamatorias con un desequilibrio en las redes de citocinas, un trastorno autoinmunitario mediado por autoanticuerpos patogénicos o células T autoagresivas, o una fase aguda o crónica de una enfermedad o proceso crónico recidivante.

El término "tratar" y "tratamiento", tal como se usa en el presente documento, se refiere a administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un biomimético, de tal forma que el sujeto tiene una mejora en una enfermedad o afección, o un síntoma de la enfermedad o afección. La mejora es cualquier mejora o alivio de la enfermedad o afección, o síntoma de la enfermedad o afección. La mejora es una mejora observable o medible, o puede ser una mejora en la sensación de bienestar general del sujeto. Por lo tanto, un experto en la materia se da cuenta de que un tratamiento puede mejorar la patología, pero puede no ser una cura completa para la enfermedad. Específicamente, las mejoras en los sujetos pueden incluir uno o más de: inflamación reducida; marcadores inflamatorios de laboratorio reducidos, tales como proteína C reactiva; autoinmunidad reducida, tal como se evidencia por uno o más de: mejoras en marcadores autoinmunitarios, tales como autoanticuerpos o en el recuento de plaquetas, el recuento de glóbulos blancos, o el recuento de glóbulos rojos, erupción o púrpura reducida, reducción de la debilidad, entumecimiento, o estremecimiento, niveles de glucosa aumentados en pacientes con hiperglucemia, dolor articular, inflamación, hinchazón, o degradación reducidas, reducción en la frecuencia y volumen de calambres y diarrea, angina reducida, inflamación de tejido reducida, o reducción en la frecuencia de crisis; reducción en la carga de tumores del cáncer, tiempo hasta la progresión tumoral aumentado, dolor del cáncer reducido, supervivencia aumentada o mejoras en la calidad de vida; o retraso en la progresión o mejora de la osteoporosis.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad que da como resultado una mejora o remedio de los síntomas de la enfermedad o afección.

Tal como se usa en el presente documento, la "profilaxis" puede significar la prevención completa de los síntomas de una enfermedad, un retraso en la aparición de los síntomas de una enfermedad, o una reducción en la gravedad de los síntomas de una enfermedad desarrollados posteriormente.

El término "sujeto", tal como se usa en el presente documento, se entiende como cualquier sujeto mamífero al que se administran los biomiméticos de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento. En una realización específica, los métodos de la presente divulgación se emplean para tratar a un sujeto humano. Los métodos de la presente divulgación también pueden emplearse para tratar a primates no humanos (por ejemplo, monos, babuinos, y chimpancés), ratones, ratas, bovinos, caballos, gatos, perros, cerdos, conejos, cabras, ciervos, ovejas, hurones, gerbos, cobayas, hámsteres, murciélagos, aves (por ejemplo, pollos, pavos, y patos), peces y reptiles para producir moléculas de estradómero específicas de especie o quiméricas.

En particular, los biomiméticos pueden usarse para tratar afecciones, incluyendo, pero sin limitación insuficiencia cardíaca congestiva (CHF), vasculitis, rosácea, acné, eccema, miocarditis y otras afecciones del miocardio, lupus eritematoso sistémico, diabetes, espondilopatías, fibroblastos sinoviales, y estroma de la médula ósea; pérdida ósea; enfermedad de Paget, osteoclastoma; mieloma múltiple; cáncer de mama; osteopenia por desuso; malnutrición, enfermedad periodontal, enfermedad de Gaucher, histiocitosis de células de Langerhans, lesión de la médula espinal, artritis séptica aguda, osteomalacia, síndrome de Cushing, displasia fibrosa monoostótica, displasia fibrosa polioestótica, reconstrucción periodontal, y fracturas óseas; sarcoidosis; cánceres óseos osteolíticos, cáncer de pulmón, cáncer de riñón y cáncer rectal; metástasis ósea, gestión del dolor óseo, e hipercalcemia maligna humoral, espondilitis anquilosante y otras espondiloartropatías; rechazo de trasplantes, infecciones víricas, neoplasias hematológicas y afecciones similares a neoplasias, por ejemplo, linfoma de Hodgkin; linfomas no de Hodgkin (linfoma de Burkitt, linfoma linfocítico pequeño/leucemia linfocítica crónica, mycosis fungoides, linfoma de células del manto, linfoma folicular, linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma de la zona marginal, tricoleucemia y leucemia linfoplasmacítica), tumores de células precursoras de linfocitos, incluyendo leucemia/linfoma linfoblástico agudo de células B, y leucemia/linfoma linfoblástico agudo de células T, timoma, tumores de las células T y NK maduras, incluyendo leucemias de células T periféricas, leucemia de células T adultas/linfomas de células T y leucemia linfocítica granular grande, histiocitosis de células de Langerhans, neoplasias mieloides, tales como leucemias mielógenas, incluyendo AML con maduración, AML sin diferenciación, leucemia promielótica aguda, leucemia mielocítica aguda, y leucemias monocíticas agudas, síndromes mielodisplásicos, y trastornos mieloproliferativos crónicos, incluyendo leucemia mielógena crónica, tumores del sistema nervioso central, por ejemplo, tumores cerebrales (glioma, neuroblastoma, astrocitoma, meduloblastoma, ependimoma, y retinoblastoma), tumores sólidos (cáncer nasofaríngeo, carcinoma de células basales, cáncer de páncreas, cáncer del conducto biliar, sarcoma de Kaposi, cáncer de testículo, cánceres uterinos, vaginales o cervicales, cáncer de ovario, cáncer de hígado primario o cáncer de endometrio, tumores del sistema vascular (angiosarcoma y hemangiopericitoma)) u otro cáncer.

"Cáncer" en el presente documento se refiere a o describe la afección fisiológica en mamíferos que está caracterizada normalmente por crecimiento celular no regulado. Los ejemplos de cáncer incluyen, pero sin limitación, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma (incluyendo liposarcoma, sarcoma osteogénico, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, leiomiomasarcoma, rhabdomiomasarcoma, fibrosarcoma, mixosarcoma, condrosarcoma), tumores neuroendocrinos, mesotelioma, cordoma, sinovioma, schwannoma, meningioma, adenocarcinoma, melanoma, y leucemia o neoplasias linfoides malignas. Los ejemplos de cánceres más particulares incluyen cáncer de células escamosas (por ejemplo, cáncer de células escamosas epiteliales), cáncer de pulmón, incluyendo cáncer microcítico de pulmón, cáncer de pulmón no microcítico, adenocarcinoma del pulmón y carcinoma escamoso de pulmón, carcinoma microcítico de pulmón, cáncer del peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico o de estómago incluyendo cáncer gastrointestinal, cáncer de páncreas, glioblastoma, cáncer de cuello de útero, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer

de colon, cáncer rectal, cáncer colorrectal, carcinoma de endometrio o de útero, carcinoma de las glándulas salivares, cáncer de riñón o renal, cáncer de próstata, cáncer vulvar, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, carcinoma anal, carcinoma del pene, cáncer de testículo, cáncer de esófago, tumores del conducto biliar, tumor de Ewing, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de las glándulas sudoríparas, carcinoma de las glándulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de células renales, hepatoma, carcinoma del conducto biliar, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilms, tumor testicular, carcinoma de pulmón, carcinoma de vejiga, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pincaloma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, melanoma, neuroblastoma, retinoblastoma, leucemia, linfoma, mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenström, enfermedad mielodisplásica, enfermedad de la cadena pesada, tumores neuroendocrinos, schwannoma, y otros carcinomas, así como cáncer de cabeza y cuello.

Los biomiméticos pueden usarse para tratar enfermedades autoinmunitarias. La expresión "enfermedad autoinmunitaria", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una diversidad de un grupo de más de 80 enfermedades y afecciones. En todas estas enfermedades y afecciones, el problema subyacente es que el sistema inmunitario del organismo ataca al propio cuerpo. Las enfermedades autoinmunitarias afectan a todos los sistemas corporales principales, incluyendo al tejido conectivo, nervios, músculos, al sistema endocrino, la piel, la sangre, y a los sistemas respiratorio y gastrointestinal. Las enfermedades autoinmunitarias incluyen, por ejemplo, lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, miastenia grave, y diabetes de tipo 1.

La enfermedad o afección tratable usando las composiciones y métodos puede ser un proceso hematológico, incluyendo, pero sin limitación púrpura trombocitopénica idiopática, trombocitopenia aloinmunitaria/autoinmunitaria, trombocitopenia inmunitaria adquirida, neutropenia autoinmunitaria, anemia hemolítica autoinmunitaria, aplasia de glóbulos rojos asociada al parvovirus B19, autoinmunidad anti-factor VIII adquirida, enfermedad de von Willebrand adquirida, mieloma múltiple o gammopatía monoclonal de significado desconocido, septicemia, anemia aplásica, aplasia pura de glóbulos rojos, anemia de Diamond-Blackfan, enfermedad hemolítica del neonato, neutropenia mediada por inmunidad, refractariedad a la transfusión de plaquetas, púrpura post-transfusión neonatal, síndrome hemolítico urémico, vasculitis sistémica, púrpura trombocitopénica trombótica, o síndrome de Evan.

La enfermedad o afección también puede ser un proceso neuroinmunológico, incluyendo, pero sin limitación, síndrome de Guillain-Barré, polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, polineuropatía desmielinizante de IgM paraproteínica, síndrome miasténico de Lambert-Eaton, miastenia grave, neuropatía motora multifocal, síndrome de la neurona motora inferior asociado con anti-/GM1, desmielinización, esclerosis múltiple y neuritis óptica, síndrome del hombre rígido, degeneración cerebelar paraneoplásica con anticuerpos anti-Yo, encefalomiелitis paraneoplásica, neuropatía sensorial con anticuerpos anti-Hu, epilepsia, encefalitis, mielitis, mielopatía asociada especialmente con virus 1 linfotrófico de células T humanas, neuropatía diabética autoinmunitaria, o neuropatía disautonómica idiopática aguda.

La enfermedad o afección también puede ser un proceso patológico reumático, incluyendo, pero sin limitación, enfermedad de Kawasaki, artritis reumatoide, síndrome de Felty, vasculitis positiva a ANCA, polimiositis espontánea, dermatomiositis, síndromes antifosfolípido, abortos espontáneos recurrentes, lupus eritematoso sistémico, artritis idiopática juvenil, síndrome de Raynaud, síndrome de CREST, o uveítis.

La enfermedad o afección también puede ser un proceso patológico dermatoinmunológico, incluyendo, pero sin limitación, necrólisis epidérmica tóxica, gangrena, granuloma, enfermedades de la piel con ampollas autoinmunitarias, incluyendo pénfigo vulgar, penfigoide bulloso, y pénfigo foliáceo, vitíligo, síndrome de choque tóxico estreptocócico, escleroderma, esclerosis sistémica, incluyendo esclerosis sistémica cutánea difusa y limitada, o dermatitis atópica (especialmente dependiente de esteroides).

La enfermedad o afección también puede ser un proceso patológico inmunológico musculoesquelético, incluyendo, pero sin limitación, miositis por cuerpos de inclusión, fascitis necrotizante, miopatías inflamatorias, miositis, miopatía anti-decorin (antígeno BJ), miopatía necrótica paraneoplásica, miopatía vacuolada ligada a X, polimiositis inducida por penacilamina, aterosclerosis, cardiopatía isquémica, o cardiomiopatía.

La enfermedad o afección también puede ser un proceso patológico inmunológico gastrointestinal, incluyendo, pero sin limitación, anemia perniciosa, hepatitis crónica activa autoinmunitaria, cirrosis biliar primaria, enfermedad celíaca, dermatitis herpetiforme, cirrosis criptogénica, artritis reactiva, enfermedad de Crohn, enfermedad de Whipple, colitis ulcerosa, o colangitis esclerosante.

La enfermedad o afección también puede ser enfermedad de injerto contra hospedador, rechazo de injerto mediado por anticuerpos, rechazo después de trasplante de médula ósea, enfermedad inflamatoria post-infecciosa, linfoma, leucemia, neoplasia, asma, diabetes mellitus de tipo 1 con anticuerpos anti-células beta, síndrome de Sjögren, enfermedad del tejido conectivo mixto, enfermedad de Addison, síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada, glomerulonefritis membranoproliferativa, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves, tiroiditis de Hashimoto, granulomatosis de Wegener, micropoliarteritis, síndrome de Churg-Strauss, poliarteritis nodosa o fallo orgánico

multisistema.

En otra realización, los estradómeros descritos en el presente documento podrían utilizarse en un sistema de cebado en el que se extrae sangre de un paciente y se pone en contacto de manera transitoria con el estradómero (o los estradómeros) durante un periodo de tiempo desde aproximadamente media hora a aproximadamente tres horas antes de volver a introducirse en el paciente. En esta forma de terapia celular, se exponen las propias células efectoras del paciente al estradómero que está fijado en una matriz *ex vivo* para modular las células efectoras mediante la exposición de las células efectoras al estradómero. La sangre, que incluye las células efectoras moduladas, se vuelve a infundir al paciente. Dicho sistema de cebado podría tener numerosas aplicaciones clínicas y terapéuticas.

#### Aplicaciones terapéuticas de estradocuerpos en oncología

Además de tener utilidad clínica para tratar trastornos inmunológicos, los estradocuerpos tienen uso terapéutico en el tratamiento del cáncer y de enfermedades inflamatorias. Los estradocuerpos pueden usarse esencialmente siguiendo protocolos conocidos para cualquier anticuerpo terapéutico correspondiente. Los estradocuerpos se diseñarán generalmente para potenciar el efecto demostrado en una célula efectora por un anticuerpo monoclonal, tal como ADCC en el cáncer o maduración de monocitos y DC disminuida con liberación reducida de citocinas en enfermedades autoinmunitarias, y de este modo potenciar la respuesta inmunitaria contra el cáncer en relación a la que podría tener lugar usando, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal como fuente para la porción Fab del estradocuerpo.

Los dominios Fab de anticuerpo monoclonal ejemplares a partir de los cuales puede diseñarse un estradocuerpo incluyen cetuximab, rituximab, muromonab-CD3, abciximab, daclizumab, basiliximab, palivizumab, infliximab, trastuzumab, ozogamicina de gemtuzumab, alemtuzumab, ibritumomab tiuxetan, adalimumab, omalizumab, tositumomab, I-131 tositumomab, efalizumab, bevacizumab, panitumumab, pertuzumab, natalizumab, etanercept, IGN101, volociximab, Acm anti-CD80, Acm anti-CD23, CAT-3888, CDP-791, eraptuzumab, MDX-010, MDX-060, MDX-070, matuzumab, CP-675.206, CAL, SGN-30, zanolimumab, adecatumumab, oregovomab, nimotuzumab, ABT-874, denosumab, AM 108, AMG 714, fontolizumab, daclizumab, golimumab, CNTO 1275, ocrelizumab, HuMax-CD20, belimumab, epratuzumab, MLN1202, visilizumab, tocilizumab, ocerlizumab, certolizumab pegol, eculizumab, pexelizumab, abciximab, ranibizumab, mepolizumab, y TNX-355, MYO-029.

Los estradómeros y estradocuerpos, citados de manera colectiva como biomiméticos inmunológicamente activos, divulgados en el presente documento tienen una serie de aplicaciones y usos adicionales.

#### Alteración de respuestas inmunitarias

Los biomiméticos inmunológicamente activos divulgados en el presente documento pueden aplicarse fácilmente para alterar respuestas del sistema inmunitario en diversos contextos para efectuar cambios específicos en los perfiles de respuesta inmunitaria. La alteración o modulación de una respuesta inmunitaria en un sujeto se refiere a aumentar, reducir o modificar la proporción o los componentes de una respuesta inmunitaria. Por ejemplo, pueden aumentarse o reducirse la producción de citocinas o los niveles de secreción según se desee usando como diana la combinación adecuada de FcR con un estradómero diseñado para interactuar con esos receptores. La producción de anticuerpo también puede aumentarse o reducirse; puede cambiarse la proporción de dos o más citocinas o receptores de células inmunitarias; o puede provocarse la producción de tipos adicionales de citocinas o anticuerpos. La respuesta inmunitaria también puede ser una función efectora de una célula inmunitaria que expresa un FcγR, incluyendo potencial fagocítico aumentado o disminuido de células derivadas de macrófagos monocíticos, función de osteoclastos aumentada o disminuida, presentación de antígenos aumentada o disminuida por células presentadoras de antígenos (por ejemplo, DC), función de células NK aumentada o disminuida, función de células B aumentada o disminuida, en comparación con una respuesta inmunitaria que no está modulada por un biomimético inmunológicamente activo divulgado en el presente documento.

En una realización preferida, la alteración de la respuesta inmunitaria de un sujeto con cáncer o con una enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria comprende la etapa de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un biomimético inmunológicamente activo descrito en el presente documento a un sujeto, en el que la cantidad terapéuticamente eficaz del biomimético inmunológicamente activo altera la respuesta inmunitaria en el sujeto. De manera ideal, la presente invención trata la enfermedad o afección en el sujeto. La respuesta inmunitaria alterada puede ser una respuesta aumentada o disminuida y puede implicar niveles de citocinas alterados, incluyendo los niveles de cualquiera de IL-6, IL-10, IL-8, IL-23, IL-7, IL-4, IL-12, IL-13, IL-17, TNF-alfa y IFN-alfa. Sin embargo, la invención no está limitada a cualquier mecanismo de acción particular de los biomiméticos descritos. La respuesta inmunitaria alterada puede ser un nivel alterado de autoanticuerpos en el sujeto. La respuesta inmunitaria puede ser un nivel alterado de células T autoagresivas en el sujeto.

Por ejemplo, la reducción de la cantidad de producción de TNF-alfa en enfermedades autoinmunitarias puede tener efectos terapéuticos. Una estrategia práctica de esto es la terapia de anticuerpos anti-TNF-alfa (por ejemplo, REMICADE®) que está clínicamente probada para tratar la psoriasis en placas, artritis reumatoide, artritis psoriásica,



enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa y espondilitis anquilosante. Estas enfermedades autoinmunitarias tienen distintas etiologías, pero comparten componentes inmunológicos clave de los procesos patológicos relacionados con la inflamación y la actividad de células inmunitarias. Un estradómero diseñado para reducir la producción de TNF-alfa será igualmente eficaz en estas y muchas otras enfermedades autoinmunitarias. El perfil de respuesta inmunitaria alterada también puede ser la modulación directa o indirecta para efectuar una reducción en la producción de anticuerpo, por ejemplo, autoanticuerpos que se dirigen a los tejidos propios de un sujeto, o niveles alterados de células T autoagresivas en el sujeto. Por ejemplo, la esclerosis múltiple es un trastorno autoinmunitario que implica células T autorreactivas que puede tratarse con terapia de interferón beta. Véase, por ejemplo, Zafranskaya M, et al., Interferon-beta therapy reduces CD4+ and CD8+ T-cell reactivity in multiple sclerosis, *Immunology*, mayo de 2007;121(1):29-39-Epub 18 de diciembre de 2006. Un diseño de estradómero para reducir los niveles de células T autorreactivas será igualmente eficaz en la esclerosis múltiple y muchas otras enfermedades autoinmunitarias que impliquen células T autorreactivas.

#### Aplicaciones en ensayos inmunológicos

Los biomiméticos inmunológicamente activos divulgados en el presente documento pueden usarse para llevar a cabo ensayos inmunológicos para probar las funciones de células inmunitarias para para cuya modulación se diseñaron los biomiméticos inmunológicamente activos.

La señalización a través de rutas de receptor Fcγ de baja afinidad requiere de la agregación y reticulación del receptor en la superficie celular. Se supone que estos parámetros de agregación y reticulación se cumplen mediante la unión de Fab a una diana específica del antígeno con la consiguiente interacción entre la región Fc y los FcγR de baja afinidad en la superficie de las células respondedoras. En este contexto, los anticuerpos tienen el potencial de evocar respuestas celulares a través de dos rutas diferentes: 1. Interacción/bloqueo de Fab con/de una diana específica de epítipo y 2. Interacciones de Fc con FcR. A pesar de este conocimiento, los controles actuales para la mayoría de los estudios terapéuticos que usan anticuerpos monoclonales empleados *in vivo* no abordan de manera adecuada el potencial de las interacciones Fc:receptor Fcγ como contribuyentes a los efectos funcionales observados. Actualmente se emplean múltiples estrategias para eliminar interacciones Fc:FcR como variables de confusión. Por ejemplo, algunos estudios emplean Scv (regiones variables de cadena individual) o fragmentos Fab, que retienen la especificidad de epítipo pero que carecen de la región Fc. Estas estrategias están limitadas por la corta semivida de estos reactivos y por su potencial limitado para inducir señalización. Otros estudios emplean proteínas de fusión compuestas de un receptor o ligando fusionado a un fragmento Fc. Aunque estos tipos de estrategias ayudan a diferenciar los efectos específicos de Fab de aquellos observados con interacciones de receptor-ligando, no controlan de manera eficaz los efectos mediados por Fc. Las evaluaciones de agentes terapéuticos basados en anticuerpos en modelos animales también pueden emplear anticuerpos de control de isotipo con un sitio de unión de Fab irrelevante. El razonamiento para esta elección está basado en la supuesta similitud funcional entre anticuerpos del mismo isotipo independientemente de su especificidad o afinidad de unión de Fab. Sin embargo, este uso de controles de isotipo irrelevantes tiene varios inconvenientes fundamentales:

1. Si los fragmentos Fab de estos anticuerpos no pueden unirse a un ligando o a un epítipo antigénico, es probable que los fragmentos Fc no estimulen la señalización a través del FcR de baja afinidad debido a la ausencia de reticulación del receptor Fcγ. Por lo tanto, las diferencias funcionales observadas entre anticuerpos experimentales y de control no pueden atribuirse correctamente a la interacción de Fab con una diana específica de epítipo que carece de medios para reticular con el FcγR.

2. Si se producen estos isotipos en células que producen diferentes glucoformas o diferentes porcentajes relativos de glucoformas individuales que el anticuerpo progenitor, se alterará la unión a FcR tanto de alta como de baja afinidad, incluso si la afinidad de Fab es idéntica.

Aunque no hay un control perfecto para superar este problema, una opción es el uso de estradómeros de isotipo específico producido en las mismas células que los anticuerpos progenitores y administrarlos a una dosis proporcional a los niveles de expresión del epítipo usado como diana por el anticuerpo experimental. Por ejemplo, el control adecuado para un anticuerpo específico de epítipo producido en ratas podría ser un estradómero específico de isotipo de rata capaz de agregar receptor Fcγ sobre la superficie de células efectoras.

En general, se expone una célula inmunitaria a una cantidad eficaz de un biomimético inmunológicamente activo para modular una actividad de una célula inmunitaria de un modo conocido y esta modulación inmunitaria se compara con un compuesto o molécula de ensayo para determinar si el compuesto de ensayo tiene una actividad moduladora inmunitaria similar.

En otra realización, los estradómeros agregados por calor, y las inmunoglobulinas agregadas pueden usarse como reactivos para controles de laboratorio en diversos ensayos inmunológicos descritos en el presente documento y conocidos por los expertos en la materia.

Los ensayos inmunológicos pueden ser ensayos *in vitro* o ensayos *in vivo* y pueden implicar a células inmunitarias humanas o no humanas usando un biomimético inmunológicamente activo de especie emparejada o de especie no

emparejada. En una realización, se lleva a cabo un ensayo inmunológico usando una cantidad eficaz del biomimético inmunológicamente activo para modular una actividad de una célula inmunitaria y comparando la modulación con una modulación de una célula inmunitaria por un compuesto de ensayo. El estradómero o estradocuerpo puede cumplir la función de un reactivo de control positivo en ensayos que implican la prueba de otros compuestos respecto de su efecto inmunológico. El ensayo puede comparar el efecto del anticuerpo monoclonal objeto en comparación con el estradómero respecto de la unión a Fcy y la respuesta funcional medida mediante cambios en el nivel de expresión de receptor, liberación de citocinas, y función, tal como mediante el uso de una reacción mixta de linfocitos. De este modo, si un estradómero (que carece del Fab) genera una respuesta que en parte similar a la del anticuerpo monoclonal, entonces el efecto del anticuerpo monoclonal, hasta cierto punto, no se debe a la especificidad de su Fab sino al efecto general de unión y reticulación de más de un receptor Fcy sobre la célula efectora. El estradocuerpo que contiene tanto este mismo estradómero como el Fab de este mismo anticuerpo monoclonal puede además ayudar a distinguir la especificidad del Fab del anticuerpo monoclonal del efecto general de unión y reticulación de más de un receptor Fcy sobre la célula efectora.

Si la actividad biológica de un anticuerpo específico de especie y específico de isotipo se replica en su totalidad o en parte por un estradómero específico de especie y específico de isotipo entonces es evidente que la actividad Fc - receptor Fcy representa la proporción de la actividad biológica observada atribuible al estradómero específico de especie y específico de isotipo. Por lo tanto, los estradómeros específicos de especie y específicos de isotipo son útiles para evaluar anticuerpos terapéuticos potenciales para determinar si y hasta qué grado la actividad biológica observada puede atribuirse a la porción Fab del anticuerpo de ensayo o a un efecto no específico de la porción Fc de la molécula que se une a y reticula a más de un receptor Fcy.

En una realización, un biomimético inmunológicamente activo aislado comprende al menos un estradómero que comprende al menos dos dominios Fc, o dominios parciales del mismo, de la misma clase de Fc de inmunoglobulina, en donde la clase de Fc de inmunoglobulina se selecciona entre el grupo que consiste en IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 y combinaciones de las mismas. Dichos biomiméticos son además capaces de unirse específicamente a un primer FcyRx<sub>1</sub>, en el que X, es I, II, III, o IV y a un segundo FcyRx<sub>2</sub>, en el que x<sub>2</sub> es I, II, III, o IV. Estos biomiméticos pueden caracterizarse además como poseedores de una actividad inmunológica que comprende una reticulación de receptor Fcy o funcionalidad efectora comparable a o superior a una reticulación de receptor Fcy o una funcionalidad efectora de diversas inmunoglobulinas IgG de origen natural agregadas.

En otra realización, la presente divulgación proporciona un biomimético inmunológicamente activo aislado que comprende al menos un estradómero que comprende al menos dos dominios Fc de diferentes clases de inmunoglobulina, o dominios parciales del mismo, en el que el biomimético se une específicamente a un primer FcyRx<sub>1</sub>, en el que x<sub>1</sub> es I, II, III, o IV y a un segundo FcyRx<sub>2</sub>, en el que x<sub>2</sub> es I, II, III, o IV. Este biomimético puede caracterizarse además como poseedor de una actividad inmunológica que comprende una reticulación de receptor Fcy o funcionalidad efectora comparable a o superior a una reticulación de receptor Fcy o una funcionalidad efectora de diversas inmunoglobulinas IgG de origen natural agregadas a FcyR.

En una realización adicional, la presente divulgación proporciona un biomimético inmunológicamente activo aislado que comprende uno o más estradómeros que comprenden cada uno independientemente tres o más dominios Fc, en los que los tres o más dominios Fc comprenden: a) un primer dominio Fc, en el que el primer dominio Fc comprende una bisagra de Fc (H) de una primera inmunoglobulina, b) un segundo dominio Fc, en el que el segundo dominio Fc comprende una región constante 2 (CH2) de una segunda inmunoglobulina, en los que el segundo dominio Fc es capaz de unirse específicamente a un FcyRx<sub>1</sub>, en el que x<sub>1</sub> es I, II, III, o IV; c) un tercer dominio Fc, en el que el tercer dominio Fc comprende una región constante 3 (CH3) de una tercera inmunoglobulina, en los que el tercer dominio Fc es capaz de unirse específicamente a un FcyRx<sub>2</sub>, en el que x<sub>2</sub> es I, II, III, o IV. Estos biomiméticos pueden comprender opcionalmente un cuarto dominio Fc, en el que el cuarto dominio Fc comprende una región constante 4 (CH4) de una cuarta inmunoglobulina IgM. Con esta molécula la bisagra de Fc puede contener al menos una cisteína.

En una realización más, la presente divulgación proporciona un biomimético inmunológicamente activo que comprende: a) un primer dominio Fc o un dominio parcial de Fc del mismo, en el que el primer dominio Fc comprende un dominio bisagra de Fc (H) de una primera inmunoglobulina, en el que el dominio bisagra de Fc comprende al menos una cisteína, en el que el primer dominio Fc contribuye a la especificidad de unión para un FcyRx, en el que x es I, II, III, o IV; y al menos uno de: i) un segundo dominio Fc o un dominio parcial del mismo, en el que el segundo dominio Fc comprende una región constante 2 (CH2) de una segunda inmunoglobulina que puede ser o no igual que la primera inmunoglobulina, en el que el segundo dominio Fc contribuye a la especificidad de unión para un FcyRx, en el que x es I, II, o III, IV; y opcionalmente, ii) un tercer dominio Fc o un dominio parcial del mismo, en el que el tercer dominio Fc comprende una región constante 3 (CH3) de una tercera inmunoglobulina, en el que el tercer dominio Fc contribuye a la especificidad de unión para un FcyRx, en el que x es I, II, III, o IV; y b), opcionalmente, un cuarto dominio Fc o un dominio parcial del mismo, en el que el cuarto dominio Fc es específicamente de una región constante 4 (CH4) de una inmunoglobulina IgM.

En otra realización, el biomimético inmunológicamente activo aislado es un estradómero en el que la fuente de inmunoglobulina de los dominios Fc es igual o diferente e incluye isotipos IgA, isotipos IgG, IgD, IgE, e IgM. Otra

realización de estradómero es un biomimético inmunológicamente activo aislado que comprende una secuencia de señal secretoria.

5 En una realización preferida, la cantidad terapéuticamente eficaz de los biomiméticos inmunológicamente activos es una cantidad suficiente para permitir la unión de los biomiméticos a dos o más FcγRx, en el que x es I, II, III, o IV, sobre la superficie de una célula inmunitaria, provocando de este modo la agregación del FcγRx. La célula inmunitaria puede ser cualquier célula efectora inmunitaria, tal como un monocito, una célula dendrítica, un macrófago, un osteoclasto, o una células NK. La maduración de la célula efectora inmunitaria puede estar modulada por el biomimético inmunológicamente activo. La proporción de FcγRIIIa a FcγRIIb puede alterarse también en la  
10 célula inmunitaria. La célula inmunitaria puede localizarse en el plasma, médula ósea, intestino, hueso, tejido linfóide, timo, de cerebro, un sitio de infección o un tumor. La actividad funcional de un macrófago, célula dendrítica, osteoclasto, o célula NK puede modularse.

15 La cantidad terapéuticamente eficaz del biomimético inmunológicamente activo aislado descrito en el presente documento puede administrarse *ex vivo* a una célula inmunitaria para generar una célula inmunitaria tratada seguido de la etapa de infusión de la célula inmunitaria tratada en el sujeto. La célula inmunitaria tratada puede ser una célula dendrítica, macrófago, osteoclasto o un monocito.

20 Puede administrarse inmunoterapia adicional junto con cualquiera de los biomiméticos inmunológicamente activos aislados descritos en el presente documento en una cantidad terapéuticamente eficaz al sujeto. La inmunoterapia adicional puede incluir, por ejemplo, uno o más de una molécula coestimuladora, un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal, una proteína de fusión, un anticuerpo biespecífico, una citocina, un antígeno reconocido inmunológicamente, un agente anti-cáncer o antiproliferativo de molécula pequeña. La inmunoterapia adicional puede administrarse de manera concurrente con o por separado de la administración del biomimético  
25 inmunológicamente activo.

Los niveles de citocinas (incluyendo aquellas listadas anteriormente) pueden alterarse, por ejemplo, administrando una o más citocinas de interés, otras una o más citocinas que modulan el nivel de las una o más citocinas de interés, y/o anticuerpos (de cualquiera de los tipos y clases citados en el presente documento) específicos para una o más  
30 de las dos categorías de citocinas anteriores.

Los biomiméticos inmunológicamente activos descritos en el presente documento pueden usarse para modular la expresión de moléculas coestimuladoras de una célula inmunitaria, incluyendo una célula dendrítica, un macrófago, un osteoclasto, un monocito, o una célula NK o para inhibir en estas mismas células inmunitarias la diferenciación, maduración, o secreción de citocinas, incluyendo interleucina-12 (IL-12), o de aumentar la secreción de citocinas, incluyendo interleucina-10 (IL-10), o interleucina-6 (IL-6). Un experto en la materia también puede validar la eficacia de un biomimético inmunológicamente activo exponiendo a una célula inmunitaria al biomimético inmunológicamente activo y midiendo la modulación de la función de la célula inmunitaria, en la que la célula inmunitaria es una célula dendrítica, un macrófago, un osteoclasto, o un monocito. En una realización, se expone la célula inmunitaria al biomimético inmunológicamente activo *in vitro* y comprende además la etapa de determinar una cantidad de un receptor de la superficie celular o de la producción de una citocina, en el que un cambio en la cantidad de receptor de la superficie celular o de la producción de citocinas indica una modulación de la función de la célula inmunitaria. En otra realización, la célula inmunitaria se expone al biomimético inmunológicamente activo *in vivo* en un modelo animal para una enfermedad autoinmunitaria que comprende una etapa de evaluar un grado de mejora de la enfermedad autoinmunitaria.  
45

"Capaz de unirse específicamente a un FcγRx", tal como se usa en el presente documento, se refiere a la unión a un FcγR, tal como FcγRIII. La unión específica se define generalmente como la cantidad de ligando marcado que es desplazable por un exceso posterior de ligando no marcado en un ensayo de unión. Sin embargo, esto no excluye otros medios para evaluar la unión específica que están bien establecidos en la técnica (por ejemplo, Mendel CM, Mendel DB, 'Non-specific' binding. The problem, and a solution. *Biochem J.* 15 de Mayo de 1985;228(1):269-72). La unión específica puede medirse de diversos modos bien conocidos en la técnica, tales como tecnología de resonancia de plasmón superficial (SPR) (disponible comercialmente mediante BIACORE®) para caracterizar las constantes tanto de asociación como de disociación de los biomiméticos inmunológicamente activos (Aslan K, Lakowicz JR, Geddes C. *Plasmon light scattering in biology and medicine: new sensing approaches, visions and perspectives.* *Current Opinion in Chemical Biology* 2005, 9:538-544).  
50  
55

#### Métodos que emplean Fc fijos

60 Para entender el papel de las interacciones Fc: receptor Fc gamma (FcγR, el receptor Fc para Fc de IgG) y la importancia para la función de IVIG de que su Fc esté inmovilizado biológicamente en una inmunoglobulina, se compararon los efectos de IVIG tanto con una forma fija de un fragmento Fc de IgG1 recombinante (rFCF) y una forma soluble de un fragmento Fc de IgG1 recombinante (sFc) que contiene los dominios bisagra-CH2-CH3 en la función de monocitos durante el proceso de diferenciación de monocitos a células dendríticas inmaduras (iDC).  
65

La exposición de monocitos cultivados con factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) e

interleucina 4 (IL-4), a rFCF inmovilizado y a IVIG inmovilizado, pero no a bajas dosis de IVIG soluble, potenció la expresión de CD86, retrasó la expresión de CD11c, y suprimió la expresión de CD1a en las células. Además, es probable que estos cambios no sean secundarios a la inmovilización no específica de proteína del rFCF sobre plástico, ya que IVIG soluble agregada por calor (sHA), sHA rFCF o IVIG a alta dosis (que se reconoce que contiene Fc multiméricos), indujeron cambios similares a aquellos observados con rFCF inmovilizado.

Tomados en conjunto, los presentes datos indican que la exposición de iDC a IVIG inmovilizado sobre la superficie de un sustrato sólido, semisólido, o gelatinoso da como resultado una población única de DC (alto CD86, bajo CD1a), capaz de orquestar tolerancia inmunitaria, y que las moléculas inmovilizadas que incluyen la porción funcional de fragmentos Fc de inmunoglobulina G (IgG) pueden ser útiles como miméticos de IVIG para el tratamiento de inflamación local y sistémica, así como una gran variedad de otras afecciones patológicas que están, directa o indirectamente, mediadas por células derivadas de monocitos (MDC), tales como iDC. Además, la inmovilización de la porción funcional de Fc de IgG sobre dispositivos, descritos en el presente documento como "dispositivos de recubrimiento", que se implantan en los organismos o se acoplan a los cuerpos de animales (por ejemplo, pacientes humanos) con moléculas que contienen la porción funcional del fragmento Fc de IgG puede aminorar, si no prevenir, las respuestas inflamatorias a dichos dispositivos.

La divulgación proporciona un método para inhibir la actividad de una célula procedente de monocitos (MDC). El método incluye poner en contacto la célula con una composición que comprende un sustrato con un reactivo de Fc unido al mismo. La puesta en contacto puede ser *in vitro*, *in vivo*, o *ex vivo*. Como alternativa, la célula puede encontrarse en un animal. El animal puede ser uno que tenga, o esté en riesgo de desarrollar, una afección mediada por células derivadas de monocitos (MDCMC). La MDC puede ser, por ejemplo, una célula dendrítica, un macrófago, un monocito, o un osteoclasto.

La divulgación también proporciona un método de tratamiento o profilaxis. El método incluye administrar a un animal una composición que contiene un sustrato que tiene un reactivo de Fc unido a éste, siendo el animal uno que tenga o esté en riesgo de desarrollar una MDCMC.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "afección mediada por células derivadas de monocitos (MDCMC)" se refiere a una afección patológica que se debe directa o indirectamente, parcial o completamente, a la actividad de, o a factores producidos por, células derivadas de monocitos. Las células derivadas de monocitos incluyen, pero sin limitación, monocitos, macrófagos, células dendríticas interdigitantes (citadas generalmente en el presente documento como "células dendríticas" que comprenden células similares a las dendríticas y células similares a las dendríticas foliculares) (maduras e inmaduras), osteoclastos, células similares a la microglía, células similares a las de islote productoras de insulina derivadas de monocitos, mastocitos inmaduros derivadas de monocitos y micropartículas derivadas de monocitos.

Con respecto a los métodos que usan Fc fijos, la expresión "reactivo de Fc" se refiere a cualquier molécula, o complejo molecular, que incluye una o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 18, 20, o más) porciones funcionales de un fragmento Fc de inmunoglobulina G (IgG). El fragmento Fc de IgG consiste en las porciones C-terminales de las dos cadenas pesadas de IgG de una molécula de IgG unidas y consiste en las regiones bisagra, los dominios CH2, y los dominios CH3 de ambas cadenas pesadas unidas. La "porción funcional del fragmento Fc de IgG" consiste en las regiones bisagra, los dominios CH2, y opcionalmente, todos o algunos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, o 49) de los 50 primeros aminoácidos (desde el extremo N-terminal de los dominios CH3, de ambas cadenas pesadas unidas. En seres humanos, (a) la región bisagra de IgG1 contiene 15 aminoácidos, el dominio CH2 contiene 110 aminoácidos, y el dominio CH3 contiene 106 aminoácidos; (b) la región bisagra de IgG2 contiene 12 aminoácidos, el dominio CH2 contiene 109 aminoácidos, y el dominio CH3 contiene 107 aminoácidos; (c) la región bisagra de IgG3 contiene 62 aminoácidos, el dominio CH2 contiene 104 aminoácidos, y el dominio CH3 contiene 106 aminoácidos; y (d) la región bisagra de IgG4 contiene 12 aminoácidos, el dominio CH2 contiene 109 aminoácidos, y el dominio CH3 contiene 107 aminoácidos.

Al igual que en las moléculas de IgG de tipo silvestre, en los reactivos de Fc anteriormente descritos las dos cadenas polipeptídicas derivadas de cadenas pesadas de IgG son generalmente, pero no necesariamente, idénticas. Por lo tanto, un reactivo de Fc puede ser, sin limitación, una molécula de IgG completa, una molécula de IgG completa unida a un polipéptido no procedente de inmunoglobulina, un fragmento Fc de IgG, un fragmento Fc de IgG unido a un polipéptido no procedente de inmunoglobulina, una porción funcional de un fragmento Fc de IgG, una porción funcional de un fragmento Fc de IgG unida a un polipéptido o multímeros no derivadas de inmunoglobulina (por ejemplo, dímeros, trímeros, tetrámeros, pentámeros, hexámeros, heptámeros, octámeros, nomámeros, o decámeros) de cualquiera de estos. Los reactivos de Fc también pueden ser los estradómeros y estradocuerpos anteriormente descritos que se encuentran dentro de la definición de un reactivo de Fc anterior.

En el Fc fijo, los componentes de cadena pesada de inmunoglobulina de los reactivos de Fc pueden tener secuencias de aminoácidos de tipo silvestre o pueden ser secuencias de aminoácidos de tipo silvestre con no más de 20 (por ejemplo, no más de: 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, o 1) sustitución de aminoácidos. Dichas sustituciones son preferentemente, pero no necesariamente, sustituciones conservativas. Los

cambios conservativos incluyen normalmente cambios dentro de los siguientes grupos: glicina y alanina; valina, isoleucina, y leucina; ácido aspártico y ácido glutámico; asparagina, glutamina, serina y treonina; lisina, histidina y arginina; y fenilalanina y tirosina.

- 5 Un "reactivo de Fc" tiene al menos un 25 % (por ejemplo, al menos: 30 %; 40 %; 50 %; 60 %; 70 %; 80 %; 90 %; 95 %; 98 %; 99 %; 99,5 %; o 100 % o incluso más) de la capacidad de la molécula de IgG de la que proceden los componentes de cadena pesada de IgG del reactivo de Fc (la molécula de IgG de referencia) para unirse a un receptor Fc de interés. En los casos donde un "reactivo de Fc" tiene componentes de cadena pesada procedentes de más de un tipo de molécula de IgG, la molécula de IgG de referencia es la que se une con la mayor avidez al receptor de Fc relevante de interés.

15 Tal como se usa en el presente documento, "Fc fijo" se refiere a un reactivo de Fc que está unido a un "sustrato" tal como se define más adelante. Las expresiones "Fc fijo", "Fc unido" y "Fc estabilizado" son expresiones sinónimas. El Fc fijo está compuesto de la porción funcional de Fc (incluyendo, pero sin limitación, cualquier polipéptido que incluye la porción funcional de Fc) unido a un sustrato. El Fc fijo incluye, por ejemplo, la unión directa así como la unión indirecta a través de polímeros de Fc al sustrato; la incorporación del Fc de IgG completo aislado; la incorporación únicamente de los dominios funcionales de Fc de IgG; o la incorporación del Fc de IgG completo o de dominios funcionales de Fc de IgG como parte de un polipéptido mayor, tal como un anticuerpo, un estradómero, o un estradocuerpo.

20 Tal como se aplica a Fc fijos, el término "sustrato" se refiere a un objeto sólido, semisólido, o gelatinoso. El sustrato puede implantarse en, o unirse (o adherirse) a la superficie del cuerpo de un animal. Los sustratos pueden incluir, por ejemplo, componentes líquidos o gaseosos pero al menos una porción del sustrato es un sólida, semisólida, o gelatinosa. Por lo tanto, un sustrato puede ser una sustancia que es sustancialmente insoluble en un disolvente acuoso pero soluble en un disolvente no acuoso. Dichas sustancias incluyen lípidos (por ejemplo, fosfolípidos), ácidos grasos, y otros compuestos liposolubles, insolubles en disolventes acuosos. A partir de esto, será evidente que los sustratos incluyen liposomas. El sustrato puede ser poroso o no poroso. En determinadas realizaciones, el sustrato es inerte para la superficie y/o el organismo en el que se implanta, une, o adhiere.

30 El sustrato puede contener o estar hecho de un polímero sintético, por ejemplo, nailon, teflón, dacrón, cloruro de polivinilo, PEU (poli(éster de uretano)), PTFE (politetrafluoroetileno), PMMA (metacrilato de metilo), PEEK, elastómeros termoplásticos, polímeros radiopague, polietersulfona, siliconas, policarbonatos, poliuretanos, poliisobutileno y sus copolímeros, poliésteres, poliolefinas, poliisobutileno, copolímeros de etileno-alfaolefina, polímeros y copolímeros acrílicos, polímeros y copolímeros de haluros de vinilo, tales como cloruro de polivinilo, éteres de polivinilo, éter metílico de polivinilo, haluros de polivinilideno, fluoruro de polivinilideno, cloruro de polivinilideno, poliacrilonitrilo, cetonas de polivinilo, aromáticos de polivinilo, poliestireno, éteres de polivinilo, acetato de polivinilo, copolímeros de monómeros de vinilo, copolímeros de monómeros de vinilo y olefinas, copolímeros de metil metacrilato-etileno, copolímeros de acrilonitrilo-estireno, resinas ABS, copolímeros de acetato de etilenvinilo, poliamidas, nailon 66, policaprolactona, resinas alquídicas, polioxietilenos, poliimididas, poliéteres, resinas epoxi, triacetato de rayón, celulosa, acetato de celulosa, butirato de celulosa, butirato de acetato de celulosa, celofán, nitrato de celulosa, propionato de celulosa, éteres de celulosa, carboximetil celulosa, colágenos, quitinas, ácido poliláctico, ácido poliglicólico, copolímeros de ácido poliláctico-óxido de polietileno, polisiloxanos, polisiloxanos sustituidos, copolímeros de etileno-acetato de vinilo, elastómeros de poliolefina, y gomas EPDM, y combinaciones de los mismos.

45 El sustrato también puede contener o estar hecho de un metal o una aleación metálica, por ejemplo, acero inoxidable, platino, iridio, titanio, tántalo, aleación de níquel-titanio, o aleación de cobalto-cromo. Además, el sustrato puede incluir o ser un tejido animal o un producto de tejido animal, por ejemplo, un injerto de tejido u órgano. El tejido animal puede ser, por ejemplo, hueso, (por ejemplo, hueso osteogénico) o cartilago. Además, el sustrato puede contener una proteína, por ejemplo, colágeno o queratina. El sustrato también puede ser o contener una matriz de tejido, por ejemplo, una matriz de tejido acelarar. Las matrices acelulares en partículas o no en partículas se describen detalladamente en, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos n.º 5.336.616 y 6.933.326.

55 El sustrato también puede ser o incluir una célula animal (por ejemplo, células reparadoras de tejidos, tales como fibroblastos, células madre mesenquimales) y puede ser, por ejemplo, un trasplante de unidad folicular. El sustrato puede contener o ser un polisacárido, por ejemplo, agarosa. También puede contener o ser una sal, preferentemente una sal relativamente insoluble, por ejemplo, sulfato de calcio. El sustrato puede ser un gel o una crema. Además, puede contener silicona o silástico. Los sustratos también pueden contener una fibra natural, por ejemplo, seda algodón, o lana.

60 Además, el sustrato puede ser un dispositivo médico implantable. Puede ser, por ejemplo, un stent (por ejemplo, un stent vascular, tal como un stent de la arteria coronaria; un stent de las vías aéreas, tal como un stent endotraqueal o nasal; un stent gastrointestinal, tal como un stent biliar o pancreático; o un stent urinario, tal como un stent ureteral) o una sutura quirúrgica (por ejemplo, una seda trenzada, tripa cromada, nailon, plástico, o una estructura metálica) o un clip quirúrgico (por ejemplo, un clip de aneurisma). El sustrato puede ser, por ejemplo, una cadera artificial, una articulación artificial de la cadera, una rodilla artificial, una articulación artificial de rodilla, un hombro artificial, una

articulación artificial de hombro, o una articulación artificial de un dedo de la mano o del pie, una placa ósea, una clavija ósea, un implante óseo no de unión, un implante de disco intervertebral, cemento óseo, o un espaciador de cemento óseo. Puede ser también una derivación arteriovenosa, un alambre implantable, un marcapasos, un corazón artificial, un dispositivo de asistencia cardíaca, un implante coclear, un desfibrilador implantable, un estimulador de la médula espinal, un estimulador del sistema nervioso central, o un implante de sistema nervioso periférico. Otros sustratos son prótesis dentales o coronas dentales.

En otras realizaciones, el sustrato puede ser un dispositivo o jaula de filtrado de émbolos de grandes vasos, un dispositivo percutáneo, un parche dérmico o subdérmico, o un dispositivo de administración de fármaco implantable. El sustrato también puede ser un injerto de un gran vaso sanguíneo, en el que el vaso sanguíneo es, por ejemplo, una arteria carótida, una arteria femoral, o una aorta. Además, el sustrato puede ser un implante subdérmico, un implante de córnea, una lente intraocular, o una lente de contacto.

El sustrato puede estar en forma de una lámina, una perla, una malla, una partícula de polvo, un filamento, una perla, o una fibra. También puede incluir o ser una sustancia sólida, semisólida o gelatinosa.

Los polímeros son preferentemente aquellos que son bioestables, biocompatibles, particularmente durante la inserción o implante del dispositivo en el organismo, y evitan la irritación al tejido del organismo.

Los reactivos de Fc pueden revestirse (es decir, fijarse o estabilizarse) sobre sustratos en cualquiera de diversos modos. Por ejemplo, pueden recubrirse directamente sobre la superficie de los sustratos donde permanecen unidos mediante, por ejemplo, interacciones hidrófobas. A continuación se describen algunas otras metodologías ((a) - (e)) que implican el uso de polímeros:

(a) El reactivo Fc se mezcla con una mezcla de polímero miscible que después se extiende a modo de lámina sobre la superficie del material sintético implantable, estabilizando de este modo el reactivo de Fc. Los monómeros usados rutinariamente en la técnica para producir mezclas de polímeros incluyen PLMA [poli(metacrilato de laurilo)]; PEG [polietilenglicol], PEO [óxido de polietileno]; los polímeros de metacrilato funcionalizados con alquilo PMMA, PEMA, PPMA, y PBMA; itaconatos; fumaratos; y estirénicos.

(b) Se adhiere una capa de revestimiento polimérico inferior o una película de dimensiones nanométricas a la superficie del sustrato y después se adhiere el reactivo de Fc a la capa de revestimiento polimérico inferior o a la película de dimensiones nanométricas, estabilizando de este modo el reactivo de Fc.

(c) Se aplica una fina capa de un polímero a la superficie del sustrato implantable y después se hace polimerizar el monómero. Dichos monómeros incluyen, por ejemplo, metano, tetrafluoroetileno, benceno, metanol, óxido de etileno, tetraglima, ácido acrílico, alilamina, metacrilato de hidroxietilo, N-vinil pirrolidona, y mercaptoetanol. Entonces se une el reactivo de Fc al monómero resultante.

(d) El sustrato se recubre con una proteína, tal como proteína A o albúmina que se une al reactivo de Fc, estabilizando de este modo el Fc a la superficie del sustrato.

(e) El reactivo Fc puede marcarse con una cadena de aminoácidos hidrófoba que se une a materiales sintéticos implantables y hace que el Fc estabilizado se oriente de manera uniforme.

Los métodos pueden aplicarse a cualquier especie animal y las moléculas de IgG a partir de las cuales se producen las porciones derivadas de IgG de reactivos de Fc pueden ser de cualquier especie animal. Naturalmente, las especies animales relevantes son aquellas en las que aparecen moléculas de IgG o similares a IgG. En general, la especie a la que se aplican los métodos y la especie de procedencia de las porciones procedentes de IgG de los reactivos de Fc usados en los métodos son la misma. Sin embargo, no son necesariamente iguales. Las especies animales relevantes son preferentemente mamíferos y estos incluyen, sin limitación, seres humanos, primates no humanos (por ejemplo, monos, babuinos, y chimpancés), caballos, animales bovinos (por ejemplo, toros, vacas, o bueyes), cerdos, cabras, ovejas, perros, gatos, conejos, gerbos, hámsteres, ratas, y ratones. Las especies no de mamífero incluyen, por ejemplo, aves (por ejemplo, pollos, pavos, y patos) y peces.

Los términos "tratando", "tratamiento", y "profilaxis" tienen el mismo significado usando Fc fijo tal como se describe anteriormente para estradómeros y estradocuerpos.

En los casos donde los Fc fijos sean dispositivos recubiertos con reactivos de Fc, pueden implantarse en, unirse a, o adherirse a órganos internos o tejidos o superficies corporales relevantes de sujetos relevantes usando métodos bien conocidos en la técnica. En los casos en los que se formulan como, por ejemplo, suspensiones, polvos, pueden formularse y administrarse tal como se describe anteriormente para estradómeros y estradocuerpos.

Los reactivos fijos de Fc pueden usarse para tratar o prevenir afecciones, incluyendo, pero sin limitación, el cáncer, insuficiencia cardíaca congestiva (CHF), vasculitis, rosácea, acné, eccema, miocarditis y otras afecciones del miocardio, lupus eritematoso sistémico, diabetes, espondilopatías, fibroblastos sinoviales, y estroma de la médula ósea; pérdida ósea; enfermedad de Paget, formación de hueso hipertrófica; osteopenia por desuso; malnutrición, enfermedad periodontal, enfermedad de Gaucher, histiocitosis de Langerhans, lesión de la médula espinal, artritis séptica aguda, osteomalacia, síndrome de Cushing, displasia fibrosa monoostótica, displasia fibrosa poliostótica, reconstrucción periodontal, y fracturas óseas, gestión del dolor óseo, e hipercalcemia maligna humoral, espondilitis

anquilosante y otras espondiloartropatías; rechazo de trasplantes, e infecciones víricas.

5 Todas las enfermedades autoinmunitarias pueden ser total o parcialmente una MDCMD. La expresión "enfermedad autoinmunitaria", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una diversidad de un grupo de más de 80 enfermedades crónicas. En todas estas enfermedades, el problema subyacente es que el sistema inmunitario del organismo ataca al propio cuerpo. Las enfermedades autoinmunitarias afectan a todos los sistemas corporales principales, incluyendo al tejido conectivo, nervios, músculos, al sistema endocrino, la piel, la sangre, y a los sistemas respiratorio y gastrointestinal.

10 La enfermedad o afección autoinmunitaria puede ser un proceso hematoinmunológico, incluyendo, pero sin limitación púrpura trombocitopénica idiopática, trombocitopenia aloinmunitaria/autoinmunitaria, trombocitopenia inmunitaria adquirida, neutropenia autoinmunitaria, anemia hemolítica autoinmunitaria, aplasia de glóbulos rojos asociada al parvovirus B19, autoinmunidad anti-factor VIII adquirida, enfermedad de von Willebrand adquirida, mieloma múltiple o gammopatía monoclonal de significado desconocido, septicemia, anemia aplásica, aplasia pura de glóbulos rojos, anemia de Diamond-Blackfan, enfermedad hemolítica del neonato, neutropenia mediada por inmunidad, refractariedad a la transfusión de plaquetas, púrpura post-transfusión neonatal, síndrome hemolítico urémico, vasculitis sistémica, púrpura trombocitopénica trombótica, o síndrome de Evan.

20 La enfermedad o afección autoinmunitaria puede ser un proceso neuroinmunológico, incluyendo, pero sin limitación, síndrome de Guillain-Barré, polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, polineuropatía desmielinizante de IgM paraproteínica, síndrome miasténico de Lambert-Eaton, miastenia grave, neuropatía motora multifocal, síndrome de la neurona motora inferior asociado con anti-GM1, desmielinización, esclerosis múltiple y neuritis óptica, síndrome del hombre rígido, degeneración cerebelar paraneoplásica con anticuerpos anti-Yo, encefalomielitis paraneoplásica, neuropatía sensorial con anticuerpos anti-Hu, epilepsia, encefalitis, mielitis, mielopatía asociada especialmente con virus 1 linfotrófico de células T humanas, neuropatía diabética autoinmunitaria, o neuropatía disautonómica idiopática aguda.

30 La enfermedad o afección autoinmunitaria también puede ser un proceso patológico reumático, incluyendo, pero sin limitación, enfermedad de Kawasaki, artritis reumatoide, síndrome de Felty, vasculitis positiva a ANCA, polimiositis espontánea, dermatomiositis, síndromes antifosfolípido, abortos espontáneos recurrentes, lupus eritematoso sistémico, artritis idiopática juvenil, síndrome de Raynaud, síndrome de CREST, o uveítis.

35 La enfermedad o afección autoinmunitaria también puede ser un proceso patológico dermatoinmunológico, incluyendo, pero sin limitación, necrólisis epidérmica tóxica, gangrena, granuloma, enfermedades de la piel con ampollas autoinmunitarias, incluyendo pénfigo vulgar, penfigoide bulloso, y pénfigo foliáceo, vitiligo, síndrome de choque tóxico estreptocócico, escleroderma, esclerosis sistémica, incluyendo esclerosis sistémica cutánea difusa y limitada, o dermatitis atópica (especialmente dependiente de esteroides).

40 La enfermedad o afección autoinmunitaria también puede ser un proceso patológico inmunológico musculoesquelético, incluyendo, pero sin limitación, miositis por cuerpos de inclusión, fascitis necrotizante, miopatías inflamatorias, miositis, miopatía anti-decorin (antígeno BJ), miopatía necrótica paraneoplásica, miopatía vacuolada ligada a X, polimiositis inducida por penacilamina, aterosclerosis, cardiopatía isquémica, o cardiomiopatía.

45 La enfermedad o afección autoinmunitaria también puede ser un proceso patológico inmunológico gastrointestinal, incluyendo, pero sin limitación, anemia perniciosa, hepatitis crónica activa autoinmunitaria, cirrosis biliar primaria, enfermedad celíaca, dermatitis herpetiforme, cirrosis criptogénica, artritis reactiva, enfermedad de Crohn, enfermedad de Whipple, colitis ulcerosa, o colangitis esclerosante.

50 La enfermedad o afección autoinmunitaria puede ser enfermedad de injerto contra hospedador, rechazo de injerto mediado por anticuerpos, rechazo después de trasplante de médula ósea, enfermedad inflamatoria post-infecciosa, linfoma, leucemia, neoplasia, asma, diabetes mellitus de tipo 1 con anticuerpos anti-células beta, síndrome de Sjögren, enfermedad del tejido conectivo mixto, enfermedad de Addison, síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada, glomerulonefritis membranoproliferativa, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves, tiroiditis de Hashimoto, granulomatosis de Wegener, micropoliarteritis, síndrome de Churg-Strauss, poliarteritis nodosa o fallo orgánico multisistema.

60 "Cáncer" en el presente documento se refiere a o describe la afección fisiológica en mamíferos que está caracterizada normalmente por crecimiento celular no regulado. Los ejemplos de cáncer incluyen, pero sin limitación, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma (incluyendo liposarcoma, sarcoma osteogénico, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, leiomiomasarcoma, rabdomiosarcoma, fibrosarcoma, mixosarcoma, condrosarcoma), osteoclastoma, tumores neuroendocrinos, mesotelioma, cordoma, sinovioma, schwannoma, meningioma, adenocarcinoma, melanoma, y leucemia o neoplasias linfoides malignas. Los ejemplos de cánceres más particulares incluyen cáncer de células escamosas (por ejemplo, cáncer de células escamosas epiteliales), cáncer de pulmón, incluyendo cáncer microcítico de pulmón, cáncer de pulmón no microcítico, adenocarcinoma del pulmón y carcinoma escamoso de pulmón, carcinoma microcítico de pulmón, cáncer del peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico o de estómago incluyendo cáncer gastrointestinal, cáncer de

páncreas, glioblastoma, cáncer de cuello de útero, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer colorrectal, carcinoma de endometrio o de útero, carcinoma de las glándulas salivares, cáncer de riñón o renal, cáncer de próstata, cáncer vulvar, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, carcinoma anal, carcinoma del pene, cáncer de testículo, cáncer de esófago, tumores del conducto biliar, tumor de Ewing, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de las glándulas sudoríparas, carcinoma de las glándulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de células renales, hepatoma, carcinoma del conducto biliar, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilms, tumor testicular, carcinoma de pulmón, carcinoma de vejiga, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, melanoma, neuroblastoma, retinoblastoma, leucemia, linfoma, mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenström, enfermedad mielodisplásica, enfermedad de la cadena pesada, tumores neuroendocrinos, schwannoma, y otros carcinomas, cáncer de cabeza y cuello, neoplasias mieloides, tales como leucemias mielógenas, incluyendo AML con maduración, AML sin diferenciación, leucemia promielótica aguda, leucemia mielocítica aguda, y leucemias monocíticas agudas, síndromes mielodisplásicos, y trastornos mieloproliferativos crónicos, incluyendo leucemia mielógena crónica, tumores del sistema nervioso central, por ejemplo, tumores cerebrales (glioma, neuroblastoma, astrocitoma, meduloblastoma, ependimoma, y retinoblastoma), tumores sólidos (cáncer nasofaríngeo, carcinoma de células basales, cáncer de páncreas, cáncer del conducto biliar, sarcoma de Kaposi, cáncer de testículo, cánceres uterinos, vaginales o cervicales, cáncer de ovario, cáncer de hígado primario o cáncer de endometrio, tumores del sistema vascular (angiosarcoma y hemangiopericitoma), neoplasias hematológicas y afecciones similares a neoplasias, por ejemplo, linfoma de Hodgkin; linfomas no de Hodgkin (linfoma de Burkitt, linfoma linfocítico pequeño/leucemia linfocítica crónica, mycosis fungoides, linfoma de células del manto, linfoma folicular, linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma de la zona marginal, tricoleucemia y leucemia linfoplasmacítica), tumores de células precursoras de linfocitos, incluyendo leucemia/linfoma linfoblástico agudo de células B, y leucemia/linfoma linfoblástico agudo de células T, timoma, tumores de las células T y NK maduras, incluyendo leucemias de células T periféricas, leucemia de células T adultas/linfomas de células T y leucemia linfocítica granular grande, cánceres óseos osteolíticos, y metástasis ósea.

Tal como se usa en el presente documento, un sujeto "en riesgo de desarrollar una enfermedad mediada por células derivadas de monocitos (MDCMD)" es un sujeto que tiene una predisposición para desarrollar la MDCMD, es decir, una predisposición genética para desarrollar la MDCMD o que se ha expuesto a condiciones que pueden dar como resultado una MDCMD. Un sujeto "que se sospecha que tiene una MDCMD" es uno que tiene uno o más síntomas de una MDCMD. A partir de lo anterior será claro que ni los sujetos "en riesgo de desarrollar una MDCMD" ni los sujetos "que se sospecha que tienen una MDCMD" son todos los individuos dentro de una especie de interés.

En cualquiera de los métodos anteriores, la MDCMC puede ser una causada por el sustrato y el reactivo de Fc sirve para prevenir o mejorar la MDCMC.

#### **Ejemplo 1 - Diseño de construcción de biomiméticos inmunológicamente activos**

Se clonó una secuencia que codifica un monómero de fragmento Fc de IgG<sub>1</sub> humana (SEQ ID NO: 1) en un vector de expresión (pCDNA 3.1D/V5 His TOPO, Invitrogen) que comprende sitios de escisión por enzima de restricción seleccionados, una señal de IgK (definida adicionalmente más adelante) y marcadores epitópicos para crear la secuencia de monómero de IgG1 {SitiosEnzRest - señal de IgK - SitiosEnzRest - (bisagra-CH2-CH3) de IgG1 - SitiosEnzRest - marcadores epitópicos (V5 e His) - PARADA}, mostrada en la figura 17 (SEQ ID NO: 19). La construcción se transfirió en células CHO (CHO-002) para la producción de proteína. Además, se diseñaron varias construcciones de estradómero con las estructuras generales:

- a) {SitiosEnzRest - señal de IgK - SitiosEnzRest - (bisagra-CH2-CH3) de IgG1 - sitio de XbaI - (bisagra-CH2-CH3) de IgG1 - PARADA} (SEQ ID NO: 21) (véase también la figura 4A y la figura 18);
- b) {SitiosEnzRest - señal de IgK - SitiosEnzRest - (bisagra-CH2-CH3) de IgG1 - sitio de XbaI - (bisagra-CH2-CH3) de IgG1 - SitiosEnzRest - marcadores epitópicos (V5 e His) - PARADA} (SEQ ID NO: 23) (véase también la figura 19);
- c) {SitiosEnzRest - señal de IgK - sitio de EcoRV - (bisagra-CH2-CH3) de IgG3 - (bisagra-CH2-CH3) de IgG1 - SitiosEnzRest - marcadores epitópicos (V5 e His) - PARADA} (SEQ ID NO.: 25) (véase también la figura 21); y
- d) {SitiosEnzRest - señal de IgK - sitio de EcoRV - (CH2) de IgE - (bisagra-CH2-CH3) de IgG1 - (bisagra-CH2) de IgG1 - (CH4) de IgE - PARADA} (SEQ ID NO.:27) (véase también la figura 22).

La construcción de estradómero de IgG<sub>1</sub> a) (SEQ ID NO: 21; figura 18) se diseñó por ingeniería genética usando PCR. Se usaron cebadores complementarios a la secuencia bisagra (en el extremo 5') de IgG<sub>1</sub> (SEQ ID NO: 29) y al extremo C-terminal de la IgG<sub>1</sub> (en el extremo 3') (SEQ ID NO: 30) para amplificar la región bisagra-Fc de IgG<sub>1</sub>. Se añadieron sitios de restricción a los cebadores para permitir la clonación en fase del segundo dominio Fc en serie con el primero, que se clonó en un vector de clonación pCDNA (pCDNA 3.1D/V5 His TOPO, Invitrogen). Se añadió un codon de parada antes del sitio de restricción del cebador C-terminal para prevenir la lectura de las secuencias flanqueantes para esta construcción.



La construcción de estradómero b) (SEQ ID NO: 23; figura 19), se produjo de manera similar y contenía el Fc de IgG<sub>1</sub> - Fc de IgG<sub>1</sub> tal como se describe anteriormente pero también contenía dos marcadores epitópicos añadidos al extremo C-terminal de la construcción. Estos marcadores epitópicos se usan para la identificación o purificación de la proteína. En esta segunda construcción, los marcadores epitópicos, V5 y el marcador His, están presentes en fase antes del codon de parada.

Las proteínas que normalmente se secretan de manera rutinaria contienen una secuencia de señal hidrófoba en el extremo N-terminal de la proteína. Para las construcciones de estradómero, se usó la secuencia de señal de IgK METDTLLLWVLLLWVPGSTG (SEQ ID NO: 35) que se elimina de la proteína a medida que se creta por células de mamífero, tales como células de ovario de hámster chino. El sitio de escisión previsto se basó en algoritmos para la predicción de señales de sitios de escisión (SignalP 3.0).

Se prepararon construcciones de estradómero adicionales, similares a a) y b) anteriores que contenían la estructura Fc de IgG<sub>1</sub> - Fc de IgG<sub>1</sub> tal como se describe anteriormente (con y sin el marcador epitópico) pero usando el dominio bisagra de IgG<sub>3</sub> en la construcción: Fc de IgG<sub>1</sub> - bisagra de IgG<sub>3</sub> - (CH2-CH3) de IgG<sub>1</sub>.

**Ejemplo 2 - Diseño y ensayo de biomiméticos inmunológicamente activos**

Los IVIG recubiertos y los Fc recubiertos estimulan cambios fenotípicos similares

Cuando se recubre con IVIG y Fc las paredes y fondos de los pocillos de una placa estéril estimulan cambios prácticamente idénticos en los niveles de CD1a y CD86 en DC inmaduras y retrasan la regulación positiva de CD11c. Debido al papel crítico conocido de las DC en ITP, estos datos proporcionan un modelo racional para evaluar la función de miméticos de IVIG tales como estradómeros. También se deduce que el hecho de que los cambios fenotípicos inducidos por las IVIG están completamente recapitulados por Fc recombinante sugiere que los efectos de IVIG en las DC están muy probablemente mediados por Fc.

Generación de estradómero

Se han construido estradómeros de cuatro clases diferentes para imitar los efectos de IVIG en DC inmaduras. Los estradómeros en serie, las unidades de estradómero agrupado que comprenden estradómeros agrupados, las unidades de estradómero de núcleo que comprenden estradómeros de núcleo, y los estradómeros de fragmento Fc mostrados a continuación en la tabla 3 se produjeron cada uno excepto en los casos indicados. Para obtener las secuencias adecuadas para cada una de las construcciones humanas mostradas a continuación, se sintetizó ADNc a partir de ARN total extraído de PBMC humanos. Para obtener esas secuencias de otras especies se purificó ARN del tejido de esas especies. Se usó cebado al azar para producir el ADNc. Se usó el ADNc para amplificar los fragmentos deseados usando PCR para sintetizar, clonar y posteriormente caracterizar mediante análisis de secuencia los fragmentos de ADN. Las construcciones finales se produjeron bien mediante sutura por extensión de salientes con PCR (Horton RM, Hunt HD, Ho SN, Pullen, JK y Pease LR. Engineering hybrid genes without the use of restriction enzymes: gene splicing by overlap extension. Gene 77:61-68, 1989) o se utilizaron sitios de restricción compatibles existentes para fusionar los fragmentos adecuados.

Por ejemplo, en la clonación de G-007, se fusionó directamente el dominio CH4 de IgE al dominio CH2 de IgG1 en el extremo 3' de la proteína. Esto se logró produciendo cebadores que contienen las secuencias solapantes para CH2 de IgG1 (extremo C-terminal) con los aminoácidos N-terminales para CH4 de IgE. En un caso, se usó un cebador híbrido para amplificar 5' con secuencias de IgG1 u se usó el cebador complementario para amplificar con un cebador 3' desde el extremo C terminal de CH4 de IgE. Los productos de estas dos reacciones se mezclaron y se usaron los cebadores flanqueantes para amplificar la proteína de fusión. El análisis de secuencia confirmó la construcción.

En muchos casos, se utilizaron sitios de restricción que estaban presentes de manera conveniente en los extremos de las moléculas que se iban a unir. Cuando los sitios de restricción están en fusión hay secuencias de restricción restantes detectables en los extremos de las secuencias unidas. Esta estrategia se usó para la mayoría de las construcciones mostradas en la tabla 3. Las secuencias de aminoácidos de los estradómeros mostradas en la tabla 3 se proporcionan en la figura 24. Algunas de las secuencias se muestran con marcadores His, que se sabe en la técnica que son útiles para purificar proteínas.

Tabla 3

**Estradómeros en serie**

	<b>N-term</b>	<b>Bis</b>	<b>CH2</b>	<b>CH3</b>	<b>Bis</b>	<b>CH2</b>	<b>CH3</b>
G-003		IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG 1, IgG1	
G-004		IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG 1, IgG	
G-007	IgECh2	IgG1	IgG 1,	IgG 1,	IgG1	IgG 1,	IgECh4
G-011	IgECh2	IgG1	IgG 1,	IgG 1,	IgG1	IgG 1, IgG1	
G-012	IgECh2	IgG1	IgG 1,	IgG 1,	IgG1	IgG 1, IgG1	IgECh4

ES 2 565 834 T3

G-012	IgECh2	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,	IgECh4		
G-014		IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG 1,	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1
G-016		IgG3	IgG3	IgG3	IgG1	IgG 1,	IgG1			
	(x-b) EnzRest									
G-017	enlazador	IgG 1,	IgG	IgG1x-b	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,			
G-023		IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG 1,	IgG1	Ig3H 32/62		
G-024		IgG3	IgG3	IgG3	IgG1	IgG 1,	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1
G-025	107aa	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,						
G-026	107aa	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,			

**Componentes de estradómero de fragmento Fc y de estradómero de núcleo**

	<b>N-Term</b>	<b>Bis</b>	<b>CH2</b>	<b>CH3</b>	<b>Bis</b>	<b>CH2</b>	<b>CH3</b>
G-002		IgG1	IgG1	IgG1			
G-022		IgG1	IgG1	IgG1	IgG3Hing		

**Unidades de estradómero agrupado**

	<b>N-term</b>	<b>Bis</b>	<b>CH2</b>	<b>CH3</b>	<b>Bis</b>	<b>CH2</b>	<b>CH3</b>	
G-008		IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG 1,	IgG1	CH3-CH4-TP de IgM
G-009		IgG1	IgG1	IgG1	IgM	CH3-CH4-TP		
G-010	IgECh2	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,				
G-018		IgG2	IgG2	IgG2	IgG1	IgG 1,	IgG1	
G-019	IgG2Hing	IgG 1,	IgG 1,	IgG				
G-020	IgG2Hing	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG 1,	IgG1	
G-021	IgG2Hing	IgG1	IgG1	IgG1				
G-027	CH2 de IgE - CH2 de IgE	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,				
G-028	ILZ	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,				
G-029	ILZ - CH2 de IgE	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,				
G-030	ILZ	IgG2	IgG2	IgG2	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,	
G-031	ILZ - bis de IgG2	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,				
G-032	ILZ-ILZ	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,				
G-033	bis de IgG2 - CH2 de IgE		IgG 1,	IgG 1,	IgG			
G-034	bis de IgG2 - ILZ	IgG2	IgG2	IgG2	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,	
G-035	bis de IgG2 - bis de IgG2	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,				
G-036	bis de IgG2 - ILZ	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,				

**A producir**

	<b>N-term</b>	<b>H</b>	<b>CH2</b>	<b>CH3</b>	<b>H</b>	<b>CH2</b>	<b>CH3</b>	<b>H</b>	<b>CH2</b>	<b>CH3</b>
401		IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,	IgG3	IgG3	IgG3			
402		IgG3	IgG 1,	IgG 1,	IgG3	IgG 1,	IgG 1,			
403		IgG 1,	IgG3	IgG 1,	IgG 1,	IgG3	IgG 1,			
404		IgG 1,	IgG 1,	IgG3	IgG 1,	IgG 1,	IgG3			
405		IgG3	IgG3	IgG 1,	IgG3	IgG3	IgG 1,			
406		IgG 1,	IgG 1,	ninguno	IgG3	IgG3	ninguno			
407		IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3
408		IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,	IgG3	IgG3	IgG3	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,
409		IgG3	IgG3	IgG3	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,	IgG3	IgG3	IgG3
410		IgG3	IgG 1,	IgG 1,	IgG3	IgG 1,	IgG 1,	IgG3	IgG 1,	IgG 1,
411		IgG3	IgG3	IgG 1,	IgG3	IgG3	IgG 1,	IgG3	IgG3	IgG 1,
412		IgG 1,	IgG 1,	IgG4CH4	IgG3	IgG3	IgG4CH4	IgG 1,	IgG 1,	IgGCH4
413		IgG 1,	IgG 1,		IgG3	IgG3		IgG 1,	IgG 1,	
414		IgG 1,	IgG 1,	IgG1	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,	IgG 1,
415		IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3

Expresión de proteína de estradómero

5 Para la expresión de proteínas de los estradómeros, los ADN de plásmido que codifican los estradómeros descritos anteriormente se transfectaron en células CHO para suspensión (sistema de expresión Freestyle™ MAX CHO, Invitrogen CA). Después de la expresión de proteína, los estradómeros expresados se purificaron a partir del medio de cultivo mediante cromatografía de afinidad en columna usando columnas de afinidad de proteína A o proteína G.

Los estradómeros purificados se analizaron mediante SDS-PAGE (electroforesis en gel de poliacrilamida-dodecilsulfato de sodio) en condiciones reductoras seguido de tinción de azul de Coomasie para confirmar la presencia de bandas de proteína monomérica de tamaño esperado tal como se ejemplifica: G-002: banda de aproximadamente 35KD, G-004: banda de aproximadamente 70KD, G-010: banda de aproximadamente 45KD, G-011: banda de aproximadamente 80KD, G-012: banda de aproximadamente 85KD, G-018: banda de aproximadamente 70KD, G-019: banda de aproximadamente 35KD, G-028: banda de aproximadamente 37KD. El ADN de plásmido que codifica los estradómeros descritos también puede transfectarse en otras células de mamífero, tales como HEK 293, células BHK, NSO murinas, y células SP2/0 murinas.

10 Formación de multímero

Se observó que estas construcciones, cuando se transfectan, cultivan, y purifican pueden crear proteínas del tamaño esperado en análisis de proteínas no desnaturizadas y desnaturizadas. Además, se observó que determinados compuestos también mostraron bandas mayores que según los criterios de tamaño son multímeros de la proteína dimerizada.

La formación de compuestos de orden mayor por estradómeros seleccionados se analizó mediante SDS-PAGE seguido de transferencia de Western en condiciones no reductoras (A) y en condiciones reductoras (B). El análisis de SDS-PAGE muestra la formación de compuestos de alto peso molecular de los estradómeros G-002, G-010, y G-019 en condiciones no reductoras en comparación con las condiciones reductoras:

- G-002: una banda de aproximadamente 35KD en condiciones reductoras - bandas a aproximadamente 70KD (dímero) y 135KD (tetrámero) en condiciones no reductoras.
- G-010: una banda de aproximadamente 45KD en condiciones reductoras - bandas a aproximadamente 90KD (dímero) y 180KD (tetrámero) en condiciones no reductoras.
- G-019: una banda de aproximadamente 35KD en condiciones reductoras - bandas a aproximadamente 70KD (dímero), 140 KD (tetrámero) en condiciones no reductoras.

Se anticipa que los multímeros tetraméricos y otros de orden mayor de la proteína dimerizada contribuirán significativamente a la actividad biológica del compuesto medida mediante el ensayo de células dendríticas inmaduras (véase más adelante).

Los monómeros de estradómero, estradómeros y multímeros de orden mayor de estradómeros mantienen sitios de reconocimiento

Cada una de las proteínas en la tabla 3 se reconocen por una IgG de conejo anti-humano (Fc) [Thermo Scientific 31789]. A partir de esto se deduce que cada una de estas proteínas mantiene los sitios de reconocimiento para este anticuerpo.

Obtención de imágenes por resonancia de plasmón

Se evaluó la capacidad de los estradómeros en la tabla 3 para unirse a FcγRIIIa usando tecnología de resonancia de plasmón superficial (SPR) (disponible comercialmente a través de Biacore®). Se inmovilizó directamente FcγRIIIa humano mediante acoplamiento de amina a un chip Biacore CM5 diluyendo el ligando en acetato a pH 5,0 a una concentración de 5 ug/ml. Los ligandos se perfundieron en celdas de flujo específicas a una velocidad de 5 ul/min hasta que se alcanzó una UR de 250. Las celdas de flujo se bloquearon entonces con etanolamina. Los estradómeros e IVIG se diluyeron a 1000 nM en HBS-EP (HEPES 0,01 M, pH 7,4; NaCl 0,15 M; EDTA 3 mM; tensioactivo P20 al 0,005 %) y se diluyeron en serie a 500 nM, 250 nM, 125 nM y finalmente a 62,5 nM. También se incluyó una muestra inicial que contenía solo tampón (HBS-EP). Se usó un caudal de 20 ul/min para todas las muestras. Se inyectaron un total de 60 ul de muestra, durante un tiempo de inyección de 3 minutos. La regeneración se logró perfundiendo tampón de ejecución sobre las celdas de flujo durante un periodo de tiempo prolongado de aproximadamente 10 minutos.

A 500 nM, la Req medida (equilibrio), en relación a la inicial para la construcción de estradómero G-010 fue de 24,9 UR cuando se perfundió en FcγRIIIa humano, y la KD fue de 1,95e-7 usando un modelo de unión 1:1. IVIG a 500 nM en FcγRIIIa humano dio una Req de 63,6 UR y una KD de 1,89e-7 usando un modelo de unión 1:1. Por lo tanto se determinó que G-010 se une a FcγRIIIa. Se ha determinado una capacidad de unión similar en otros compuestos biomiméticos. A continuación se presentan algunos ejemplos adicionales:

	Transferencia de masa w 1:1				Ajuste bivalente	
	Rmax	Chi2	KD(M)	KA(1/M)	Rmax	Chi2
<u>Controles:</u>						
Neg. (IgG2a de ratón)	2,05	0,451	4,7e-9	2.1e8	5,21	0,39
Pos. (IVIG)	87,7	6,8	1,9e-7	5.3e6		

Biomiméticos:

002	6,46	1,12	2,2e-8	4.9e7	16,7	0,82
004	30,2	1,74	4,8e-8	2.5e7	88,2	2,47
011	25,9	0,361	5,5e-6	1.8e7	57,4	0,15

Se deduce que estas proteínas tienen diversas capacidades de unión a FcγRIIIa recombinante mediante análisis de resonancia de plasmón y que determinados compuestos, tales como G-010 tienen una curva de ajuste bivalente, lo que es coherente con lo observado con anticuerpos bivalentes e indica que el estradómero puede tener unión a FcγRIIIa multivalente.

Los estradómeros imitan el efecto biológico de IVIG

Se evaluó la función biológica de estos estradómeros. Para determinar la capacidad de cada uno de los estradómeros en la tabla 3 para imitar la utilidad funcional de IVIG en individuos con ITP, se desarrolló un ensayo *in vitro* usando células dendríticas inmaduras (iDC). El razonamiento para seleccionar las iDC como células diana se basó en datos publicados que demuestran que la transferencia adoptiva de DC de ratones tratados con IVIG, confirió protección contra el desarrollo de ITP a animales no expuestos previamente. (Siragam, V. et al. Intravenous immunoglobulin ameliorates ITP via activating Fc[γ] receptors on dendritic cells. Nat Med 12, 688 (2006)). En nuestros estudios iniciales, se evaluó el impacto de Fc recombinante (rFc) e IVIG recubiertos, lo que significa fijados a la placa, en la expresión de diversos marcadores de activación, maduración y coestimuladores en células CD14+ humanas, cultivadas en presencia de IL-4 y GM-CSF. Cuando se compara con células cultivadas solo con citocinas, las células expuestas a IVIG recubierto o rFc recubierto demostraron una potenciación sorprendente de la expresión de CD86 y una regulación negativa de la expresión de CD1a así como un retraso en la regulación positiva de CD11c.

A continuación, se determinó si los estradómeros en la tabla 3 imitaban el efecto descrito de IVIG recubierto o Fc recubierto en las iDC. Los siguientes compuestos imitaron el efecto cuando se recubrieron sobre las paredes y fondos de los pocillos de la placa: G-002, G-004, G-005, G-014, G-018, e G-019. Los siguientes compuestos no imitaron el efecto cuando se recubrieron sobre las paredes y fondos de los pocillos de la placa: G-010, G-011, y G-012.

Estos compuestos cuando se encontraban en forma soluble imitaron el efecto de IVIG recubierto o Fc recubierto en las iDC: G-002, G-010, G-014, G-018, e G-019. Estos compuestos cuando se encontraban en forma soluble no imitaron el efecto: G-004, G-005, G-011, y G-012.

Puede ensayarse si la exposición de iDC a IVIG recubierto podría influenciar las respuestas posteriores a estímulos proinflamatorios.

A partir de estos datos se extraen las siguientes conclusiones:

i. que estradómeros seleccionados, cuando se recubren sobre una placa de cultivo tisular, imitan la capacidad funcional de IVIG recubierto para regular positivamente a CD86 y suprimen la expresión de CD1a en DC inmaduras,

ii. que los estradómeros seleccionados administrados a una baja dosis en una forma soluble imitan la capacidad funcional de IVIG recubierto para regular positivamente a CD86 y para suprimir la expresión de CD1a en iDC,

iii. que determinados estradómeros pueden inducir cambios fenotípicos en forma tanto soluble como recubierta y que otros estradómeros, tales como G-010, pueden inducir cambio fenotípico en una forma soluble, pero no en una recubierta,

iv. que los estradómeros de diferentes estructuras pueden ser biológicamente activos, tal como se evidencia por el estradómero de fragmento Fc formado a partir de G-002 y el estradómero agrupado formado a partir de G-010,

v. que se observan estructuras mayores de las esperadas mediante dimerización de monómeros de estradómero en análisis de proteínas y que estas estructuras multiméricas pueden corresponder con actividad biológica en comparación con IVIG, y

vi. que los estradómeros formados a partir de monómeros de estradómero dimerizados pueden demostrar un ajuste bivalente en resonancia de plasmón, lo que es coherente con la unión de múltiples receptores Fcγ y sugiere la presencia de múltiples estructuras terciarias de los estradómeros.

Ejemplo 3 - Los biomiméticos agregados por calor son más potentes que IVIG

Un estradómero es un mimético biológicamente activo de inmunoglobulinas agregado y especialmente de los

fragmentos Fc agregados de aquellas inmunoglobulinas. En algunos casos, la agregación por calor de los biomiméticos descritos en el presente documento puede aumentar la actividad biológica. Se deduce que los biomiméticos agregados por calor tal como se describen en el presente documento pueden ser tan potentes como IVIG.

5

#### **Ejemplo 4 - El fragmento Fc muestra varias actividades**

El fragmento Fc se ha usado como control positivo en los experimentos descritos anteriormente en los que la proteína se recubre y por lo tanto se fija a plástico, mostrando de este modo un comportamiento biológico que imita a IVIG recubiertos. El fragmento Fc también puede usarse como estradómero de núcleo, tal como cuando se une a restos de núcleo, tales como un liposoma, una perla, o albúmina. Además, se ha demostrado que el fragmento Fc, cuando se cultiva en determinados sistemas de expresión y determinados tipos celulares, tal como el sistema de transfección transitoria FreestyleMax de Invitrogen usando células CHO-S, puede formar multímeros de mayor orden en análisis de proteínas, mostrar un patrón de unión bivalente en obtención de imágenes de resonancia de plasmón, y muestran una actividad biológica profunda en forma soluble comparable a la de IVIG recubierto en el ensayo de DC inmaduras. Por lo tanto se deduce que en determinadas condiciones cuidadosamente controladas, el fragmento Fc forma un estradómero de fragmento Fc. Este efecto puede deberse a modificaciones postraduccionales, tales como cambios de glucosilación.

10

15

20

#### **Ejemplo 5 - Un estradómero de núcleo que es una perla recubierta con Fc puede alterar el potencial fagocítico en relación a perlas no recubiertas**

Se aíslan PBMC a partir de la capa leucocitaria de donantes sanos usando centrifugación de gradiente de densidad de Ficoll-Hypaque. Tras el aislamiento, se lavan las PBMC dos veces con PBS. Entonces se purifican las células CD14+ usando una columna de separación MACS (Miltenyi). Las células purificadas se cuentan y resuspenden a  $2 \times 10^5$ /ml en medio completo RPMI que contiene 800 ug/ml de GM-CSF y 5 ng/ml de IL-4. Entonces se siembran las células en los pocillos de placas de cultivo de 6 pocillos no de cultivo tisular pero estériles. Después de sembrar las células CD14+ en el cultivo no tisular, se añaden microesferas de FITC poliestireno (0,52 um) recubiertas con o sin cantidades saturantes de Fc o IVIG a las células a una proporción 1:1 y se incuban durante 6 días a 37°C, CO<sub>2</sub> al 5,0 % CO<sub>2</sub> y después se analizan respecto de fagocitosis de microesferas mediante FACS.

25

30

Tanto las perlas recubiertas con IVIG como las perlas recubiertas con Fc actúan como estradómeros de núcleo y pueden alterar por lo tanto el potencial fagocítico en relación a las perlas no recubiertas.

35

#### **Ejemplo 6 - Diseño de biomiméticos inmunológicamente activos con afinidades de unión a FcγRIII alteradas**

Se ha demostrado que un conjunto de restos compartido de IgG1 está implicado en la unión a todos los FcγR. También se ha demostrado que restos adicionales en moléculas de IgG1 están implicados en la unión tanto a FcγRII como a FcγRIII. Cuando se alteraron algunos restos inhibieron la unión de uno o más receptores. Interesantemente, la mutación doble S298A/K334A específica potenció la unión de FcγIIIa y redujo la unión a FcγIIb. Esos restos se han destacado en la construcción de estradómero mostrada en la figura 16 (usando un asterisco en ambos aminoácidos). Por lo tanto se puede usar mutagénesis de sitio dirigido para generar una molécula de estradómero que tenga la estructura codificada por la SEQ ID NO: 17 pero con las correspondientes mutaciones S298A/K334A.

40

45

#### **Ejemplo 7 - Expresión de proteínas recombinantes**

Existen numerosos sistemas de expresión que son adecuados para su uso en la producción de las composiciones discutidas anteriormente. Pueden usarse en particular sistemas basados en eucariotas para producir secuencias de ácido nucleico, o sus polipéptidos, proteínas y péptidos afines. Muchos de estos sistemas están disponibles ampliamente y comercialmente.

50

En una realización preferida, los estradómeros descritos en el presente documento se producen usando células de ovario de hámster chino (CHO) que están bien establecidas para la producción recombinante de proteínas de inmunoglobulina siguiendo protocolos convencionales. Como alternativa, por ejemplo, pueden utilizarse animales transgénicos para producir los estradómeros humanos descritos en el presente documento, generalmente mediante expresión en la leche del animal usando técnicas de animales transgénicos bien establecidas. Lonberg N. Human antibodies from transgenic animals. Nat Biotechnol. septiembre de 2005;23(9):1117-25; Kipriyanov SM, Le Gall F. Generation and production of engineered antibodies. Mol Biotechnol. enero de 2004;26(1):39-60; Véase también Ko K, Koprowski H. Plant biopharming of monoclonal antibodies. Virus Res. julio de 2005;111(1):93-100.

55

60

El sistema de células de insecto/baculovirus puede producir un alto nivel de expresión de proteínas de un segmento de ácido nucleico heterólogo, tal como se describe en las Patentes de Estados Unidos n.º 5.871.986, 4.879.236, y que puede adquirirse, por ejemplo, con el nombre MAXBAC® 2.0 de INVITROGEN® y BACPACK™ BACULOVIRUS EXPRESSION SYSTEM DE CLONTECH®.

65

Otros ejemplos de sistemas de expresión incluyen el sistema de expresión inducible en mamíferos COMPLETE

CONTROL de STRATAGENE®, que utiliza un receptor inducible por ecdisona sintético. Otro ejemplo de un sistema de expresión inducible está disponible a través de INVITROGEN®, que porta el sistema T-REX™ (expresión regulada por tetraciclina), un sistema de expresión en mamíferos inducible que usa el promotor de CMV de longitud completa. INVITROGEN® también proporciona un sistema de expresión en levadura denominado sistema de expresión de *Pichia methanolica*, que está diseñado para la producción de alto nivel de proteínas recombinantes en la levadura metilotrófica *Pichia methanolica*. Un experto en la materia podría saber cómo expresar vectores, tales como una construcción de expresión descrita en el presente documento, para producir su secuencia de ácido nucleico codificada o su polipéptido, proteína, o péptido afin. Véase, en general, Recombinant Gene Expression Protocols por Rocky S. Tuan, Humana Press (1997), ISBN 0896033333; Advanced Technologies for Biopharmaceutical Processing por Roshni L. Dutton, Jenö M. Scharer, Blackwell Publishing (2007), ISBN 0813805171; Recombinant Protein Production With Prokaryotic and Eukaryotic Cells By Otto-Wilhelm Mrcrtn, Contributor European Federation of Biotechnology, Section on Microbial Physiology Staff, Springer (2001), ISBN 0792371372.

#### 15 **Ejemplo 8 - Expresión y purificación de biomiméticos inmunológicamente activos**

Las construcciones de ácido nucleico descritas en los ejemplos 1 y 2 se transfectan en líneas celulares que no expresan naturalmente Ig. Los polipéptidos codificados se expresan como proteínas secretadas debido a su secuencias líder secretoras, que generalmente se eliminan mediante proteasas endógenas durante el transporte al exterior de las células o pueden escindir y eliminarse posteriormente mediante técnicas bien conocidas en la materia. Estos biomiméticos inmunológicamente activos secretados se purifican usando estrategias cromatográficas de proteína A o de marcador His bien conocidas en la técnica y se verifica el tamaño mediante SDS PAGE reductora y/o no reductora (electroforesis en gel de poliacrilamida-dodecilsulfato de sodio).

#### 25 **Ejemplo 9 - Expresión y purificación de biomiméticos inmunológicamente activos para producción a gran escala**

Aunque pueden usarse diversos sistemas para producir grandes cantidades de una proteína específica, incluyendo bacterias, células de insecto o levaduras, la expresión en células de mamífero puede minimizar los problemas debido a la glucosilación alterada de las proteínas. Las células de mamífero, tales como las células CHO se han usado para sobreproducir varias proteínas fusionadas a un armazón de Ig. El dominio Fc en la construcción se convierte en un marcador que permite la posterior purificación del sobrenadante celular usando purificación en columna de afinidad (Harris, CL, DM Lublin y BP Morgan Efficient generation of monoclonal antibodies for specific protein domains using recombinant immunoglobulin fusion proteins: pitfalls and solutions., J. Immunol. Methods 268:245-258, 2002). Muchas proteínas de fusión se clonan directamente en fase con la región constante de Ig, específicamente los monómeros de dominio Fc parcial de CH2 y CH3. Se ha usado un ejemplo específico de expresión de dominio extracelular de receptor de interferón gamma que se expresa con Ig para producir grandes cantidades de la proteína con actividad funcional (Fountoulakis, M, C. Mesa, G. Schmid, R. Gentz, M. Manneberg, M. Zulauf, Z. Dembic y G. Garotta, Interferon gamma receptor extracellular domain expressed as IgG fusion protein in Chinese hamster ovary cells: Purification, biochemical, characterization and stoichiometry of binding, J. Biol. Chem., 270:3958-3964, 1995).

#### 40 **Ejemplo 10 - Diseño de biomiméticos inmunológicamente activos con glucosilación de Fc alterada**

Mediante un método esencialmente igual al descrito por Shields et al. con respecto a homo-anticuerpos, pueden producirse dominios Fc defucosilados en células CHO mutantes que carecen de actividad enzimática para añadir fucosa a carbohidratos de proteínas. Estos se usan para expresar estradómeros con afinidades de unión a FcγRIII más fuertes en relación a una forma fucosilada de la misma molécula. (Robert L. Shields, et al. Lack of Fucose on Human IgG 1 N-Linked Oligosaccharide Improves Binding to Human Fc RIII and Antibody-dependent Cellular Toxicity. J. Biol. Chem., Julio de 2002; 277: 26733 - 26740 (doi:10.1074/jbc.M202069200)).

Se ha demostrado que los cambios en la sialilación en el N-glucano de Fc puede aumentar la actividad biológica. Kaneko Y, Nimmerjahn F, Ravetch JV. Science. 4 de agosto de 2006;313(5787):627-8. Por lo tanto pueden producirse moléculas de estradómero que tienen sialilación alterada usando métodos similares.

Los medios alternativos para alterar la glucosilación de dominios Fc de estradómeros incluyen técnicas quimioenzimáticas para producir polipéptidos con una estructura de glucosilación específica. Véase, Li, B., Song, H., Hauser, S., y Wang, L. X. 2006. A Highly Efficient Chemoenzymatic Approach Toward Glycoprotein Synthesis. Org. Lett. 8:3081-3084; Véase, también la Solicitud Internacional de Patente n.º PCT/US07/70818.

#### 60 **Ejemplo 11 - Construcciones de fusión de polimorfismo de FcγRIIIa (176 V/F)**

Tal como se ha discutido anteriormente, la actividad antiinflamatoria de IVIG es dependiente de las interacciones primarias entre el dominio Fc y FcγRIIIa. Estas interacciones pueden cuantificarse de manera eficaz usando tecnología SPR para caracterizar las constantes tanto de asociación como de disociación de los biomiméticos inmunológicamente activos con las dos variantes polimórficas reconocidas de FcγRIIIa (176 V/F). Para definir la afinidad de unión y la disociación de las presentes construcciones de control monoméricas y de estradómero de

dominio Fc, se producirán proteínas de fusión FcγRIIIa-marcador HIS en células CHO con variantes polimórficas tanto V (SEQ ID NO: 33) como F (SEQ ID NO: 31) en la posición 176 (figura 20). Estas secuencias pueden ponerse en pCDNA 3.1 y transfectarse en células CHO. Estas proteínas de fusión de FcγRIIIa se purifican a partir de los sobrenadantes de células transfectadas usando columnas de afinidad de Ni<sup>2+</sup> para purificar las proteínas. Todas las proteínas de fusión de FcγRIIIa se caracterizan tanto mediante secuenciación de ADNc como por SDS PAGE.

Pueden utilizarse otros diversos protocolos en la técnica para expresar FcγRIIIa y caracterizar interacciones con biomimético inmunológicamente activo. Véase, por ejemplo, la sección de materiales y métodos de Robert L. Shields, et al. High Resolution Mapping of the Binding Site on Human IgG 1 for FcγRI, FcγRII, FcγRIII, and FcRn and Design of IgG 1 Variants with Improved Binding to the FcγR. J. Biol. Chem., Feb de 2001; 276: 6591 - 6604 (doi:10.1074/jbc.M009483200).

#### **Ejemplo 12 - Exploración de la función de biomiméticos inmunológicamente activos *in vitro***

Para probar la función de los biomiméticos inmunológicamente activos tales como aquellos expresados en el ejemplo 1, se diseña un ensayo *in vitro* para recapitular el mecanismo mediante el cual parece que los dominios nativos de Fc reducen la inflamación *in vivo*. Recientemente se ha demostrado que hIVIG inhibe la maduración de DC y altera la secreción de IL-10, IL-12 y TNF-alfa (Bayry, J, et al., Inhibition of maturation and function of dendritic cells by intravenous immunoglobulin, Blood 101(2):758-765(2003)). Los presentes estradómeros median efectos en DC similares a hIVIG. La inhibición de la maduración de DC y las alteraciones en la secreción de citocinas *in vivo* puede servir como medio eficaz para definir algunas de las actividades biológicas de muchas construcciones de estradómero. Las construcciones de estradómero descritas anteriormente pueden validarse adicionalmente usando los siguientes parámetros experimentales:

Tabla 4

Grupo	Condición experimental	Medida de resultado 1 (FACS)	Medida de resultado 2 ELISA/Elispot
1	Ninguno	CD1a, 14,40,80,83,86, HLADR	IL-10, IL-12, TNFa, IL-23
2	IVIG soluble	CD1a, 14,40,80,83,86, HLADR	IL-10, IL-12, TNFa, IL-23
3	IVIG fijo	CD1a, 14,40,80,83,86, HLADR	IL-10, IL-12, TNFa, IL-23
4	Fc soluble	CD1a, 14,40,80,83,86, HLADR	IL-10, IL-12, TNFa, IL-23
5	Fc fijo	CD1a, 14,40,80,83,86, HLADR	IL-10, IL-12, TNFa, IL-23
6	Estradómero soluble	CD1a, 14,40,80,83,86, HLADR	IL-10, IL-12, TNFa, IL-23
7	Estradómero fijo	CD1a, 14,40,80,83,86, HLADR	IL-10, IL-12, TNFa, IL-23

En un ensayo *in vitro* preferido mostrado en la tabla 4, se mide el impacto en el fenotipo de DC humanas de biomiméticos solubles inmunológicamente activos que tienen afinidades de unión adecuadas. Las construcciones de dominio Fc de secuencia natural no reticuladas pueden servir como controles. Se evalúan marcadores de DC específicos en la superficie de DC incluyendo marcadores de activación (CD80, CD83 y CD86) así como los FcγR. Véase Prechtel AT, Turza NM, Theodoridis AA, Steinkasserer A. CD83 knockdown in monocyte-derived DCs by small interfering RNA leads to a diminished T cell stimulation. J Immunol. 2007 May 1;178(9):5454-64. Además, puede emplearse análisis multicanal para evaluar el impacto de los presentes biomiméticos inmunológicamente activos en la producción de citocinas de DC. Jongbloed, Sarah L., et al. Enumeration and phenotypic analysis of distinct dendritic cell subsets in psoriatic arthritis and rheumatoid arthritis. Arthritis Res Ther. 2006; 8(1): R15 (Publicado online el 16 de diciembre de 2005. doi: 10.1186/ar1864). Finalmente, para confirmar que las DC interactúan con los monocitos de la manera esperada, se cultivan DC de control y DC expuestas a biomiméticos inmunológicamente activos con monocitos purificados y se evalúan mediante citometría de flujo respecto de cambios en los niveles de receptores FcγRIIa activantes y otros determinantes de la superficie celular relacionados con el estado de activación de los monocitos.

En realizaciones particulares, los estradómeros pueden reducir los receptores FcγRIIa presentes en una célula inmunitaria, aumentando de este modo la relación de receptores FcγRIIb inhibidores a receptores FcγRIIa que da como resultado la inhibición de las funciones celulares inmunitarias.

#### **Ejemplo 13 - Exploración de la función de biomiméticos inmunológicamente activos *in vivo***

Numerosas enfermedades autoinmunitarias, tales como la púrpura trombocitopénica idiopática, esclerosis múltiple, asma, y enfermedades inflamatorias del intestino tienen modelos animales establecidos reconocidos en la técnica para ensayos *in vivo*. Wu GF, Laufer TM. The role of dendritic cells in multiple sclerosis. Curr Neurol Neurosci Rep. mayo de 2007;7(3):245-52; Targan SR, Karp LC. Defects in mucosal immunity leading to ulcerative colitis. Immunol Rev. 2005 Aug;206:296-305. Por ejemplo, actualmente hay múltiples modelos de ITP. Véase, por ejemplo, Crow AR, et al. IVIG inhibits reticuloendothelial system function and ameliorates murine passive immune thrombocytopenia independent of anti-idiotypic reactivity. Br J Haematol. 2001;115:679-686. Los biomiméticos inmunológicamente activos diseñados para modular el sistema inmunitario, según sea adecuado para cada enfermedad autoinmunitaria específica, pueden validarse en dichos modelos *in vivo*. De manera importante, en muchos de estos modelos, la administración de hIVIG da como resultado probablemente una respuesta anti-anticuerpo humano en una especie

exógena (por ejemplo, ratón) que tiene el potencial de oscurecer o crear efectos antiinflamatorios relacionados con el producto falsos positivos.

Se estableció un modelo de ratón de púrpura trombocitopénica idiopática de acuerdo con la siguiente metodología:  
 5 Los recuentos de plaquetas se midieron en ratones C57BL6 mediante sucesivas punciones en la cola. Se diluyeron 10 ul de sangre en 15 ul de tampón citrato. Entonces se analizaron las muestras respecto del recuento absoluto de plaquetas en un citómetro HemaVet 950. Para los ratones en un grupo de control de ITP, comenzando en el día 2, se eliminaron las plaquetas cada tarde administrando una inyección intraperitoneal de 2 ug de anticuerpo de rata anti-CD41 de ratón (MWReg30), un anticuerpo anti-plaquetas de BD Biosciences pharmigen. Los ratones en el  
 10 grupo de control de pretratamiento de IVIG recibió 2 g/kg (40 mg/ratón) de IVIG humana mediante inyección i.p. cada mañana y la misma dosis de MWReg30 que el grupo de control de ITP. Se determinó que IVIG es altamente protector del recuento de plaquetas en este modelo de ITP inducida y se concluyó que este modelo es útil para ensayar estradómeros frente a IVIG respecto del grado relativo de protección frente a reducciones en el recuento de plaquetas. Puede evaluarse un estradómero en este modelo a varias concentraciones para evaluar la protección en  
 15 relación a IVIG del modo siguiente:

Grupos en un experimento

- 1) Control - sin ITP, sin IVIG
- 2) grupo de control de ITP - 2 ug de MWReg30 cada mañana comenzando en el día 2
- 3) grupo de pretratamiento de IVIG - 40mg de IVIG cada mañana y 2 ug de MWReg30 cada tarde comenzando en el día 2
- 4) Estradómero equivalente a  $10^{12}$  dominios Fc por vía IV cada mañana
- 5) Estradómero equivalente a  $10^{11}$  dominios Fc por vía IV cada mañana
- 25 6) Estradómero equivalente a  $10^{10}$  dominios Fc por vía IV cada mañana
- 7) Estradómero equivalente a  $10^9$  dominios Fc por vía IV cada mañana
- 8) Estradómero equivalente a  $10^8$  dominios Fc por vía IV cada mañana
- 9) Estradómero equivalente a  $10^7$  dominios Fc por vía IV cada mañana
- 30 10) Estradómero equivalente a  $10^6$  dominios Fc por vía IV cada mañana

**Ejemplo 14 - Validación de la eficacia de biomiméticos inmunológicamente activos *in vivo* para tratar la ITP**

En otro modelo murino de ITP, pueden usarse ratones deficientes en la función de células B normales. La deficiencia en la función normal de células B sirve para eliminar los efectos idiotipo-anti idiotipo de anticuerpos anti-fragmento Fc humano murinos que podrían generarse mediante la administración de fragmento Fc humano o fragmento Fc parcial a un ratón y los consiguientes resultados falsos positivos. Puede generarse la deficiencia en la función de células B, por ejemplo, mediante la administración de anticuerpos anti-células B o sucede en ratones diseñados por ingeniería genética, tales como los ratones con *knockout* de cadena m (Jackson Labs, cepa B6.129S2- Igh-6<sup>tm1C9n</sup>/J) que son deficientes para células B maduras.

El sistema inmunitario de los ratones inmunodeficientes se reconstruye con PBMC no modificados o empobrecidos en células B de animales inmunocompetentes. Estos animales se tratan posteriormente con anticuerpos anti-plaquetas para imitar la ITP usando técnicas bien definidas en la materia. Entonces se trata a los animales con biomiméticos inmunológicamente activos de acuerdo con siguiente esquema:

Tabla 5. Eficacia *in vivo* de biomiméticos inmunológicamente activos de [dominio Fc de hlgG<sub>1</sub> - dominio Fc de hlgG<sub>1</sub>] (SEQ ID NO: 22) para el tratamiento de ITP.

Grupo	Animal n.º	PBMC usados para reconstituir a ratones	Tratamiento	Medida del resultado
1	5	Ninguno	Fc de IgG 1	Recuento de plaquetas
2	5	Ninguno	Estradómero de Fc de IgG1 - Fc de IgG1	Recuento de plaquetas
3	5	No modificado	Fc de IgG 1	Recuento de plaquetas
4	5	No modificado	Estradómero de Fc de IgG1 - Fc de IgG1	Recuento de plaquetas
5	5	Células B eliminadas	Fc de IgG 1	Recuento de plaquetas
6	5	Células B eliminadas	Estradómero de Fc de IgG1 - Fc de IgG1	Recuento de plaquetas
7	5	No modificado	hIVIG	Recuento de plaquetas

Se anticipa que los grupos 1 y 2 no desarrollarán ITP tras la infusión de anticuerpo ya que no tienen las células B



para producir anticuerpos anti-plaquetas necesarios para la destrucción de las plaquetas. En los grupos 3 y 4, se espera que el polipéptido de estradómero {Fc de hlgG<sub>1</sub> - Fc de hlgG<sub>1</sub>} y el polipéptido de monómero de Fc de hlgG<sub>1</sub> mejora de manera eficaz la ITP porque los anticuerpos murinos endógenos reaccionan con epítomos de dominio Fc de hlgG<sub>1</sub> para reticular los polipéptidos de monómero de Fc de hlgG<sub>1</sub>. Por el contrario, en ausencia de anticuerpos murinos endógenos, el polipéptido de estradómero de {Fc de hlgG<sub>1</sub> - Fc de hlgG<sub>1</sub>} (grupo 6) es más eficaz que el polipéptido de monómero de Fc de hlgG<sub>1</sub> no reticulado (grupo 5) para mejorar la ITP. El grupo 7 sirve como control positivo para el efecto del tratamiento.

**Ejemplo 15 - Tratamiento de pacientes con ITP usando formulaciones intravenosas de proteínas de estradómero (SEQ ID NO: 18 y 22)**

Los protocolos de tratamiento para la ITP con las proteínas de estradómero ejemplares codificadas por las SEQ ID NO: 17 y 21 se utilizan de un modo siguiendo las guías convencionales para la terapia de ITP con hIVIG, tales como la guía práctica del Executive Committee of the American Society of Hematology para el diagnóstico y gestión de la púrpura trombocitopénica inmune primaria. Véase George, JN, et al. Idiopathic thrombocytopenic purpura: a practice guideline developed by explicit methods for the American Society of Hematology. Blood. 1 de jul de 1996;88(1):3-40; Véanse también las guías de 2000 de los hematólogos pediátricos italianos, las guías de 2003 de los hematólogos británicos y las guías de 2006 de los hematólogos pediátricos japoneses. Como alternativa, los protocolos de estradómero por vía IV para la ITP pueden incluir una fase de administración inicial con dosificaciones de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,001 veces las dosificaciones del protocolo de tratamiento anterior. La fase inicial de baja dosis está diseñada para minimizar cualquier efecto proinflamatorio a corto plazo de la administración del estradómero mientras que sigue siendo suficiente para inducir un efecto antiinflamatorio a largo plazo, que posteriormente se potencia y mantiene mediante la dosificación convencional de segunda fase descrita anteriormente. El razonamiento para esta estrategia alternativa es que algunas realizaciones de un estradómero pueden tener tanto un efecto inflamatorio a corto plazo como un efecto antiinflamatorio a largo plazo mediante la disminución de la expresión de FcγRIIa. Una baja dosis inicial (o bajas dosis iniciales) puede usarse para estimular el efecto antiinflamatorio a largo plazo a la vez que se minimiza el efecto inflamatorio a corto plazo.

La dosis de estradómero eficaz es generalmente de aproximadamente el 0,01 % a aproximadamente el 15 % de la dosis eficaz de hIVIG, más preferentemente, de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 3 % de la dosis eficaz de hIVIG. La dosis eficaz de hIVIG en la ITP se encuentra generalmente en el intervalo de aproximadamente 100 mg/Kg a aproximadamente 2 gramos/Kg administrados cada 10 - 21 días.

La formulación intravenosa de estradómero será sustancialmente la misma que la de las formulaciones de hIVIG aprobadas por la FDA pero puede excluir los estabilizantes presentes en algunas formulaciones de hIVIG. Véase, por ejemplo, el prospecto de Gammagard S/D, distribuido por Baxter Healthcare Corporation y aprobado para la terapia de la ITP por la FDA.

**Ejemplo 16 - Tratamiento de pacientes con ITP usando administración intraperitoneal de un estradómero de núcleo**

Los protocolos de tratamiento para la ITP con proteínas de estradómero ejemplares que representan fragmentos Fc fijados a un resto de núcleo, tal como un liposoma, se utilizan mediante administración intraperitoneal con dosificaciones de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 0,001 % de las dosificaciones del protocolo de IVIG intravenoso convencional. El razonamiento para esta estrategia alternativa es que los estradómeros de núcleo compuestos de fragmentos Fc fijados administrados en una formulación estable en la cavidad intraperitoneal dejarán disponibles múltiples dominios Fc para que afecten a células efectoras derivadas de monocitos de manera similar a IVIG pero a dosis sustancialmente menores.

**Ejemplo 17 - Diseño de biomiméticos inmunológicamente activos (estrado-cuerpos)**

Se han construido y transfectados dos estrado-cuerpos. Para cada estrado-cuerpo, se sintetizó el ADNc codificante a partir de ARN total producido a partir de líneas celulares de hibridoma que expresan el anticuerpo de interés. El establecimiento de líneas celulares de hibridoma se conoce bien en la técnica. La amplificación del ADNc de interés que codifica las regiones variables ligeras y pesadas de anticuerpo se llevó a cabo mediante el kit de amplificación BD SMART™ RACE (Clontech CA). Hay disponibles numerosos otros métodos para generar ADNc que codifica las cadenas ligera y pesada para regiones variables de anticuerpo (Sassano, M. et. al., 1994. Nucleic Acids Res. 11 de mayo;22(9):1768-9; Jones, S.T., Bendig, M.M., 1991. Biotechnology (NY) Jan: 9(1):88-9.) Para generar los estrado-cuerpos, se fusionan las regiones variables de cadena pesada a las construcciones de estradómero bien mediante sutura mediante extensión de salientes con PCR (Hutton y Pease) o utilizando sitios de restricción compatibles existentes para fusionar los fragmentos adecuados. Las proteínas de estrado-cuerpo se expresan en células CHO-S y se aíslan de los sobrenadantes celulares mediante purificación por afinidad en columna de proteína A. La unión de los estrado-cuerpos purificados al antígeno de interés se confirma mediante estudios de unión de citometría de flujo utilizando líneas celulares que expresan el antígeno.

Se emplea un ensayo de ADCC convencional que emplea células NK como células efectoras y tumorales expresoras de antígeno como dianas a varias proporciones de efector a diana para comparar el potencial del

estrado cuerpo y del anticuerpo monoclonal (Acm) que comparte la misma región Fab para inducir ADCC contra líneas celulares tumorales que expresan mucho y poco antígeno. Se seleccionan para desarrollo los estrado cuerpos que muestran resultados similares al Acm emparejado en el ensayo de NK contra la línea celular alta expresora de epítipo pero resultados superiores para el Acm emparejado en el ensayo de NK contra la línea celular baja expresora de epítipo.

**Ejemplo 18 - Tratamiento de pacientes con cáncer de mama usando formulaciones intravenosas de estrado cuerpo que contiene el dominio de unión a antígeno de Trastuzumab**

Los protocolos de tratamiento para el cáncer de mama con el estrado cuerpo ejemplar que contiene un Fab que es o es similar al Fab del producto comercializado Trastuzumab que tienen actividad contra el epítipo her2/neu se utilizan siguiendo orientaciones convencionales para la terapia del cáncer de mama. Véase Romond, EH et. al. Trastuzumab plus Adjuvant Chemotherapy for Operable HER2-Positive Breast Cancer. NEJM. 20 de octubre de 2005; 353:1673-1684; Seidman, AD et. al. Weekly Trastuzumab y Paclitaxel Therapy for Metastatic Breast Cancer With Analysis of Efficacy by HER2 Immunophenotype and Gene Amplification. Journal of Clinical Oncology. Vol 19, 10ª edición (Mayo), 2001: 2587-2595; Vogel, CL et. al. Journal of Clinical Oncology. Vol 20, 3ª edición (Febrero), 2002:719-726

Se anticipa que la dosis de estrado cuerpo eficaz variará generalmente de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 500 % del anticuerpo monoclonal eficaz cuyo Fab es igual que el del estrado cuerpo, más preferentemente, de aproximadamente el 50 % a aproximadamente el 100 % de la dosis eficaz de anticuerpo monoclonal. La dosis de anticuerpo monoclonal eficaz en el tratamiento clínico del cáncer varía. Para el anticuerpo monoclonal de Her-2 neu, la dosis se encuentra generalmente en el intervalo de aproximadamente 2 mg/kg a aproximadamente 4 mg/kg administrado cada 7 - 21 días.

**Ejemplo 19 - Tratamiento de pacientes con cáncer de cabeza y cuello o de colon usando formulaciones intravenosas de estrado cuerpo que contiene el dominio de unión a antígeno de Cetuximab**

Se anticipa que los protocolos de tratamiento para el cáncer de mama con el estrado cuerpo ejemplar que contiene un Fab que es o es similar al Fab del producto comercializado cetuximab que tiene actividad contra el epítipo de EGFR puede utilizarse siguiendo orientaciones convencionales para las terapias del cáncer de cabeza y cuello y de colon. Véase Robert, F et. al. Phase I Study of Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Antibody Cetuximab in Combination With Radiation Therapy in Patients With Advanced Head and Neck Cancer. Journal of Clinical Oncology, Vol 19, 13ª edición (julio), 2001: 3234-3243; Bonner, JA et. al. Cetuximab prolongs survival in patients with locoregionally advanced squamous cell carcinoma of head and neck: A phase III study of high dose radiation therapy with or without cetuximab. Journal of Clinical Oncology, 2004 ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting Edition). Vol 22, N.º 14S (suplemento del 15 de julio), 2004: 5507; Shin, DM et. al. Epidermal Growth Factor Receptor-targeted Therapy with C225 and Cisplatin in Patients with Head and Neck Cancer. Clinical Cancer Research Vol. 7, 1204-1213, mayo de 2001; Cunningham, D et al. Cetuximab Monotherapy and Cetuximab plus Irinotecan in Irinotecan-Refractory Metastatic Colorectal Cancer. NEJM. Volumen 351:337-345, 2004.

Se anticipa que la dosis de estrado cuerpo de EGFR / HER1 eficaz variará generalmente de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 500 % del anticuerpo monoclonal eficaz cuyo Fab es igual que el del estrado cuerpo, más preferentemente, de aproximadamente el 50 % a aproximadamente el 100 % de la dosis eficaz de anticuerpo monoclonal. La dosis de anticuerpo monoclonal eficaz en el tratamiento clínico del cáncer varía. Para el anticuerpo monoclonal de EGFR la dosis se encuentra generalmente en el intervalo de aproximadamente 250 - 400 mg/metro cuadrado que es de aproximadamente 5 mg/kg - 25 mg/kg administrado cada 7 - 21 días.

**Ejemplo 20. La multimerización aumentada mediante glucosilación aumentada puede aumentar la actividad de biomiméticos inmunológicamente activos**

Los patrones de glucosilación de las proteínas expresadas dependen de la línea celular en la que se expresa la célula. Las células de ovario de hámster chino (células CHO) usadas comúnmente para la expresión y purificación de proteínas da como resultado un patrón de glucosilación que es diferente de, por ejemplo, el de las células HEK 293 que son de origen humano y también se usan comúnmente para la expresión proteica de proteínas endógenas. Ya que las propiedades de unión de los fragmentos Fc y las unidades de estradómero agrupado pueden verse afectadas por el patrón de glucosilación, la multimerización aumentada y por lo tanto la actividad biológica aumentada los péptidos expresados puede lograrse mediante expresión en líneas celulares distintas a las CHO o en líneas celulares que incluyen CHO que están alteradas genéticamente para que cambien el patrón de glucosilación a un N-glucano que promueve la agregación aumentada entre fragmentos Fc o péptidos que contienen dominio Fc. La multimerización aumentada del fragmento Fc o de las unidades de estradómero agrupado seleccionadas alterando los patrones de glucosilación puede aumentar la capacidad de los biomiméticos inmunológicamente activos para imitar los efectos de hVIG.

**Ejemplo 21. ¿Altera la exposición de DC maduras (mDC) a IVIG o a rFcF (fragmentos Fc recombinantes) su fenotipo?**

Los fragmentos rFCF de IgG1 humana que se van a usar en este experimento se produjeron mediante tecnología de proteínas recombinantes convencional. Las dos cadenas del rFCF humano consistían cada una en la región bisagra (15 aminoácidos), el dominio CH2 (110 aminoácidos), y el dominio CH3 (106 aminoácidos) de la cadena pesada de IgG1 humana.

5 Las células CD14+ pueden aislarse a partir de células mononucleadas de sangre periférica (PBMC) obtenidas de la sangre de un donante humano sano usando una columna de separación Miltenyi MACS. Las células se cultivan a una concentración final de  $2 \times 10^5$  /ml en GM-CSF (800 UI/ml) e IL-4 (5 ng/ml) durante 5 días a 37°C. Se cambia el medio en todos los cultivos en el día 3 de cultivo. En el día 5, se añade lipopolisacárido (LPS; 10 mg/ml) a los cultivos adecuados para inducir la maduración en una DC madura. Se conoce en la técnica que las DC maduras no expresan niveles sustanciales de CD16, CD32 o CD64. Entonces se cultivan las células durante dos días adicionales y se analizan alícuotas respecto de la expresión de CD11c, CD80, CD83, CD86, CD 1a, y CD 14 mediante citometría de flujo de fluorescencia bidimensional (FFC). Entonces las células restantes cultivadas con LPS se colocan en pocillos con IVIG soluble o recubierto o con rFcF humano (todos a 10 mg/ml) durante 24 horas a 37°C, se recogieron y analizaron respecto de la expresión de los marcadores listados anteriormente mediante FFC bidimensional.

Los grupos experimentales son los siguientes:

- 20 (1) células CD14+; GM-CSF; IL-4; sin LPS ("7d-LPS")
- (2) células CD14+; GM-CSF; IL-4; LPS ("7d+LPS")
- (3) células CD14+; GM-CSF; IL-4; LPS; IVIG recubierto ("cIVIG")
- (4) células CD14+; GM-CSF; IL-4; LPS; IVIG soluble ("sIVIG")
- (5) células CD14+; GM-CSF; IL-4; LPS; rFcF recubierto ("cFc")
- 25 (6) células CD14+; GM-CSF; IL-4; LPS; rFcF soluble ("sFc")
- (7) células CD14+; GM-CSF; IL-4; LPS ("Control")

**Ejemplo 22.** ¿Inhibe la exposición de iDC a IVIG recubierto la fagocitosis de glóbulos rojos sanguíneos opsonizados?

30 Se purifican células CD14+ a partir de PBMC humanos de un donante humano sano tal como se describe en el ejemplo 21 y se cultivaron a 37 °C durante 6 días con GM-CSF e IL-4 a las concentraciones indicadas en los ejemplos anteriores y en presencia o ausencia de IVIG recubierto o soluble. Las células se recogen y después se incuban a 37°C o a 4°C durante dos horas con glóbulos rojos sanguíneos humanos positivos a Rho que están recubiertos o no recubiertos con anticuerpo anti-D conjugado a isotiocianato de fluoresceína (FITC). Después de la incubación con glóbulos rojos sanguíneos, se tiñen las células CD 14+ respecto de CD1a conjugado a APC. Entonces se evalúa la fagocitosis mediante FFC bidimensional midiendo la dispersión de luz lateral (SSC-A), la dispersión de luz directa (FSC-A), la fluorescencia de FITC (FITC-A), y la fluorescencia de APC (CD1a).

40 **Ejemplo 23.** ¿Reduce la exposición a IVIG recubierto la capacidad de iDC para estimular una reacción mixta de linfocitos alogénicos?

Se aíslan células CD 14+ de la sangre de un donante humano sano tal como se describe en los ejemplos anteriores. Se cultivan a 37°C durante 6 días con GM-CSF e IL-4 en presencia o ausencia de IVIG soluble y recubierto. Las concentraciones de todos estos reactivos son como se describen anteriormente. Entonces se recogen las células y se emplazan en los pocillos de placas de microtitulación de cultivo tisular de 96 pocillos (siendo la dosis más alta de  $2,5 \times 10^4$  por pocillo). Las células T CD3+ se purifican a partir de los PBMC de un segundo donante humano que era incompatible en HLA con el donante del que se aíslan las células CD 14+. Se añaden las células T a cada uno de los pocillos de las placas de cultivo tisular de 96 pocillos ( $10^5$  células T por pocillo). Después de cinco días de cultivo conjunto, se añade 1 mCi de  $^3\text{H}$ -timidina a cada uno de los pocillos de cultivo. Entonces se incuban los cultivos durante 6 horas adicionales y se mide la incorporación de  $^3\text{H}$ -timidina ("cpm") como una indicación del grado de proliferación celular en los cultivos. Se ensayaron tres poblaciones de estimulador de iDC: una generada mediante cultivo solo con GM-CSF e IL-4, una generada mediante cultivo con GM-CSF, IL-4, e IVIG recubierto, y una generada mediante cultivo con GM-CSF, IL-4, e IVIG soluble.

55 **Ejemplo 24.** Efecto de la exposición de iDC a rFcF e IVIG recubierto y soluble en la expresión de citocinas por las iDC y mDC

Se disponen cultivos que contienen células CD14+, GM-CSF e IL-4 y bien rFcF (recubierto o soluble) o IVIG (recubierto o soluble) en las condiciones descritas en los ejemplos anteriores. En lugar de ensayar las células respecto de la expresión de marcadores de la superficie celular, capacidad fagocítica, o la capacidad para estimular MLR alogénicos, se miden las citocinas que producen las células. Se espera que el rFcF recubierto modulará la producción de citocinas por las células de un modo similar a IVIG pero no similar a rFcF soluble. Por lo tanto, se espera que el nivel de citocinas que inhiben las respuestas inflamatorias (por ejemplo, interleucina-4, interleucina-6, e interleucina-12) estará potenciado por la exposición de las células a rFcF recubierto. Además, se espera que la exposición de las células a rFcF recubierto de como resultado una disminución en el nivel de producción por las células de citocinas que potencian respuestas inflamatorias (por ejemplo, Interferón, interleucina-23, y factor I de

necrosis tumoral).

#### **Ejemplo 25. Fragmentos Fc recombinantes de ratón**

- 5 Se produjeron fragmentos Fc recombinantes (rFcF) de IgG2a de ratón usando clonación convencional y técnicas de expresión de proteínas recombinantes. Las dos cadenas del rFCF de ratón consistían cada una en la región bisagra (21 aminoácidos), el dominio CH2 (110 aminoácidos), y el dominio CH3 (107 aminoácidos) de la cadena pesada de IgG2a de ratón. La IgG2a de ratón fue activa en el ensayo de iDC humano cuando se recubrió sobre las paredes y fondos de los pocillos de la placa.

10

#### **Lista de referencias**

1. Smiley, D. y MG, T. Southwestern internal medicine conference: High dose intravenous gamma globulin therapy: How does it work? *Am J Med Sci* 309, 295-303 (1995).
- 15 2. Nimmerjahn, F. y Ravetch, J.V. The antiinflammatory activity of IgG: the intravenous IgG paradox. *J. Exp. Med.* 204, 11-15 (2007).
3. Samuelsson, A., Towers, T.L. y Ravetch, J.V. Anti-inflammatory Activity of IVIG Mediated Through the Inhibitory Fc Receptor. *Science* 291, 484-486 (2001).
- 20 4. Follea, G. et al. Intravenous plasmin-treated gammaglobulin therapy in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Nouv Rev Fr Hematol* 27, 5-10 (1985).
5. Solal-Celigny, P., Bernard, J., Herrera, A. y Biovin, P. Treatment of adult autoimmune thrombocytopenic purpura with high-dose intravenous plasmin-cleaved gammaglobulins. *Scand J Haematol* 31, 39-44 (1983).
6. Debre, M. y Bonnet, M.-C. Infusion of Gcgamma fragments for treatment of children with acute immune thrombocytopenic purpura. *Lancet* 342, 945-49 (1993).
- 25 7. Burdach, S.E., Evers, K. y Geurson, R. Treatment of acute idiopathic thrombocytopenic purpura of childhood with intravenous immunoglobulin G: Comparative efficacy of 7S and 5S preparations. *J Pediatr* 109, 770-775 (1986).
8. Siragam, V. et al. Intravenous immunoglobulin ameliorates ITP via activating Fc[gamma] receptors on dendritic cells. *Nat Med* 12, 688 (2006).
- 30 9. Clarkson, S. et al., Treatment of refractory immune thrombocytopenic purpura with an anti-Fc gamma-receptor antibody. *N Engl J Med* 314, 1236-1239 (1986).
10. Bleeker, W.K. et al. Vasoactive side effects of intravenous immunoglobulin preparations in a rat model and their treatment with recombinant platelet-activating factor acetylhydrolase. *Blood* 95, 1856-1861 (2000).
- 35 11. Teeling, J.L. et al. Therapeutic efficacy of intravenous immunoglobulin preparations depends on the immunoglobulin G dimers: studies in experimental immune thrombocytopenia. *Blood* 98, 1095-1099 (2001).
12. Augener, W., Friedman, B. y Brittinger, G. Are aggregates of IgG the effective part of high-dose immunoglobulin therapy in adult idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP)? *Blut* 50, 249-252 (1985).
13. Tankersley, D.L., Preston, M.S. y Finlayson, J.S. Immunoglobulin G dimer: An idiotype-anti-idiotype complex. *Molecular Immunology* 25, 41 (1988).
- 40 14. Robert L. Shields, Angela K. Namenuk, Kyu Hong, Y. Gloria Meng, Julie Rae, John Briggs, Dong Xie, Jadine Lai, Andrew Stadler, Betty Li, Judith A. Fox, y Leonard G. Presta. High Resolution Mapping of the Binding Site on Human IgG 1 for FcγRI, FcγRII, FcγRIII, and FcRn and Design of IgG 1 Variants with Improved Binding to the FcγR. *J. Biol. Chem.*, Feb de 2001; 276: 6591 - 6604 ; doi:10.1074/jbc.M009483200
- 45 15. Sondermann, P., Huber, R., Oosthuizen, V., y Jacob, U. (2000) *Nature* 406, 267-273
16. Robert L. Shields, Jadine Lai, Rodney Keck, Lori Y. O'Connell, Kyu Hong, Y. Gloria Meng, Stefanie H. A. Weikert, y Leonard G. Presta Lack of Fucose on Human IgG 1 N-Linked Oligosaccharide Improves Binding to Human FcγRI 11 and Antibody-dependent Cellular Toxicity. *J. Biol. Chem.*, Julio de 2002; 277: 26733 - 26740 ; doi:10.1074/jbc.M202069200
- 50 17. Ann Wright y Sherie L. Morrison. Effect of C2-Associated Carbohydrate Structure on Ig Effector Function: Studies with Chimeric Mouse-Human IgG 1 Antibodies in Glycosylation Mutants of Chinese Hamster Ovary Cells. *J. Immunol.*, Abril de 1998; 160: 3393 - 3402.
18. Crow AR, et al. IVIg inhibits reticuloendothelial system function and ameliorates murine passive immune thrombocytopenia independent of antiidiotype reactivity. *Br J Haematol.* 2001;115:679-686.
- 55 19. Inhibition of maturation and function of dendritic cells by intravenous immunoglobulin Jagadeesh Bayry, Sébastien Lacroix-Desmazes, Cedric Carbonneil, Namita Misra, Vladimira Donkova, Anastas Pashov, Alain Chevailler, Luc Mouthon, Bernard Weill, Patrick Bruneval, Michel D. Kazatchkine, y Srinivasa Kaveri *Blood* 2003 101: 758-765. Publicado de nuevo online el 29 de agosto de 2002; DOI 10.1182/blood-2002-05-1447
20. R. Deng y J. P. Balthasar. Comparison of the effects of antibody-coated liposomes, IVIG, and anti-RBC immunotherapy in a murine model of passive chronic immune thrombocytopenia. *Blood*, marzo de 15, 2007; 109(6): 2470 - 2476. Publicado previamente online como un artículo de primera edición de *Blood* el 28 de noviembre de 2006; DOI 10.1182/blood-2006-04-018093.
- 60 21. Kabat, E. A., Wu, T. T., Perry, H. M., Gottesman, K. S., y Foeller, C. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ª Ed., United States Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda
22. Solicitud de Patente Publicada de Estados Unidos 20060074225.

65

#### **Listado de secuencias**

<110> Strome, Scott E  
Schulze, Dan H  
Block, David S  
5  
<120> AGENTES DE UNIÓN A RECEPTOR DE FC DE REGIÓN CONSTANTE DE INMUNOGLOBULINA  
<130> 70089.0021WOU1  
10 <150> 60/941.644  
<151> 06-01-2007  
<150> 61/015.547  
<151> 20-12-2007  
15 <150> 61/015.127  
<151> 19-12-2007  
20 <160> 98  
<170> PatentIn versión 3.4  
<210> 1  
<211> 699  
25 <212> ADN  
<213> *Homo sapiens*  
<220>  
<221> misc\_feature  
30 <223> dominio Fc de IgG1  
<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(699)  
35 <400> 1

ES 2 565 834 T3

agt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca	48
Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro	
1 5 10 15	
gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa	96
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys	
20 25 30	
ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg	144
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val	
35 40 45	
gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac	192
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr	
50 55 60	
gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag	240
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu	
65 70 75 80	
cag tac aac agc acg tac cgg gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac	288
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His	
85 90 95	
cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa	336
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys	
100 105 110	
gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag	384
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln	
115 120 125	
ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg	432
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu	
130 135 140	
acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc	480
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro	
145 150 155 160	
agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac	528
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn	
165 170 175	
tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc	576
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu	
180 185 190	
tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc	624
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val	
195 200 205	
ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag	672
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln	
210 215 220	
aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa	699
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys	
225 230	

ES 2 565 834 T3

<210> 2  
<211> 233  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

5

<400> 2

Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
1 5 10 15

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
20 25 30

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
35 40 45

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
50 55 60

10

ES 2 565 834 T3

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
65 70 75 80

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
85 90 95

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
100 105 110

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
115 120 125

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu  
130 135 140

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
145 150 155 160

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
165 170 175

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
180 185 190

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
195 200 205

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
210 215 220

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
225 230

<210> 3  
<211> 684  
5 <212> ADN  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
10 <221> misc\_feature  
<223> dominio Fc de IgG2

<220>  
15 <221> CDS  
<222> (1)..(684)

<400> 3

gag cgc aaa tgt tgt gtc gag tgc cca ccg tgc cca gca cca cct gtg  
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val

48



ES 2 565 834 T3

1	5	10	15	
gca gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc				96
Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu	20	25	30	
atg atc tcc cgg acc cct gag gtc acg tgc gtg gtg gtg gac gtg agc				144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser	35	40	45	
cac gaa gac ccc gag gtc cag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag				192
His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu	50	55	60	
gtg cat aat gcc aag aca aag cca cgg gag gag cag ttc aac agc acg				240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr	65	70	75	80
ttc cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtt gtg cac cag gac tgg ctg aac				288
Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn	85	90	95	
ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa ggc ctc cca gcc ccc				336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro	100	105	110	
atc gag aaa acc atc tcc aaa acc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag				384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln	115	120	125	
gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gag gag atg acc aag aac cag gtc				432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val	130	135	140	
agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tac ccc agc gac atc gcc gtg				480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val	145	150	155	160
gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc aca cct				528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro	165	170	175	
ccc atg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc				576
Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr	180	185	190	
gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg				624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val	195	200	205	
atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg				672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu	210	215	220	
tct ccg ggt aaa				684
Ser Pro Gly Lys				
225				

<211> 228  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

5 <400> 4

ES 2 565 834 T3

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val  
 1 5 10 15

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu  
 20 25 30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser  
 35 40 45

His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu  
 50 55 60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr  
 65 70 75 80

Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn  
 85 90 95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro  
 100 105 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln  
 115 120 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val  
 130 135 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val  
 145 150 155 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro  
 165 170 175

Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr  
 180 185 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val  
 195 200 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu  
 210 215 220

Ser Pro Gly Lys  
 225





ES 2 565 834 T3

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr Val Asp  
 100 105 110

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe  
 115 120 125

Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp  
 130 135 140

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu  
 145 150 155 160

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg  
 165 170 175

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys  
 180 185 190

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
 195 200 205

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Asn  
 210 215 220

Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
 225 230 235 240

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile Phe Ser  
 245 250 255

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser  
 260 265 270

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 275

5 <210> 7  
 <211> 687  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> dominio Fc de IgG4

15 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(687)

<400> 7

ES 2 565 834 T3

gag tcc aaa tat ggt ccc ccg tgc cca tca tgc cca gca cct gag ttc	48
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe	
1 5 10 15	
ctg ggg gga cca tca gtc ttc ctg ttc ccc cca aaa ccc aag gac act	96
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr	
20 25 30	
ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc acg tgc gtg gtg gtg gac gtg	144
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val	
35 40 45	
agc cag gaa gac ccc gag gtc cag ttc aac tgg tac gtg gat ggc gtg	192
Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val	
50 55 60	
gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag ttc aac agc	240
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser	
65 70 75 80	
acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc gtg cac cag gac tgg ctg	288
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu	
85 90 95	
aac ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa ggc ctc ccg tcc	336
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser	
100 105 110	
tcc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gag cca	384
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro	
115 120 125	
cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cag gag gag atg acc aag aac cag	432
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln	
130 135 140	
gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tac ccc agc gac atc gcc	480
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala	
145 150 155 160	
gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg	528
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr	
165 170 175	
cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc agg cta	576
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu	
180 185 190	
acc gtg gac aag agc agg tgg cag gag ggg aat gtc ttc tca tgc tcc	624
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser	
195 200 205	
gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc	672
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser	
210 215 220	
ctg tct ctg ggt aaa	687
Leu Ser Leu Gly Lys	

225

5 <210> 8  
<211> 229  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
  
<400> 8



ES 2 565 834 T3

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

ES 2 565 834 T3

<211> 48  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

5

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> región bisagra de IgG1

10

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(48)

<400> 9

agt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca 48  
 Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 1 5 10 15

15

<210> 10  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

20

<400> 10

Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 1 5 10 15

25

<210> 11  
 <211> 36  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

30

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> región bisagra de IgG2

35

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(36)

40

<400> 11

gag cgc aaa tgt tgt gtc gag tgc cca ccg tgc cca 36  
 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro  
 1 5 10

45

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

<400> 12

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro  
 1 5 10

50

<210> 13  
 <211> 186  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

55

<220>

ES 2 565 834 T3

<221> misc\_feature  
 <223> región bisagra de IgG3

5 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(186)

<400> 13

gag ctc aaa acc cca ctt ggt gac aca act cac aca tgc cca cgg tgc 48  
 Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg Cys  
 1 5 10 15

cca gag ccc aaa tct tgt gac aca cct ccc ccg tgc cca cgg tgc cca 96  
 Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro  
 20 25 30

gag ccc aaa tct tgt gac aca cct ccc cca tgc cca cgg tgc cca gag 144  
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu  
 35 40 45

10 ccc aaa tct tgt gac aca cct ccc cca tgc cca cgg tgc cca 186  
 Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro  
 50 55 60

<210> 14  
 <211> 62  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 14

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

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro  
 20 25 30

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu  
 35 40 45

Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro  
 50 55 60

20 <210> 15  
 <211> 36  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

25

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> región bisagra de IgG4

30 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(36)

35 <400> 15

ES 2 565 834 T3

```

gag tcc aaa tat ggt ccc ccg tgc cca tca tgc cca      36
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro
1           5           10

<210> 16
<211> 12
5 <212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 16

          Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro
10          1           5           10

<210> 17
<211> 1588
15 <212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> IgK/Fc de IgG1/Fc de IgG1

20 <220>
<221> CDS
<222> (45)..(1550)

25 <400> 17

gtcagttaag cttggtaccg agctcggatc cagtaccctt cacc atg gag aca gac      56
                                     Met Glu Thr Asp
                                     1

aca ctc ctg cta tgg gta ctg ctg ctc tgg gtt cca ggt tcc act ggt      104
Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro Gly Ser Thr Gly
5           10           15           20

gac gcg gca gat atc cag cac agt ggc ggc cgc tcg agt gag ccc aaa      152
Asp Ala Ala Asp Ile Gln His Ser Gly Gly Arg Ser Ser Glu Pro Lys
          25           30           35

```

ES 2 565 834 T3

tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa ctc	200
Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu	
40 45 50	
ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc	248
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr	
55 60 65	
ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg	296
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val	
70 75 80	
agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg	344
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val	
85 90 95 100	
gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc	392
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser	
105 110 115	
acg tac cgg gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg	440
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu	
120 125 130	
aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc	488
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala	
135 140 145	
ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca	536
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro	
150 155 160	
cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac cag	584
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln	
165 170 175 180	
gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc	632
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala	
185 190 195	
gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg	680
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr	
200 205 210	
cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc	728
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu	
215 220 225	
acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc	776
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser	
230 235 240	
gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc	824
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser	
245 250 255 260	
ctg tct ccg ggt aaa agt cta gac ccc aaa tct tgt gac aaa act cac	872
Leu Ser Pro Gly Lys Ser Leu Asp Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His	
265 270 275	
aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc	920

ES 2 565 834 T3

Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	
			280					285					290			
ttc	ctc	ttc	ccc	cca	aaa	ccc	aag	gac	acc	ctc	atg	atc	tcc	cgg	acc	968
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	
		295					300					305				
cct	gag	gtc	aca	tgc	gtg	gtg	gtg	gac	gtg	agc	cac	gaa	gac	cct	gag	1016
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	
	310					315					320					
gtc	aag	ttc	aac	tgg	tac	gtg	gac	ggc	gtg	gag	gtg	cat	aat	gcc	aag	1064
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	
325					330					335					340	
aca	aag	ccg	cgg	gag	gag	cag	tac	aac	agc	acg	tac	cgg	gtg	gtc	agc	1112
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	
			345					350					355			
gtc	ctc	acc	gtc	ctg	cac	cag	gac	tgg	ctg	aat	ggc	aag	gag	tac	aag	1160
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	
			360					365					370			
tgc	aag	gtc	tcc	aac	aaa	gcc	ctc	cca	gcc	ccc	atc	gag	aaa	acc	atc	1208
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	
		375					380					385				
tcc	aaa	gcc	aaa	ggg	cag	ccc	cga	gaa	cca	cag	gtg	tac	acc	ctg	ccc	1256
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	
	390					395					400					
cca	tcc	cgg	gat	gag	ctg	acc	aag	aac	cag	gtc	agc	ctg	acc	tgc	ctg	1304
Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	
405					410					415					420	
gtc	aaa	ggc	ttc	tat	ccc	agc	gac	atc	gcc	gtg	gag	tgg	gag	agc	aat	1352
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	
				425				430						435		
ggg	cag	ccg	gag	aac	aac	tac	aag	acc	acg	cct	ccc	gtg	ctg	gac	tcc	1400
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	
			440					445					450			
gac	ggc	tcc	ttc	ttc	ctc	tac	agc	aag	ctc	acc	gtg	gac	aag	agc	agg	1448
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	
		455					460					465				
tgg	cag	cag	ggg	aac	gtc	ttc	tca	tgc	tcc	gtg	atg	cat	gag	gct	ctg	1496
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	
	470					475					480					
cac	aac	cac	tac	acg	cag	aag	agc	ctc	tcc	ctg	tct	ccg	ggt	aaa	acc	1544
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Thr	
485					490					495					500	
ggt	tga	catcatcacc	atcaccattg	atgaggttaaa	cccgtctga											1588
Gly																

ES 2 565 834 T3

<211> 501  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 18

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Gln His Ser Gly Gly Arg Ser  
 20 25 30

Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 35 40 45

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 50 55 60

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 65 70 75 80

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 85 90 95

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 100 105 110

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 115 120 125

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 130 135 140

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
 145 150 155 160

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu  
 165 170 175

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 180 185 190

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 195 200 205

10

ES 2 565 834 T3

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





ES 2 565 834 T3

acg tac cgg gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg 440  
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu  
 120 125 130

aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc 488  
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala  
 135 140 145

ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca 536  
 Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro  
 150 155 160

cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac cag 584  
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln  
 165 170 175 180

gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc 632  
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala  
 185 190 195

gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg 680  
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr  
 200 205 210

cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc 728  
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu  
 215 220 225

acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc 776  
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser  
 230 235 240

gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc 824  
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser  
 245 250 255 260

ctg tct ccg ggt aaa agt cta gag ggc ccg cgg ttc gaa ggt aag cct 872  
 Leu Ser Pro Gly Lys Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe Glu Gly Lys Pro  
 265 270 275

atc cct aac cct ctc ctc ggt ctc gat tct acg cgt acc ggt cat cat 920  
 Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr Gly His His  
 280 285 290

cac cat cac cat tgatgagtta aaccgctga 952  
 His His His His  
 295

<210> 20  
 <211> 296  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 20

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

ES 2 565 834 T3

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Gln His Ser Gly Gly Arg Ser  
 20 25 30

Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 35 40 45

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 50 55 60

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 65 70 75 80

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 85 90 95

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 100 105 110

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 115 120 125

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 130 135 140

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
 145 150 155 160

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu  
 165 170 175

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 180 185 190

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 195 200 205

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 210 215 220

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 225 230 235 240

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 245 250 255

ES 2 565 834 T3

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe  
 260 265 270

Glu Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg  
 275 280 285

Thr Gly His His His His His His  
 290 295

5 <210> 21  
 <211> 1588  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Secuencia de dímero de IgG1 sin marcadores

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (45)..(1550)

15 <400> 21

```

gtcagttaag cttggtaccg agctcgggac cagtaccctt cacc atg gag aca gac      56
                                     Met Glu Thr Asp
                                     1

aca ctc ctg cta tgg gta ctg ctg ctc tgg gtt cca ggt tcc act ggt      104
Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro Gly Ser Thr Gly
5                               10                               15                               20

gac gcg gca gat atc cag cac agt ggc ggc cgc tcg agt gag ccc aaa      152
Asp Ala Ala Asp Ile Gln His Ser Gly Gly Arg Ser Ser Glu Pro Lys
                               25                               30                               35

tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa ctc      200
Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
                               40                               45                               50

ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc      248
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
                               55                               60                               65

ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg      296
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
70                               75                               80

agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg      344
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
85                               90                               95                               100

gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc      392
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
                               105                               110                               115

acg tac cgg gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg      440
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
    
```

ES 2 565 834 T3

	120		125		130		
aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc							488
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala	135		140		145		
ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca							536
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro	150		155		160		
cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac cag							584
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln	165		170		175		180
gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc							632
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala		185		190		195	
gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg							680
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr	200		205		210		
cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc							728
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu	215		220		225		
acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc							776
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser	230		235		240		
gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc							824
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser	245		250		255		260
ctg tct ccg ggt aaa agt cta gac ccc aaa tot tgt gac aaa act cac							872
Leu Ser Pro Gly Lys Ser Leu Asp Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His		265		270		275	
aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc							920
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val	280		285		290		
ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc							968
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr	295		300		305		
cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag							1016
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu	310		315		320		
gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag							1064
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys	325		330		335		340
aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc acg tac ccg gtg gtc agc							1112
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		345		350		355	
gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag							1160
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		360		365		370	



ES 2 565 834 T3

50						55										60
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	
65					70					75					80	
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	
				85					90					95		
Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	
			100					105						110		
Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	
		115					120						125			
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	
	130					135					140					
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	
145					150					155					160	
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	
				165					170					175		
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	
			180					185						190		
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	
		195					200					205				
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	
	210					215					220					
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	
225					230					235					240	
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	
				245					250						255	
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Ser	Leu	Asp	Pro	Lys	Ser	Cys	
			260					265						270		
Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	
		275					280					285				
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	
	290					295					300					

ES 2 565 834 T3

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 305 310 315 320

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 325 330 335

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
 340 345 350

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
 355 360 365

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
 370 375 380

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 385 390 395 400

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 405 410 415

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 420 425 430

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 435 440 445

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val  
 450 455 460

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
 465 470 475 480

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
 485 490 495

Pro Gly Lys Thr Gly  
 500

<210> 23  
 <211> 1636  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Secuencia de dímero de IgG1 con marcadores epitópicos

<220>  
 <221> CDS



ES 2 565 834 T3

<222> (45)..(1616)

<400> 23

gtcagttaag cttggtaccg agctcggatc cagtaccctt cacc atg gag aca gac	56
Met Glu Thr Asp	
1	
aca ctc ctg cta tgg gta ctg ctg ctc tgg gtt cca ggt tcc act ggt	104
Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro Gly Ser Thr Gly	
5 10 15 20	
gac gcg gca gat atc cag cac agt ggc ggc cgc tcg agt gag ccc aaa	152
Asp Ala Ala Asp Ile Gln His Ser Gly Gly Arg Ser Ser Glu Pro Lys	
25 30 35	
tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa ctc	200
Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu	
40 45 50	
ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc	248
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr	
55 60 65	
ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg	296
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val	
70 75 80	
agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg	344
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val	
85 90 95 100	
gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc	392
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser	
105 110 115	
acg tac cgg gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg	440
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu	
120 125 130	
aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc	488
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala	
135 140 145	
ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca	536
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro	
150 155 160	
cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac cag	584
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln	
165 170 175 180	
gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc	632
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala	
185 190 195	
gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg	680
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr	

ES 2 565 834 T3

200					205					210						
cct	ccc	gtg	ctg	gac	tcc	gac	ggc	tcc	ttc	ttc	ctc	tac	agc	aag	ctc	728
Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	
		215					220					225				
acc	gtg	gac	aag	agc	agg	tgg	cag	cag	ggg	aac	gtc	ttc	tca	tgc	tcc	776
Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	
	230					235					240					
gtg	atg	cat	gag	gct	ctg	cac	aac	cac	tac	acg	cag	aag	agc	ctc	tcc	824
Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	
	245				250					255					260	
ctg	tct	ccg	ggt	aaa	agt	cta	gac	ccc	aaa	tct	tgt	gac	aaa	act	cac	872
Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Ser	Leu	Asp	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	
				265					270					275		
aca	tgc	cca	ccg	tgc	cca	gca	cct	gaa	ctc	ctg	ggg	gga	ccg	tca	gtc	920
Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	
			280					285						290		
ttc	ctc	ttc	ccc	cca	aaa	ccc	aag	gac	acc	ctc	atg	atc	tcc	cgg	acc	968
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	
		295					300					305				
cct	gag	gtc	aca	tgc	gtg	gtg	gtg	gac	gtg	agc	cac	gaa	gac	cct	gag	1016
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	
	310					315					320					
gtc	aag	ttc	aac	tgg	tac	gtg	gac	ggc	gtg	gag	gtg	cat	aat	gcc	aag	1064
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	
	325				330					335					340	
aca	aag	ccg	cgg	gag	gag	cag	tac	aac	agc	acg	tac	cgg	gtg	gtc	agc	1112
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	
				345					350					355		
gtc	ctc	acc	gtc	ctg	cac	cag	gac	tgg	ctg	aat	ggc	aag	gag	tac	aag	1160
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	
			360					365						370		
tgc	aag	gtc	tcc	aac	aaa	gcc	ctc	cca	gcc	ccc	atc	gag	aaa	acc	atc	1208
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	
		375					380					385				
tcc	aaa	gcc	aaa	ggg	cag	ccc	cga	gaa	cca	cag	gtg	tac	acc	ctg	ccc	1256
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	
	390					395					400					
cca	tcc	cgg	gat	gag	ctg	acc	aag	aac	cag	gtc	agc	ctg	acc	tgc	ctg	1304
Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	
	405				410					415					420	
gtc	aaa	ggc	ttc	tat	ccc	agc	gac	atc	gcc	gtg	gag	tgg	gag	agc	aat	1352
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	
			425						430					435		
ggg	cag	ccg	gag	aac	aac	tac	aag	acc	acg	cct	ccc	gtg	ctg	gac	tcc	1400
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	
			440					445						450		

ES 2 565 834 T3

gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg 1448  
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 455 460 465

tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg 1496  
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 470 475 480

cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa ttc 1544  
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Phe  
 485 490 495 500

gaa ggt aag cct atc cct aac cct ctc ctc ggt ctc gat tct acg cgt 1592  
 Glu Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg  
 505 510 515

acc ggt cat cat cac cat cac cat tgatgagtta aaccgctga 1636  
 Thr Gly His His His His His His  
 520

5 <210> 24  
 <211> 524  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 24

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Gln His Ser Gly Gly Arg Ser  
 20 25 30

Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 35 40 45

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 50 55 60

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 65 70 75 80

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 85 90 95

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 100 105 110

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

15

ES 2 565 834 T3

	115						120								125
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
	130					135					140				
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln
145					150					155					160
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu
				165					170					175	
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
			180					185					190		
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn
		195					200					205			
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
	210					215					220				
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val
225					230					235					240
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln
				245					250						255
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Ser	Leu	Asp	Pro	Lys	Ser	Cys
			260					265					270		
Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly
		275					280					285			
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
	290					295					300				
Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
305					310					315					320
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
				325					330					335	
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
			340					345					350		
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
		355					360					365			

ES 2 565 834 T3

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
 370 375 380

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 385 390 395 400

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 405 410 415

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 420 425 430

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 435 440 445

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val  
 450 455 460

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
 465 470 475 480

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
 485 490 495

Pro Gly Lys Phe Glu Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu  
 500 505 510

Asp Ser Thr Arg Thr Gly His His His His His His  
 515 520

<210> 25  
 <211> 1763  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> secuencia de dímero de IgG1/IgG3 con marcadores epitópicos

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (45)..(1760)

<400> 25

gtcagttaag cttggtagcg agctcggatc cagtaccott cacc atg gag aca gac 56  
 Met Glu Thr Asp  
 1

aca ctc ctg cta tgg gta ctg ctg ctc tgg gtt cca ggt tcc act ggt 104

ES 2 565 834 T3

Thr	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro	Gly	Ser	Thr	Gly	
5					10					15					20	
gac	gcg	gca	gat	atc	gag	ctc	aaa	acc	cca	ctt	ggg	gac	aca	act	cac	152
Asp	Ala	Ala	Asp	Ile	Glu	Leu	Lys	Thr	Pro	Leu	Gly	Asp	Thr	Thr	His	
				25					30					35		
aca	tgc	cca	cgg	tgc	cca	gag	ccc	aaa	tct	tgt	gac	aca	cct	ccc	ccg	200
Thr	Cys	Pro	Arg	Cys	Pro	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Thr	Pro	Pro	Pro	
			40					45					50			
tgc	cca	cgg	tgc	cca	gag	ccc	aaa	tct	tgt	gac	aca	cct	ccc	cca	tgc	248
Cys	Pro	Arg	Cys	Pro	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Thr	Pro	Pro	Pro	Cys	
		55					60					65				
cca	cgg	tgc	cca	gag	ccc	aaa	tct	tgt	gac	aca	cct	ccc	cca	tgc	cca	296
Pro	Arg	Cys	Pro	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Thr	Pro	Pro	Pro	Cys	Pro	
	70					75					80					
cgg	tgc	cca	gca	cct	gaa	ctc	ctg	gga	gga	cgg	tca	gtc	ttc	ctc	ttc	344
Arg	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	
85					90					95					100	
ccc	cca	aaa	ccc	aag	gat	acc	ctt	atg	att	tcc	cgg	acc	cct	gag	gtc	392
Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	
				105					110					115		
acg	tgc	gtg	gtg	gtg	gac	gtg	agc	cac	gaa	gac	ccc	gag	gtc	cag	ttc	440
Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	
			120					125					130			
aag	tgg	tac	gtg	gac	ggc	gtg	gag	gtg	cat	aat	gcc	aag	aca	aag	ccg	488
Lys	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	
		135					140					145				
cgg	gag	gag	cag	ttc	aac	agc	acg	ttc	cgt	gtg	gtc	agc	gtc	ctc	acc	536
Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	
	150					155					160					
gtc	ctg	cac	cag	gac	tgg	ctg	aac	ggc	aag	gag	tac	aag	tgc	aag	gtc	584
Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	
165					170					175					180	
tcc	aac	aaa	gcc	ctc	cca	gcc	ccc	atc	gag	aaa	acc	atc	tcc	aaa	acc	632
Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	
				185					190					195		
aaa	gga	cag	ccc	oga	gaa	cca	cag	gtg	tac	acc	ctg	ccc	cca	tcc	cgg	680
Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	
			200					205					210			
gag	gag	atg	acc	aag	aac	cag	gtc	agc	ctg	acc	tgc	ctg	gtc	aaa	ggc	728
Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	
		215					220					225				
ttc	tac	ccc	agc	gac	atc	gcc	gtg	gag	tgg	gag	agc	agc	ggg	cag	ccg	776
Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Ser	Gly	Gln	Pro	
	230					235					240					
gag	aac	aac	tac	aac	acc	acg	cct	ccc	atg	ctg	gac	tcc	gac	ggc	tcc	824
Glu	Asn	Asn	Tyr	Asn	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	

ES 2 565 834 T3

245		250		255		260	
ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag							872
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln							
		265		270		275	
ggg aac atc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cgc							920
Gly Asn Ile Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg							
		280		285		290	
ttc acg cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa ggc ggc cgc tcg							968
Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Arg Ser							
		295		300		305	
agt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca							1016
Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro							
		310		315		320	
gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa							1064
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys							
		325		330		335	
ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg							1112
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val							
		345		350		355	
gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac							1160
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr							
		360		365		370	
gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag							1208
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu							
		375		380		385	
cag tac aac agc acg tac cgg gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac							1256
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His							
		390		395		400	
cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa							1304
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys							
		405		410		415	
gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag							1352
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln							
		425		430		435	
ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg							1400
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu							
		440		445		450	
acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc							1448
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro							
		455		460		465	
agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac							1496
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn							
		470		475		480	
tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc							1544
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu							
		485		490		495	
						500	







ES 2 565 834 T3

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
 370 375 380

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
 385 390 395 400

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
 405 410 415

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
 420 425 430

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
 435 440 445

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
 450 455 460

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
 465 470 475 480

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly  
 485 490 495

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
 500 505 510

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
 515 520 525

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Leu Glu  
 530 535 540

Gly Pro Arg Phe Glu Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu  
 545 550 555 560

Asp Ser Thr Arg Thr Gly His His His His His His  
 565 570

<210> 27

<211> 2224

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Fusión de (CH2) de IgE/(bisagra-CH2-CH3) de IgG1/(bisagra-CH2) de IgG1/(CH4) de IgE sin marcadores epitópicos

ES 2 565 834 T3

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (45)..(2183)

5 <400> 27

```

gtcagttaag cttggtaccg agctcgggatc cagtaccctt cacc atg gag aca gac      56
                                     Met Glu Thr Asp
                                     1

aca ctc ctg cta tgg gta ctg ctg ctc tgg gtt cca ggt tcc act ggt      104
Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro Gly Ser Thr Gly
5                                     10                                     15                                     20

gac gcg gca gat atc gtc tgc tcc agg gac ttc acc ccg ccc acc gtg      152
Asp Ala Ala Asp Ile Val Cys Ser Arg Asp Phe Thr Pro Pro Thr Val
25                                     30                                     35

aag atc tta cag tcg tcc tgc gac ggc ggc ggg cac ttc ccc ccg acc      200
Lys Ile Leu Gln Ser Ser Cys Asp Gly Gly Gly His Phe Pro Pro Thr
40                                     45                                     50

atc cag ctc ctg tgc ctc gtc tct ggg tac acc cca ggg act atc aac      248
Ile Gln Leu Leu Cys Leu Val Ser Gly Tyr Thr Pro Gly Thr Ile Asn
55                                     60                                     65

atc acc tgg ctg gag gac ggg cag gtc atg gac gtg gac ttg tcc acc      296
Ile Thr Trp Leu Glu Asp Gly Gln Val Met Asp Val Asp Leu Ser Thr
70                                     75                                     80

gcc tct acc acg cag gag ggt gag ctg gcc tcc aca caa agc gag ctc      344
Ala Ser Thr Thr Gln Glu Gly Glu Leu Ala Ser Thr Gln Ser Glu Leu
85                                     90                                     95                                     100

acc ctc agc cag aag cac tgg ctg tca gac cgc acc tac acc tgc cag      392
Thr Leu Ser Gln Lys His Trp Leu Ser Asp Arg Thr Tyr Thr Cys Gln
105                                    110                                    115

gtc acc tat caa ggt cac acc ttt gag gac agc acc aag aag tgt gca      440
Val Thr Tyr Gln Gly His Thr Phe Glu Asp Ser Thr Lys Lys Cys Ala
120                                    125                                    130

ggc ggc cgc tcg agt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc      488
Gly Gly Arg Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
135                                    140                                    145

cca ccg tgc cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc      536
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
150                                    155                                    160

ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag      584
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165                                    170                                    175                                    180

gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag      632
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
185                                    190                                    195

ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag      680

```

ES 2 565 834 T3

Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys		
			200					205					210				
ccg	cgg	gag	gag	cag	tac	aac	agc	acg	tac	cgg	gtg	gtc	agc	gtc	ctc		728
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu		
		215					220				225						
acc	gtc	ctg	cac	cag	gac	tgg	ctg	aat	ggc	aag	gag	tac	aag	tgc	aag		776
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys		
	230					235					240						
gtc	tcc	aac	aaa	gcc	ctc	cca	gcc	ccc	atc	gag	aaa	acc	atc	tcc	aaa		824
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys		
245					250					255					260		
gcc	aaa	ggg	cag	ccc	cga	gaa	cca	cag	gtg	tac	acc	ctg	ccc	cca	tcc		872
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser		
			265						270					275			
cgg	gat	gag	ctg	acc	aag	aac	cag	gtc	agc	ctg	acc	tgc	ctg	gtc	aaa		920
Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys		
			280					285					290				
ggc	ttc	tat	ccc	agc	gac	atc	gcc	gtg	gag	tgg	gag	agc	aat	ggg	cag		968
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln		
		295					300						305				
ccg	gag	aac	aac	tac	aag	acc	acg	cct	ccc	gtg	ctg	gac	tcc	gac	ggc		1016
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly		
	310					315					320						
tcc	ttc	ttc	ctc	tac	agc	aag	ctc	acc	gtg	gac	aag	agc	agg	tgg	cag		1064
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln		
325					330					335					340		
cag	ggg	aac	gtc	ttc	tca	tgc	tcc	gtg	atg	cat	gag	gct	ctg	cac	aac		1112
Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn		
			345						350					355			
cac	tac	acg	cag	aag	agc	ctc	tcc	ctg	tct	ccg	ggt	aaa	agt	cta	gac		1160
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Ser	Leu	Asp		
			360					365					370				
ccc	aaa	tct	tgt	gac	aaa	act	cac	aca	tgc	cca	ccg	tgc	cca	gca	cct		1208
Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro		
		375					380					385					
gaa	ctc	ctg	ggg	gga	ccg	tca	gtc	ttc	ctc	ttc	ccc	cca	aaa	ccc	aag		1256
Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys		
	390					395					400						
gac	acc	ctc	atg	atc	tcc	cgg	acc	cct	gag	gtc	aca	tgc	gtg	gtg	gtg		1304
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val		
405					410					415					420		
gac	gtg	agc	cac	gaa	gac	cct	gag	gtc	aag	ttc	aac	tgg	tac	gtg	gac		1352
Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp		
			425						430					435			
ggc	gtg	gag	gtg	cat	aat	gcc	aag	aca	aag	ccg	cgg	gag	gag	cag	tac		1400
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr		



# ES 2 565 834 T3

gtc cat gag gca gcg agc ccc tca cag acc gtc cag cga gcg gtg tct 2168  
Val His Glu Ala Ala Ser Pro Ser Gln Thr Val Gln Arg Ala Val Ser  
695 700 705

gta aat ccc ggt aaa tgacatcatc accatcacca ttgatgagtt aaaccgctg a 2224  
Val Asn Pro Gly Lys  
710

- <210> 28
- 5 <211> 713
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
  
- <220>
- 10 <223> Construcción sintética
  
- <400> 28

ES 2 565 834 T3

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Val Cys Ser Arg Asp Phe Thr  
 20 25 30

Pro Pro Thr Val Lys Ile Leu Gln Ser Ser Cys Asp Gly Gly Gly His  
 35 40 45

Phe Pro Pro Thr Ile Gln Leu Leu Cys Leu Val Ser Gly Tyr Thr Pro  
 50 55 60

Gly Thr Ile Asn Ile Thr Trp Leu Glu Asp Gly Gln Val Met Asp Val  
 65 70 75 80

Asp Leu Ser Thr Ala Ser Thr Thr Gln Glu Gly Glu Leu Ala Ser Thr  
 85 90 95

Gln Ser Glu Leu Thr Leu Ser Gln Lys His Trp Leu Ser Asp Arg Thr  
 100 105 110

Tyr Thr Cys Gln Val Thr Tyr Gln Gly His Thr Phe Glu Asp Ser Thr  
 115 120 125

Lys Lys Cys Ala Gly Gly Arg Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
 130 135 140

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
 145 150 155 160

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser





ES 2 565 834 T3

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn  
420 425 430

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg  
435 440 445

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val  
450 455 460

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser  
465 470 475 480

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys  
485 490 495

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp  
500 505 510

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe  
515 520 525

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu  
530 535 540

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe  
545 550 555 560

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly  
565 570 575

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr  
580 585 590

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Pro Arg Ala Ala  
595 600 605

Pro Glu Val Tyr Ala Phe Ala Thr Pro Glu Trp Pro Gly Ser Arg Asp  
610 615 620

Lys Arg Thr Leu Ala Cys Leu Ile Gln Asn Phe Met Pro Glu Asp Ile  
625 630 635 640

Ser Val Gln Trp Leu His Asn Glu Val Gln Leu Pro Asp Ala Arg His  
645 650 655

ES 2 565 834 T3

Ser Thr Thr Gln Pro Arg Lys Thr Lys Gly Ser Gly Phe Phe Val Phe  
 660 665 670

Ser Arg Leu Glu Val Thr Arg Ala Glu Trp Glu Gln Lys Asp Glu Phe  
 675 680 685

Ile Cys Arg Ala Val His Glu Ala Ala Ser Pro Ser Gln Thr Val Gln  
 690 695 700

Arg Ala Val Ser Val Asn Pro Gly Lys  
 705 710

5 <210> 29  
 <211> 31  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Cebador de PCR

<400> 29  
 gtctctagag gagcccaaat cttgtgacaa a 31

15 <210> 30  
 <211> 34  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Cebador de PCR

<400> 30  
 gcgtagccggt tcattaccc ggggacaggg agag 34

25 <210> 31  
 <211> 603  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> N-terminal de receptor Fc gamma IIIa - variante polimórfica de fenilalanina

35 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(600)

<400> 31

atg tgg cag ctg ctc ctc cca act gct ctg cta ctt cta gtt tca gct 48  
 Met Trp Gln Leu Leu Leu Pro Thr Ala Leu Leu Leu Val Ser Ala  
 1 5 10 15

40 ggc atg cgg act gaa gat ctc cca aag gct gtg gtg ttc ctg gag cct 96

ES 2 565 834 T3

Gly	Met	Arg	Thr	Glu	Asp	Leu	Pro	Lys	Ala	Val	Val	Phe	Leu	Glu	Pro	
			20					25					30			
caa	tgg	tac	agg	gtg	ctc	gag	aag	gac	agt	gtg	act	ctg	aag	tgc	cag	144
Gln	Trp	Tyr	Arg	Val	Leu	Glu	Lys	Asp	Ser	Val	Thr	Leu	Lys	Cys	Gln	
		35					40					45				
gga	gcc	tac	tcc	cct	gag	gac	aat	tcc	aca	cag	tgg	ttt	cac	aat	gag	192
Gly	Ala	Tyr	Ser	Pro	Glu	Asp	Asn	Ser	Thr	Gln	Trp	Phe	His	Asn	Glu	
	50					55					60					
agc	ctc	atc	tca	agc	cag	gcc	tgc	agc	tac	ttc	att	gac	gct	gcc	aca	240
Ser	Leu	Ile	Ser	Ser	Gln	Ala	Ser	Ser	Tyr	Phe	Ile	Asp	Ala	Ala	Thr	
	65				70					75					80	
gtc	gac	gac	agt	gga	gag	tac	agg	tgc	cag	aca	aac	ctc	tcc	acc	ctc	288
Val	Asp	Asp	Ser	Gly	Glu	Tyr	Arg	Cys	Gln	Thr	Asn	Leu	Ser	Thr	Leu	
				85					90					95		
agt	gac	ccg	gtg	cag	cta	gaa	gtc	cat	atc	ggc	tgg	ctg	ttg	ctc	cag	336
Ser	Asp	Pro	Val	Gln	Leu	Glu	Val	His	Ile	Gly	Trp	Leu	Leu	Leu	Gln	
			100					105						110		
gcc	cct	cgg	tgg	gtg	ttc	aag	gag	gaa	gac	cct	att	cac	ctg	agg	tgt	384
Ala	Pro	Arg	Trp	Val	Phe	Lys	Glu	Glu	Asp	Pro	Ile	His	Leu	Arg	Cys	
		115					120					125				
cac	agc	tgg	aag	aac	act	gct	ctg	cat	aag	gtc	aca	tat	tta	cag	aat	432
His	Ser	Trp	Lys	Asn	Thr	Ala	Leu	His	Lys	Val	Thr	Tyr	Leu	Gln	Asn	
	130					135					140					
ggc	aaa	ggc	agg	aag	tat	ttt	cat	cat	aat	tct	gac	ttc	tac	att	cca	480
Gly	Lys	Gly	Arg	Lys	Tyr	Phe	His	His	Asn	Ser	Asp	Phe	Tyr	Ile	Pro	
	145			150						155					160	
aaa	gcc	aca	ctc	aaa	gac	agc	ggc	tcc	tac	ttc	tgc	agg	ggg	ctt	ttt	528
Lys	Ala	Thr	Leu	Lys	Asp	Ser	Gly	Ser	Tyr	Phe	Cys	Arg	Gly	Leu	Phe	
				165					170					175		
ggg	agt	aaa	aat	gtg	tct	tca	gag	act	gtg	aac	atc	acc	atc	act	caa	576
Gly	Ser	Lys	Asn	Val	Ser	Ser	Glu	Thr	Val	Asn	Ile	Thr	Ile	Thr	Gln	
			180					185					190			
ggt	ttg	cat	cat	cac	cat	cat	cat	tag								603
Gly	Leu	His	His	His	His	His	His									
		195					200									

<210> 32  
 <211> 200  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Construcción sintética

10

<400> 32

Met	Trp	Gln	Leu	Leu	Leu	Pro	Thr	Ala	Leu	Leu	Leu	Leu	Val	Ser	Ala
1				5					10					15	

ES 2 565 834 T3

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro  
 20 25 30

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln  
 35 40 45

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu  
 50 55 60

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr  
 65 70 75 80

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

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln  
 100 105 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys  
 115 120 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn  
 130 135 140

Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro  
 145 150 155 160

Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Phe  
 165 170 175

Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln  
 180 185 190

Gly Leu His His His His His His  
 195 200

- <210> 33
- <211> 603
- 5 <212> ADN
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> N-terminal de receptor Fc gamma IIIa - variante polimórfica de valina
- <220>
- <221> CDS
- <222> (1)..(600)
- 15 <400> 33

ES 2 565 834 T3

atg tgg cag ctg ctc ctc cca act gct ctg cta ctt cta gtt tca gct 48  
 Met Trp Gln Leu Leu Leu Pro Thr Ala Leu Leu Leu Leu Val Ser Ala  
 1 5 10 15

ggc atg cgg act gaa gat ctc cca aag gct gtg gtg ttc ctg gag cct 96  
 Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro  
 20 25 30

caa tgg tac agg gtg ctc gag aag gac agt gtg act ctg aag tgc cag 144  
 Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln  
 35 40 45

gga gcc tac tcc cct gag gac aat tcc aca cag tgg ttt cac aat gag 192  
 Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu  
 50 55 60

agc ctc atc tca agc cag gcc tgc agc tac ttc att gac gct gcc aca 240  
 Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr  
 65 70 75 80

gtc gac gac agt gga gag tac agg tgc cag aca aac ctc tcc acc ctc 288  
 Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr Asn Leu Ser Thr Leu  
 85 90 95

agt gac ccg gtg cag cta gaa gtc cat atc ggc tgg ctg ttg ctc cag 336  
 Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln  
 100 105 110

gcc cct cgg tgg gtg ttc aag gag gaa gac cct att cac ctg agg tgt 384  
 Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys  
 115 120 125

cac agc tgg aag aac act gct ctg cat aag gtc aca tat tta cag aat 432  
 His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn  
 130 135 140

ggc aaa ggc agg aag tat ttt cat cat aat tct gac ttc tac att cca 480  
 Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro  
 145 150 155 160

aaa gcc aca ctc aaa gac agc ggc tcc tac ttc tgc agg ggg ctt gtt 528  
 Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Val  
 165 170 175

ggg agt aaa aat gtg tct tca gag act gtg aac atc acc atc act caa 576  
 Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln  
 180 185 190

ggt ttg cat cat cac cat cat cac tag 603  
 Gly Leu His His His His His His  
 195 200

<210> 34  
 <211> 200  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Construcción sintética

10 <400> 34

ES 2 565 834 T3

Met Trp Gln Leu Leu Leu Pro Thr Ala Leu Leu Leu Leu Val Ser Ala  
 1 5 10 15

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro  
 20 25 30

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln  
 35 40 45

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu  
 50 55 60

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr  
 65 70 75 80

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

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln  
 100 105 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys  
 115 120 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn  
 130 135 140

Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro  
 145 150 155 160

Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Val  
 165 170 175

Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln  
 180 185 190

Gly Leu His His His His His His  
 195 200

<210> 35  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Secuencia de señal de IgK

<400> 35

5

10

ES 2 565 834 T3

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly  
 20

5 <210> 36  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 36

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro  
 1 5 10

15 <210> 37  
 <211> 88  
 <212> PRT  
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 37

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

Gly Gly Ser Ile Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser  
 20 25 30

Lys Ile Tyr His Ile Glu Asn Glu Ile Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile  
 35 40 45

Gly Glu Arg Gly His Gly Gly Gly Ser Asn Ser Gln Val Ser His Arg  
 50 55 60

Tyr Pro Arg Phe Gln Ser Ile Lys Val Gln Phe Thr Glu Tyr Lys Lys  
 65 70 75 80

20 Glu Lys Gly Phe Ile Leu Thr Ser  
 85

25 <210> 38  
 <211> 524  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

30 <400> 38

ES 2 565 834 T3

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Gln His Gly Gly Arg Ser Ser  
20 25 30

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
35 40 45

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
50 55 60

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
65 70 75 80

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val  
85 90 95

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
100 105 110

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
115 120 125

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
130 135 140

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
145 150 155 160

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr  
165 170 175

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
180 185 190

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
195 200 205

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
210 215 220



ES 2 565 834 T3

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe  
 225 230 235 240

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
 245 250 255

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Leu Asp Glu Pro Lys Ser Cys  
 260 265 270

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly  
 275 280 285

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
 290 295 300

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 305 310 315 320

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 325 330 335

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
 340 345 350

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
 355 360 365

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
 370 375 380

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 385 390 395 400

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 405 410 415

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 420 425 430

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 435 440 445

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val  
 450 455 460

ES 2 565 834 T3

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
465 470 475 480

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
485 490 495

Pro Gly Lys Phe Glu Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu  
500 505 510

Asp Ser Thr Arg Thr Gly His His His His His His  
515 520

<210> 39

<211> 499

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 39

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Gln His Gly Gly Arg Ser Ser  
20 25 30

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
35 40 45

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
50 55 60

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
65 70 75 80

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val  
85 90 95

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
100 105 110

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
115 120 125

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
130 135 140

ES 2 565 834 T3

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

ES 2 565 834 T3

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
385 390 395 400

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser  
405 410 415

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
420 425 430

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
435 440 445

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val  
450 455 460

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
465 470 475 480

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
485 490 495

Pro Gly Lys

<210> 40

<211> 628

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 40

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Val Cys Ser Arg Asp Phe Thr  
20 25 30

Pro Pro Thr Val Lys Ile Leu Gln Ser Ser Cys Asp Gly Gly Gly His  
35 40 45

Phe Pro Pro Thr Ile Gln Leu Leu Cys Leu Val Ser Gly Tyr Thr Pro  
50 55 60

Gly Thr Ile Asn Ile Thr Trp Leu Glu Asp Gly Gln Val Met Asp Val  
65 70 75 80

ES 2 565 834 T3

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

ES 2 565 834 T3

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 325 330 335

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 340 345 350

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 355 360 365

Lys Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 370 375 380

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 385 390 395 400

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 405 410 415

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 420 425 430

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 435 440 445

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 450 455 460

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 465 470 475 480

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Pro  
 485 490 495

Arg Ala Ala Pro Glu Val Tyr Ala Phe Ala Thr Pro Glu Trp Pro Gly  
 500 505 510

Arg Asp Lys Arg Thr Leu Ala Cys Leu Ile Gln Asn Phe Met Pro Glu  
 515 520 525

Asp Ile Ser Val Gln Trp Leu His Asn Glu Val Gln Leu Pro Asp Ala  
 530 535 540

Arg His Ser Thr Thr Gln Pro Arg Lys Thr Lys Gly Ser Gly Phe Phe  
 545 550 555 560

Val Phe Ser Arg Leu Glu Val Thr Arg Ala Glu Trp Glu Gln Lys Asp

ES 2 565 834 T3

565 570 575

Glu Phe Ile Cys Arg Ala Val His Glu Ala Ala Ser Pro Ser Gln Thr  
580 585 590

Val Gln Arg Ala Val Ser Val Asn Pro Gly Lys Phe Glu Gly Lys Pro  
595 600 605

Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr Gly His His  
610 615 620

His His His His  
625

<210> 41

<211> 629

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 41

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Val Cys Ser Arg Asp Phe Thr  
20 25 30

Pro Pro Thr Val Lys Ile Leu Gln Ser Ser Cys Asp Gly Gly Gly His  
35 40 45

Phe Pro Pro Thr Ile Gln Leu Leu Cys Leu Val Ser Gly Tyr Thr Pro  
50 55 60

Gly Thr Ile Asn Ile Thr Trp Leu Glu Asp Gly Gln Val Met Asp Val  
65 70 75 80

Asp Leu Ser Thr Ala Ser Thr Thr Gln Glu Gly Glu Leu Ala Ser Thr  
85 90 95

Gln Ser Glu Leu Thr Leu Ser Gln Lys His Trp Leu Ser Asp Arg Thr  
100 105 110

Tyr Thr Cys Gln Val Thr Tyr Gln Gly His Thr Phe Glu Asp Ser Thr  
115 120 125

ES 2 565 834 T3

Lys Lys Cys Gly Gly Gly Arg Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
 130 135 140  
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
 145 150 155 160  
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
 165 170 175  
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
 180 185 190  
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
 195 200 205  
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
 210 215 220  
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
 225 230 235 240  
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
 245 250 255  
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
 260 265 270  
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
 275 280 285  
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 290 295 300  
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
 305 310 315 320  
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 325 330 335  
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 340 345 350  
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 355 360 365  
 Lys Ser Leu Asp Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro



ES 2 565 834 T3

370						375										380
Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	
385					390					395					400	
Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	
				405					410					415		
Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	
			420					425					430			
Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	
		435					440					445				
Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	
	450					455					460					
Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	
465					470					475					480	
Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	
				485					490					495		
Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	
			500					505						510		
Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	
		515					520					525				
Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	
	530					535					540					
Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	
545					550					555					560	
Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	
				565					570					575		
Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	
			580					585					590			
Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Phe	Glu	Gly	Lys	
		595					600					605				
Pro	Ile	Pro	Asn	Pro	Leu	Leu	Gly	Leu	Asp	Ser	Thr	Arg	Thr	Gly	His	
	610					615					620					

ES 2 565 834 T3

His His His His His  
625

5 <210> 42  
<211> 713  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente  
<400> 42

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

ES 2 565 834 T3

			180						185							190
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	
		195					200					205				
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	
	210					215					220					
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	
225					230					235					240	
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	
				245					250					255		
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	
			260					265						270		
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	
		275					280					285				
Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	
	290					295					300					
Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	
305					310					315					320	
Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	
				325					330					335		
Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	
			340					345					350			
Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	
		355					360					365				
Lys	Ser	Leu	Asp	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	
	370					375					380					
Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	
385					390					395					400	
Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	
				405					410					415		
Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	
			420					425					430			

ES 2 565 834 T3

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 435 440 445

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 450 455 460

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 465 470 475 480

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala  
 485 490 495

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 500 505 510

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly  
 515 520 525

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 530 535 540

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
 545 550 555 560

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
 565 570 575

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 580 585 590

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Pro Arg Ala  
 595 600 605

Ala Pro Glu Val Tyr Ala Phe Ala Thr Pro Glu Trp Pro Gly Arg Asp  
 610 615 620

Lys Arg Thr Leu Ala Cys Leu Ile Gln Asn Phe Met Pro Glu Asp Ile  
 625 630 635 640

Ser Val Gln Trp Leu His Asn Glu Val Gln Leu Pro Asp Ala Arg His  
 645 650 655

Ser Thr Thr Gln Pro Arg Lys Thr Lys Gly Ser Gly Phe Phe Val Phe  
 660 665 670

ES 2 565 834 T3

Ser Arg Leu Glu Val Thr Arg Ala Glu Trp Glu Gln Lys Asp Glu Phe  
 675 680 685

Ile Cys Arg Ala Val His Glu Ala Ala Ser Pro Ser Gln Thr Val Gln  
 690 695 700

Arg Ala Val Ser Val Asn Pro Gly Lys  
 705 710

<210> 43

<211> 733

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 43

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Gln His Gly Gly Arg Ser Ser  
 20 25 30

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
 35 40 45

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
 50 55 60

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
 65 70 75 80

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val  
 85 90 95

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
 100 105 110

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
 115 120 125

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
 130 135 140

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
 145 150 155 160

ES 2 565 834 T3

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr  
165 170 175

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
180 185 190

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
195 200 205

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
210 215 220

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe  
225 230 235 240

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
245 250 255

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Leu Asp Glu Pro Lys Ser Cys  
260 265 270

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly  
275 280 285

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
290 295 300

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
305 310 315 320

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
325 330 335

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
340 345 350

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
355 360 365

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
370 375 380

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
385 390 395 400

ES 2 565 834 T3

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 405 410 415

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 420 425 430

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 435 440 445

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val  
 450 455 460

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
 465 470 475 480

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
 485 490 495

Pro Gly Lys Phe Glu Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys  
 500 505 510

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu  
 515 520 525

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
 530 535 540

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys  
 545 550 555 560

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
 565 570 575

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
 580 585 590

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
 595 600 605

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
 610 615 620

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
 625 630 635 640

ES 2 565 834 T3

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

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
660 665 670

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly  
675 680 685

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
690 695 700

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
705 710 715 720

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
725 730

<210> 44

<211> 566

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 44

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Ser Ser Lys Pro His Leu Val  
20 25 30

Thr Gln Leu Thr His Ala His Gly Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
35 40 45

Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr  
50 55 60

Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro  
65 70 75 80

Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser  
85 90 95

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg  
100 105 110



ES 2 565 834 T3

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro  
115 120 125

Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala  
130 135 140

Lys Thr Lys Leu Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val  
145 150 155 160

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr  
165 170 175

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr  
180 185 190

Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu  
195 200 205

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys  
210 215 220

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
225 230 235 240

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp  
245 250 255

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
260 265 270

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
275 280 285

Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
290 295 300

Gly Gly Arg Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys  
305 310 315 320

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu  
325 330 335

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
340 345 350

ES 2 565 834 T3

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys  
 355 360 365

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
 370 375 380

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
 385 390 395 400

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
 405 410 415

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
 420 425 430

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
 435 440 445

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
 450 455 460

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
 465 470 475 480

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly  
 485 490 495

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
 500 505 510

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
 515 520 525

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Phe Glu Gly  
 530 535 540

Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr Gly  
 545 550 555 560

His His His His His His  
 565

<210> 45  
 <211> 529  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

ES 2 565 834 T3

<220>

<223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 45

5

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Gln His Gly Gly Arg Ser Ser  
20 25 30

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
35 40 45

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
50 55 60

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
65 70 75 80

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val  
85 90 95

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
100 105 110

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
115 120 125

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
130 135 140

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
145 150 155 160

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr  
165 170 175

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
180 185 190

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
195 200 205

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
210 215 220

ES 2 565 834 T3

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe  
 225 230 235 240

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
 245 250 255

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe Glu  
 260 265 270

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
 275 280 285

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
 290 295 300

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
 305 310 315 320

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val  
 325 330 335

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
 340 345 350

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
 355 360 365

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
 370 375 380

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
 385 390 395 400

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr  
 405 410 415

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
 420 425 430

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
 435 440 445

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
 450 455 460

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

ES 2 565 834 T3

465 470 475 480

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
485 490 495

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Phe Glu Gly Lys Pro Ile Pro Asn  
500 505 510

Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr Gly His His His His His  
515 520 525

His

<210> 46  
<211> 559  
5 <212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 46

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly  
20 25 30

Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
35 40 45

Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr  
50 55 60

Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro  
65 70 75 80

Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Gly Gly Arg Ser Ser Glu Pro Lys Ser  
85 90 95

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu  
100 105 110

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

ES 2 565 834 T3

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

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

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr  
 165 170 175

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn  
 180 185 190

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro  
 195 200 205

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln  
 210 215 220

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val  
 225 230 235 240

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val  
 245 250 255

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro  
 260 265 270

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

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val  
 290 295 300

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu  
 305 310 315 320

Ser Pro Gly Lys Ser Leu Asp Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
 325 330 335

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val  
 340 345 350

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 355 360 365

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

ES 2 565 834 T3

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

<210> 47  
 <211> 806  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

10

<400> 47

Met	Glu	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro
1				5					10					15	

ES 2 565 834 T3

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly  
 20 25 30

Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
 35 40 45

Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr  
 50 55 60

Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro  
 65 70 75 80

Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser  
 85 90 95

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg  
 100 105 110

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro  
 115 120 125

Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala  
 130 135 140

Lys Thr Lys Leu Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val  
 145 150 155 160

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr  
 165 170 175

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr  
 180 185 190

Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu  
 195 200 205

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys  
 210 215 220

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
 225 230 235 240

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp  
 245 250 255

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser



ES 2 565 834 T3

			260						265							270
Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Ile	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	
		275					280					285				
Leu	His	Asn	Arg	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	
	290					295					300					
Gly	Gly	Arg	Ser	Ser	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	
305					310					315					320	
Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	
				325					330					335		
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	
			340					345					350			
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	
		355					360					365				
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	
	370					375					380					
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	
385					390					395					400	
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	
				405					410					415		
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	
			420					425					430			
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	
		435					440					445				
Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	
	450					455					460					
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	
465					470					475					480	
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	
				485					490					495		
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	
			500					505					510			

ES 2 565 834 T3

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
515 520 525

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Leu Glu  
530 535 540

Gly Pro Arg Phe Glu Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys  
545 550 555 560

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu  
565 570 575

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
580 585 590

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys  
595 600 605

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
610 615 620

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
625 630 635 640

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
645 650 655

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
660 665 670

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
675 680 685

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
690 695 700

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
705 710 715 720

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly  
725 730 735

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
740 745 750

ES 2 565 834 T3

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
 755 760 765

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Phe Glu Gly  
 770 775 780

Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr Gly  
 785 790 795 800

His His His His His His  
 805

<210> 48  
 <211> 394  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 48

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Glu Asp Thr Cys Gly Glu Leu  
 20 25 30

Glu Phe Gln Asn Asp Glu Ile Val Lys Thr Ile Ser Val Lys Val Ile  
 35 40 45

Asp Asp Glu Glu Tyr Glu Lys Asn Lys Thr Phe Phe Leu Glu Ile Gly  
 50 55 60

Lys Pro Arg Leu Val Glu Met Ser Glu Lys Lys Ala Leu Leu Leu Asn  
 65 70 75 80

Glu Leu Gly Gly Phe Thr Ile Thr Gly Lys Tyr Leu Phe Gly Gln Pro  
 85 90 95

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

Ile Thr Ile Ala Asp Glu Tyr Asp Asp Lys Gln Pro Leu Thr Ser Lys  
 115 120 125

Glu Lys Glu Glu Gly Gly Arg Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
 130 135 140

5

10

ES 2 565 834 T3

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
145 150 155 160

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
165 170 175

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
180 185 190

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
195 200 205

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
210 215 220

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
225 230 235 240

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
245 250 255

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
260 265 270

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
275 280 285

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
290 295 300

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
305 310 315 320

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
325 330 335

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
340 345 350

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
355 360 365

Lys Phe Glu Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser  
370 375 380

ES 2 565 834 T3

Thr Arg Thr Gly His His His His His His  
385 390

5 <210> 49  
<211> 634  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 49

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Glu Asp Thr Cys Gly Glu Leu  
20 25 30

Glu Phe Gln Asn Asp Glu Ile Val Lys Thr Ile Ser Val Lys Val Ile  
35 40 45

Asp Asp Glu Glu Tyr Glu Lys Asn Lys Thr Phe Phe Leu Glu Ile Gly  
50 55 60

Lys Pro Arg Leu Val Glu Met Ser Glu Lys Lys Ala Leu Leu Leu Asn  
65 70 75 80

Glu Leu Gly Gly Phe Thr Ile Thr Gly Lys Tyr Leu Phe Gly Gln Pro  
85 90 95

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

Ile Thr Ile Ala Asp Glu Tyr Asp Asp Lys Gln Pro Leu Thr Ser Lys  
115 120 125

Glu Lys Glu Glu Gly Gly Arg Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
130 135 140

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
145 150 155 160

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
165 170 175

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
180 185 190

ES 2 565 834 T3

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
 195 200 205

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
 210 215 220

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
 225 230 235 240

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
 245 250 255

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
 260 265 270

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
 275 280 285

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 290 295 300

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
 305 310 315 320

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 325 330 335

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 340 345 350

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 355 360 365

Lys Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe Glu Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
 370 375 380

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
 385 390 395 400

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
 405 410 415

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
 420 425 430

ES 2 565 834 T3

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
 435 440 445

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
 450 455 460

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
 465 470 475 480

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
 485 490 495

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
 500 505 510

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
 515 520 525

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 530 535 540

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
 545 550 555 560

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 565 570 575

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 580 585 590

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 595 600 605

Lys Phe Glu Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser  
 610 615 620

Thr Arg Thr Gly His His His His His His  
 625 630

<210> 50  
 <211> 296  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 50

5

10

ES 2 565 834 T3

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Gln His Ser Gly Gly Arg Ser  
20 25 30

Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
35 40 45

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
50 55 60

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
65 70 75 80

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
85 90 95

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
100 105 110

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
115 120 125

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
130 135 140

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
145 150 155 160

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu  
165 170 175

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
180 185 190

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
195 200 205

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
210 215 220

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
225 230 235 240



ES 2 565 834 T3

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 245 250 255

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe  
 260 265 270

Glu Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg  
 275 280 285

Thr Gly His His His His His His  
 290 295

<210> 51

<211> 252

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 51

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro  
 20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe  
 65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 85 90 95

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

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala  
 130 135 140

ES 2 565 834 T3

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly  
165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
195 200 205

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
245 250

<210> 52

<211> 336

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 52

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Gln His Ser Gly Gly Arg Ser  
20 25 30

Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
35 40 45

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
50 55 60

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
65 70 75 80

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

ES 2 565 834 T3

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

ES 2 565 834 T3

<210> 53  
 <211> 738  
 <212> PRT  
 5 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente  
  
 10 <400> 53  
  
 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15  
  
 Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Gln His Gly Gly Arg Ser Ser  
 20 25 30  
  
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
 35 40 45  
  
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
 50 55 60  
  
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
 65 70 75 80  
  
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val  
 85 90 95  
  
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
 100 105 110  
  
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
 115 120 125  
  
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
 130 135 140  
  
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
 145 150 155 160  
  
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr  
 165 170 175  
  
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
 180 185 190  
  
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

ES 2 565 834 T3

	195						200									205
Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	
	210						215					220				
Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	
	225				230					235					240	
Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	
				245					250					255		
Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Ser	Leu	Asp	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	
			260					265					270			
Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	
		275					280					285				
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	
	290					295					300					
Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	
	305				310					315					320	
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	
				325					330					335		
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	
			340					345					350			
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	
		355					360					365				
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	
	370					375					380					
Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	
	385				390					395				400		
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	
				405					410					415		
Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	
			420					425					430			
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	
		435					440					445				

ES 2 565 834 T3

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val  
450 455 460

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
465 470 475 480

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
485 490 495

Pro Gly Lys Phe Glu Asp Gln Asp Ile Ala Ile Arg Val Phe Ala Ile  
500 505 510

Pro Pro Ser Phe Ala Ser Ile Phe Leu Thr Lys Ser Thr Lys Leu Thr  
515 520 525

Cys Leu Val Thr Asp Leu Thr Thr Tyr Asp Ser Val Thr Ile Ser Trp  
530 535 540

Thr Arg Gln Asn Gly Glu Ala Val Lys Thr His Thr Asn Ile Ser Glu  
545 550 555 560

Ser His Pro Asn Ala Thr Phe Ser Ala Val Gly Glu Ala Ser Ile Cys  
565 570 575

Glu Asp Asp Trp Asn Ser Gly Glu Arg Phe Thr Cys Thr Val Thr His  
580 585 590

Thr Asp Leu Pro Ser Pro Leu Lys Gln Thr Ile Ser Arg Pro Lys Gly  
595 600 605

Val Ala Leu His Arg Pro Asp Val Tyr Leu Leu Pro Pro Ala Arg Glu  
610 615 620

Gln Leu Asn Leu Arg Glu Ser Ala Thr Ile Thr Cys Leu Val Thr Gly  
625 630 635 640

Phe Ser Pro Ala Asp Val Phe Val Gln Trp Met Gln Arg Gly Gln Pro  
645 650 655

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

Ala Pro Gly Arg Tyr Phe Ala His Ser Ile Leu Thr Val Ser Glu Glu  
675 680 685

ES 2 565 834 T3

Glu Trp Asn Thr Gly Glu Thr Tyr Thr Cys Val Val Ala His Glu Ala  
690 695 700

Leu Pro Asn Arg Val Thr Glu Arg Thr Val Asp Lys Ser Thr Gly Lys  
705 710 715 720

Pro Thr Leu Tyr Asn Val Ser Leu Val Met Ser Asp Thr Ala Gly Thr  
725 730 735

Cys Tyr

- 5 <210> 54
- <211> 510
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- 10 <220>
- <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 54

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Gln His Ser Gly Gly Arg Ser  
20 25 30

Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
35 40 45

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
50 55 60

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
65 70 75 80

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
85 90 95

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
100 105 110

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
115 120 125

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
130 135 140

ES 2 565 834 T3

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
145 150 155 160

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu  
165 170 175

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
180 185 190

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
195 200 205

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
210 215 220

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
225 230 235 240

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
245 250 255

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe  
260 265 270

Glu Asp Gln Asp Ile Ala Ile Arg Val Phe Ala Ile Pro Pro Ser Phe  
275 280 285

Ala Ser Ile Phe Leu Thr Lys Ser Thr Lys Leu Thr Cys Leu Val Thr  
290 295 300

Asp Leu Thr Thr Tyr Asp Ser Val Thr Ile Ser Trp Thr Arg Gln Asn  
305 310 315 320

Gly Glu Ala Val Lys Thr His Thr Asn Ile Ser Glu Ser His Pro Asn  
325 330 335

Ala Thr Phe Ser Ala Val Gly Glu Ala Ser Ile Cys Glu Asp Asp Trp  
340 345 350

Asn Ser Gly Glu Arg Phe Thr Cys Thr Val Thr His Thr Asp Leu Pro  
355 360 365

Ser Pro Leu Lys Gln Thr Ile Ser Arg Pro Lys Gly Val Ala Leu His  
370 375 380



ES 2 565 834 T3

Arg Pro Asp Val Tyr Leu Leu Pro Pro Ala Arg Glu Gln Leu Asn Leu  
385 390 395 400

Arg Glu Ser Ala Thr Ile Thr Cys Leu Val Thr Gly Phe Ser Pro Ala  
405 410 415

Asp Val Phe Val Gln Trp Met Gln Arg Gly Gln Pro Leu Ser Pro Glu  
420 425 430

Lys Tyr Val Thr Ser Ala Pro Met Pro Glu Pro Gln Ala Pro Gly Arg  
435 440 445

Tyr Phe Ala His Ser Ile Leu Thr Val Ser Glu Glu Glu Trp Asn Thr  
450 455 460

Gly Glu Thr Tyr Thr Cys Val Val Ala His Glu Ala Leu Pro Asn Arg  
465 470 475 480

Val Thr Glu Arg Thr Val Asp Lys Ser Thr Gly Lys Pro Thr Leu Tyr  
485 490 495

Asn Val Ser Leu Val Met Ser Asp Thr Ala Gly Thr Cys Tyr  
500 505 510

<210> 55

<211> 394

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 55

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Val Cys Ser Arg Asp Phe Thr  
20 25 30

Pro Pro Thr Val Lys Ile Leu Gln Ser Ser Cys Asp Gly Gly Gly His  
35 40 45

Phe Pro Pro Thr Ile Gln Leu Leu Cys Leu Val Ser Gly Tyr Thr Pro  
50 55 60

Gly Thr Ile Asn Ile Thr Trp Leu Glu Asp Gly Gln Val Met Asp Val  
65 70 75 80

ES 2 565 834 T3

Asp Leu Ser Thr Ala Ser Thr Thr Gln Glu Gly Glu Leu Ala Ser Thr  
85 90 95

Gln Ser Glu Leu Thr Leu Ser Gln Lys His Trp Leu Ser Asp Arg Thr  
100 105 110

Tyr Thr Cys Gln Val Thr Tyr Gln Gly His Thr Phe Glu Asp Ser Thr  
115 120 125

Lys Lys Cys Gly Gly Gly Arg Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
130 135 140

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
145 150 155 160

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
165 170 175

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
180 185 190

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
195 200 205

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
210 215 220

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
225 230 235 240

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
245 250 255

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
260 265 270

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
275 280 285

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
290 295 300

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
305 310 315 320

ES 2 565 834 T3

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 325 330 335

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 340 345 350

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 355 360 365

Lys Phe Glu Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser  
 370 375 380

Thr Arg Thr Gly His His His His His His  
 385 390

<210> 56  
 <211> 362  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 56

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Val Cys Ser Arg Asp Phe Thr Pro Pro Thr Val Lys  
 20 25 30

Ile Leu Gln Ser Ser Cys Asp Gly Gly Gly His Phe Pro Pro Thr Ile  
 35 40 45

Gln Leu Leu Cys Leu Val Ser Gly Tyr Thr Pro Gly Thr Ile Asn Ile  
 50 55 60

Thr Trp Leu Glu Asp Gly Gln Val Met Asp Val Asp Leu Ser Thr Ala  
 65 70 75 80

Ser Thr Thr Gln Glu Gly Glu Leu Ala Ser Thr Gln Ser Glu Leu Thr  
 85 90 95

Leu Ser Gln Lys His Trp Leu Ser Asp Arg Thr Tyr Thr Cys Gln Val  
 100 105 110

Thr Tyr Gln Gly His Thr Phe Glu Asp Ser Thr Lys Lys Cys Glu Pro  
 115 120 125

ES 2 565 834 T3

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu  
 130 135 140

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp  
 145 150 155 160

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp  
 165 170 175

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly  
 180 185 190

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn  
 195 200 205

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp  
 210 215 220

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro  
 225 230 235 240

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu  
 245 250 255

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn  
 260 265 270

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
 275 280 285

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr  
 290 295 300

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys  
 305 310 315 320

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys  
 325 330 335

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
 340 345 350

Ser Leu Ser Pro Gly Lys Phe Glu Gly Lys  
 355 360

ES 2 565 834 T3

<210> 57  
 <211> 519  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

10

<400> 57

```

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1                               10                               15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
 20                               25                               30

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
 35                               40                               45

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 50                               55                               60

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
 65                               70                               75                               80

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 85                               90                               95

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
 100                              105                              110

Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 115                              120                              125

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 130                              135                              140

Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 145                              150                              155                              160

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 165                              170                              175

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 180                              185                              190

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly
 195                              200                              205
    
```

ES 2 565 834 T3

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
 210 215 220

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
 225 230 235 240

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Arg Ser Ser  
 245 250 255

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
 260 265 270

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
 275 280 285

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
 290 295 300

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val  
 305 310 315 320

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
 325 330 335

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
 340 345 350

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
 355 360 365

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
 370 375 380

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr  
 385 390 395 400

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

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
 420 425 430

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
 435 440 445

ES 2 565 834 T3

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe  
450 455 460

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
465 470 475 480

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe Glu  
485 490 495

Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr  
500 505 510

Gly His His His His His His  
515

- 5 <210> 58
- <211> 488
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente
- <400> 58

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu  
20 25 30

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu  
35 40 45

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
50 55 60

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln  
65 70 75 80

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
85 90 95

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu  
100 105 110

Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
115 120 125

ES 2 565 834 T3

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
130 135 140

Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
145 150 155 160

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
165 170 175

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
180 185 190

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly  
195 200 205

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
210 215 220

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
225 230 235 240

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Arg Ser Ser  
245 250 255

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
260 265 270

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
275 280 285

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
290 295 300

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val  
305 310 315 320

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
325 330 335

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
340 345 350

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
355 360 365



ES 2 565 834 T3

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
 370 375 380

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr  
 385 390 395 400

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

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
 420 425 430

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
 435 440 445

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe  
 450 455 460

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
 465 470 475 480

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 485

- 5 <210> 59
- <211> 303
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- 10 <220>
- <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 59

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu  
 20 25 30

Cys Pro Pro Cys Pro Arg Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr  
 35 40 45

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser  
 50 55 60

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg  
 65 70 75 80

ES 2 565 834 T3

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro  
85 90 95

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala  
100 105 110

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val  
115 120 125

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr  
130 135 140

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr  
145 150 155 160

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu  
165 170 175

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys  
180 185 190

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
195 200 205

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp  
210 215 220

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
225 230 235 240

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
245 250 255

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
260 265 270

Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe Glu Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu  
275 280 285

Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr Gly His His His His His His  
290 295 300

5 <210> 60  
<211> 272  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

ES 2 565 834 T3

<220>

<223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

5 <400> 60

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu  
 20 25 30

Cys Pro Pro Cys Pro Arg Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr  
 35 40 45

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser  
 50 55 60

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg  
 65 70 75 80

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro  
 85 90 95

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala  
 100 105 110

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val  
 115 120 125

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr  
 130 135 140

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr  
 145 150 155 160

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu  
 165 170 175

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys  
 180 185 190

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
 195 200 205

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp  
 210 215 220

ES 2 565 834 T3

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
225 230 235 240

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
245 250 255

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
260 265 270

5 <210> 61  
<211> 264  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 61

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro  
20 25 30

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
35 40 45

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
50 55 60

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
65 70 75 80

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val  
85 90 95

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
100 105 110

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
115 120 125

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
130 135 140

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro

15



ES 2 565 834 T3

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro  
85 90 95

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala  
100 105 110

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val  
115 120 125

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr  
130 135 140

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr  
145 150 155 160

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu  
165 170 175

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys  
180 185 190

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
195 200 205

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp  
210 215 220

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
225 230 235 240

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
245 250 255

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
260 265 270

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

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro  
290 295 300

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr  
305 310 315 320

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn



ES 2 565 834 T3

<223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 63

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu  
 20 25 30

Cys Pro Pro Cys Pro Arg Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr  
 35 40 45

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser  
 50 55 60

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg  
 65 70 75 80

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro  
 85 90 95

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala  
 100 105 110

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val  
 115 120 125

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr  
 130 135 140

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr  
 145 150 155 160

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu  
 165 170 175

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys  
 180 185 190

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
 195 200 205

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp  
 210 215 220

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser





ES 2 565 834 T3

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr  
 485 490 495

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 500 505

5 <210> 64  
 <211> 511  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 64

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Val Cys Ser Arg Asp Phe Thr  
 20 25 30

Pro Pro Thr Val Lys Ile Leu Gln Ser Ser Cys Asp Gly Gly Gly His  
 35 40 45

Phe Pro Pro Thr Ile Gln Leu Leu Cys Leu Val Ser Gly Tyr Thr Pro  
 50 55 60

Gly Thr Ile Asn Ile Thr Trp Leu Glu Asp Gly Gln Val Met Asp Val  
 65 70 75 80

Asp Leu Ser Thr Ala Ser Thr Thr Gln Glu Gly Glu Leu Ala Ser Thr  
 85 90 95

Gln Ser Glu Leu Thr Leu Ser Gln Lys His Trp Leu Ser Asp Arg Thr  
 100 105 110

Tyr Thr Cys Gln Val Thr Tyr Gln Gly His Thr Phe Glu Asp Ser Thr  
 115 120 125

Lys Lys Cys Gly Gly Gly Asp Ile Val Cys Ser Arg Asp Phe Thr Pro  
 130 135 140

Pro Thr Val Lys Ile Leu Gln Ser Ser Cys Asp Gly Gly Gly His Phe  
 145 150 155 160

Pro Pro Thr Ile Gln Leu Leu Cys Leu Val Ser Gly Tyr Thr Pro Gly



ES 2 565 834 T3

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp  
 420 425 430

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
 435 440 445

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
 450 455 460

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 465 470 475 480

Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe Glu Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu  
 485 490 495

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

<210> 65  
 <211> 480  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 65

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Val Cys Ser Arg Asp Phe Thr  
 20 25 30

Pro Pro Thr Val Lys Ile Leu Gln Ser Ser Cys Asp Gly Gly Gly His  
 35 40 45

Phe Pro Pro Thr Ile Gln Leu Leu Cys Leu Val Ser Gly Tyr Thr Pro  
 50 55 60

Gly Thr Ile Asn Ile Thr Trp Leu Glu Asp Gly Gln Val Met Asp Val  
 65 70 75 80

Asp Leu Ser Thr Ala Ser Thr Thr Gln Glu Gly Glu Leu Ala Ser Thr  
 85 90 95

Gln Ser Glu Leu Thr Leu Ser Gln Lys His Trp Leu Ser Asp Arg Thr

5

10

ES 2 565 834 T3

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

ES 2 565 834 T3

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr  
 355 360 365

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu  
 370 375 380

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys  
 385 390 395 400

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
 405 410 415

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp  
 420 425 430

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
 435 440 445

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
 450 455 460

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 465 470 475 480

<210> 66  
 <211> 332  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

10

<400> 66

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Leu Gly Gly Gly Ser Ile Lys  
 20 25 30

Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser Lys Ile Tyr His Ile  
 35 40 45

Glu Asn Glu Ile Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile Gly Glu Arg Gly His  
 50 55 60

Gly Gly Gly Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys



ES 2 565 834 T3

Asp Ser Thr Arg Thr Gly His His His His His His  
 325 330

5 <210> 67  
 <211> 301  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 67

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Leu Gly Gly Gly Ser Ile Lys  
 20 25 30

Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser Lys Ile Tyr His Ile  
 35 40 45

Glu Asn Glu Ile Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile Gly Glu Arg Gly His  
 50 55 60

Gly Gly Gly Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys  
 65 70 75 80

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu  
 85 90 95

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
 100 105 110

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys  
 115 120 125

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
 130 135 140

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
 145 150 155 160

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
 165 170 175

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys



ES 2 565 834 T3

			180						185					190			
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser		
		195					200					205					
Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys		
	210					215					220						
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln		
225					230					235					240		
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly		
				245					250					255			
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln		
			260					265					270				
Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn		
		275					280					285					
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys					
	290					295					300						

<210> 68  
 <211> 444  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

10

<400> 68

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

ES 2 565 834 T3

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

ES 2 565 834 T3

				325						330						335
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	
			340					345					350			
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	
		355					360					365				
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	
	370					375					380					
Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	
385					390					395					400	
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Ser	Leu	Glu	
				405					410					415		
Gly	Pro	Arg	Phe	Glu	Gly	Lys	Pro	Ile	Pro	Asn	Pro	Leu	Leu	Gly	Leu	
			420					425					430			
Asp	Ser	Thr	Arg	Thr	Gly	His	His	His	His	His	His					
		435				440										

<210> 69  
 <211> 413  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

10

<400> 69

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

ES 2 565 834 T3

Lys Ile Leu Gln Ser Ser Cys Asp Gly Gly Gly His Phe Pro Pro Thr  
85 90 95

Ile Gln Leu Leu Cys Leu Val Ser Gly Tyr Thr Pro Gly Thr Ile Asn  
100 105 110

Ile Thr Trp Leu Glu Asp Gly Gln Val Met Asp Val Asp Leu Ser Thr  
115 120 125

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

Thr Leu Ser Gln Lys His Trp Leu Ser Asp Arg Thr Tyr Thr Cys Gln  
145 150 155 160

Val Thr Tyr Gln Gly His Thr Phe Glu Asp Ser Thr Lys Lys Cys Gly  
165 170 175

Gly Gly Arg Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys  
180 185 190

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu  
195 200 205

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
210 215 220

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

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
245 250 255

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
260 265 270

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
275 280 285

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
290 295 300

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
305 310 315 320

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

ES 2 565 834 T3

325 330 335

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
 340 345 350

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly  
 355 360 365

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
 370 375 380

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
 385 390 395 400

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 405 410

<210> 70  
 <211> 565  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 70

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Leu Gly Gly Gly Ser Ile Lys  
 20 25 30

Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser Lys Ile Tyr His Ile  
 35 40 45

Glu Asn Glu Ile Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile Gly Glu Arg Gly His  
 50 55 60

Ile Leu Gly Gly Gly Asp Ile Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro  
 65 70 75 80

Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro  
 85 90 95

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr  
 100 105 110

ES 2 565 834 T3

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn  
115 120 125

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg  
130 135 140

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val  
145 150 155 160

Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser  
165 170 175

Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys  
180 185 190

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu  
195 200 205

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe  
210 215 220

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu  
225 230 235 240

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe  
245 250 255

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly  
260 265 270

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr  
275 280 285

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Arg Ser Ser Glu Pro  
290 295 300

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu  
305 310 315 320

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp  
325 330 335

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp  
340 345 350

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

ES 2 565 834 T3

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

<210> 71  
 <211> 534  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>

ES 2 565 834 T3

<223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente  
 <400> 71

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Leu Gly Gly Gly Ser Ile Lys  
 20 25 30

Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser Lys Ile Tyr His Ile  
 35 40 45

Glu Asn Glu Ile Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile Gly Glu Arg Gly His  
 50 55 60

Ile Leu Gly Gly Gly Asp Ile Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro  
 65 70 75 80

Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro  
 85 90 95

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr  
 100 105 110

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn  
 115 120 125

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg  
 130 135 140

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val  
 145 150 155 160

Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser  
 165 170 175

Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys  
 180 185 190

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu  
 195 200 205

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe  
 210 215 220

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu





ES 2 565 834 T3

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys  
 485 490 495

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys  
 500 505 510

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
 515 520 525

Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 530

<210> 72

<211> 344

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 72

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Leu Gly Gly Gly Ser Ile Lys  
 20 25 30

Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser Lys Ile Tyr His Ile  
 35 40 45

Glu Asn Glu Ile Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile Gly Glu Arg Gly His  
 50 55 60

Asp Ile Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Arg Ser  
 65 70 75 80

Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 85 90 95

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 115 120 125

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

ES 2 565 834 T3

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

<210> 73  
 <211> 313  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

ES 2 565 834 T3

<400> 73

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Leu Gly Gly Gly Ser Ile Lys  
20 25 30

Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser Lys Ile Tyr His Ile  
35 40 45

Glu Asn Glu Ile Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile Gly Glu Arg Gly His  
50 55 60

Asp Ile Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Arg Ser  
65 70 75 80

Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
85 90 95

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
115 120 125

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
130 135 140

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
145 150 155 160

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
165 170 175

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
180 185 190

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
195 200 205

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
210 215 220

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro



ES 2 565 834 T3

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu  
 115 120 125

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr  
 130 135 140

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val  
 145 150 155 160

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val  
 165 170 175

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser  
 180 185 190

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu  
 195 200 205

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala  
 210 215 220

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro  
 225 230 235 240

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln  
 245 250 255

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

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr  
 275 280 285

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu  
 290 295 300

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser  
 305 310 315 320

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser  
 325 330 335

Leu Ser Pro Gly Lys Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe Glu Gly Lys Pro  
 340 345 350

Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr Gly His His

ES 2 565 834 T3

355

360

365

His His His His  
370

- 5 <210> 75
- <211> 341
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente
- <400> 75

```

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1                               5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ala Ala Asp Ile Leu Gly Gly Gly Ser Ile Lys
                20                25                30

Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser Lys Ile Tyr His Ile
          35                40                45

Glu Asn Glu Ile Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile Gly Glu Arg Gly His
 50                55                60

Ile Leu Gly Gly Gly Ser Ile Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu
65                70                75                80

Ile Leu Ser Lys Ile Tyr His Ile Glu Asn Glu Ile Ala Arg Ile Lys
                85                90                95

Lys Leu Ile Gly Glu Arg Gly His Gly Gly Gly Ser Ser Glu Pro Lys
                100                105                110

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
          115                120                125

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 130                135                140

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
145                150                155                160

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
                165                170                175
    
```

ES 2 565 834 T3

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser  
180 185 190

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu  
195 200 205

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala  
210 215 220

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro  
225 230 235 240

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln  
245 250 255

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

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr  
275 280 285

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu  
290 295 300

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser  
305 310 315 320

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser  
325 330 335

Leu Ser Pro Gly Lys  
340

<210> 76

<211> 412

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 76

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

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



ES 2 565 834 T3

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

ES 2 565 834 T3

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
 275 280 285

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
 290 295 300

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
 305 310 315 320

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly  
 325 330 335

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
 340 345 350

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
 355 360 365

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Leu Glu  
 370 375 380

Gly Pro Arg Phe Glu Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu  
 385 390 395 400

Asp Ser Thr Arg Thr Gly His His His His His His  
 405 410

<210> 77

<211> 381

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 77

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

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

Pro Cys Pro Asp Ile Val Cys Ser Arg Asp Phe Thr Pro Pro Thr Val  
 35 40 45

Lys Ile Leu Gln Ser Ser Cys Asp Gly Gly Gly His Phe Pro Pro Thr  
 50 55 60

ES 2 565 834 T3

Ile Gln Leu Leu Cys Leu Val Ser Gly Tyr Thr Pro Gly Thr Ile Asn  
65 70 75 80

Ile Thr Trp Leu Glu Asp Gly Gln Val Met Asp Val Asp Leu Ser Thr  
85 90 95

Ala Ser Thr Thr Gln Glu Gly Glu Leu Ala Ser Thr Gln Ser Glu Leu  
100 105 110

Thr Leu Ser Gln Lys His Trp Leu Ser Asp Arg Thr Tyr Thr Cys Gln  
115 120 125

Val Thr Tyr Gln Gly His Thr Phe Glu Asp Ser Thr Lys Lys Cys Gly  
130 135 140

Gly Gly Arg Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys  
145 150 155 160

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu  
165 170 175

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
180 185 190

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys  
195 200 205

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
210 215 220

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

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
245 250 255

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
260 265 270

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
275 280 285

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
290 295 300

ES 2 565 834 T3

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
 305 310 315 320

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly  
 325 330 335

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
 340 345 350

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
 355 360 365

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 370 375 380

<210> 78

<211> 575

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 78

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

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

Pro Cys Pro Asp Ile Leu Gly Gly Gly Ser Ile Lys Gln Ile Glu Asp  
 35 40 45

Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser Lys Ile Tyr His Ile Glu Asn Glu Ile  
 50 55 60

Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile Gly Glu Arg Gly His Gly Gly Gly Ser  
 65 70 75 80

Ser Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro  
 85 90 95

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

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

ES 2 565 834 T3

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val  
 130 135 140

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser  
 145 150 155 160

Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu  
 165 170 175

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala  
 180 185 190

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro  
 195 200 205

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln  
 210 215 220

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala  
 225 230 235 240

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr  
 245 250 255

Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu  
 260 265 270

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser  
 275 280 285

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser  
 290 295 300

Leu Ser Pro Gly Lys Arg Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr  
 305 310 315 320

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser  
 325 330 335

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg  
 340 345 350

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro  
 355 360 365

ES 2 565 834 T3

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala  
370 375 380

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val  
385 390 395 400

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr  
405 410 415

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr  
420 425 430

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu  
435 440 445

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys  
450 455 460

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
465 470 475 480

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp  
485 490 495

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
500 505 510

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
515 520 525

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
530 535 540

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

Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr Gly His His His His His His  
565 570 575

<210> 79  
<211> 544  
5 <212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 79

ES 2 565 834 T3

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

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

Pro Cys Pro Asp Ile Leu Gly Gly Gly Ser Ile Lys Gln Ile Glu Asp  
35 40 45

Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser Lys Ile Tyr His Ile Glu Asn Glu Ile  
50 55 60

Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile Gly Glu Arg Gly His Gly Gly Gly Ser  
65 70 75 80

Ser Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro  
85 90 95

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

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

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val  
130 135 140

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser  
145 150 155 160

Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu  
165 170 175

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala  
180 185 190

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro  
195 200 205

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln  
210 215 220

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala  
225 230 235 240

ES 2 565 834 T3

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



ES 2 565 834 T3

485

490

495

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
500 505 510

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
515 520 525

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
530 535 540

<210> 80

<211> 315

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 80

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

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

Pro Cys Pro Asp Ile Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys  
35 40 45

Pro Arg Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro  
50 55 60

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
65 70 75 80

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
85 90 95

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

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
115 120 125

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
130 135 140

ES 2 565 834 T3

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
145 150 155 160

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala  
165 170 175

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
180 185 190

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly  
195 200 205

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
210 215 220

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
225 230 235 240

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
245 250 255

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
260 265 270

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Leu Glu Gly  
275 280 285

Pro Arg Phe Glu Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp  
290 295 300

Ser Thr Arg Thr Gly His His His His His His  
305 310 315

<210> 81

<211> 284

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

10

<400> 81

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

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

ES 2 565 834 T3

Pro Cys Pro Asp Ile Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys  
 35 40 45

Pro Arg Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro  
 50 55 60

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 65 70 75 80

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 85 90 95

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

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 115 120 125

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 130 135 140

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 145 150 155 160

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala  
 165 170 175

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 180 185 190

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly  
 195 200 205

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 210 215 220

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
 225 230 235 240

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
 245 250 255

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 260 265 270

ES 2 565 834 T3

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 275 280

5 <210> 82  
 <211> 344  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 82

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

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

Pro Cys Pro Asp Ile Leu Gly Gly Gly Ser Ile Lys Gln Ile Glu Asp  
 35 40 45

Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser Lys Ile Tyr His Ile Glu Asn Glu Ile  
 50 55 60

Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile Gly Glu Arg Gly His Gly Gly Gly Ser  
 65 70 75 80

Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 85 90 95

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 115 120 125

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 130 135 140

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 145 150 155 160

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 165 170 175

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 180 185 190

ES 2 565 834 T3

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
 195 200 205

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
 210 215 220

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 225 230 235 240

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 245 250 255

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

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 275 280 285

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 290 295 300

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe  
 305 310 315 320

Glu Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg  
 325 330 335

Thr Gly His His His His His His  
 340

<210> 83  
 <211> 313  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

10

<400> 83

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

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

Pro Cys Pro Asp Ile Leu Gly Gly Gly Ser Ile Lys Gln Ile Glu Asp  
 35 40 45

ES 2 565 834 T3

Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser Lys Ile Tyr His Ile Glu Asn Glu Ile  
50 55 60

Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile Gly Glu Arg Gly His Gly Gly Gly Ser  
65 70 75 80

Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
85 90 95

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
115 120 125

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
130 135 140

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
145 150 155 160

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
165 170 175

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
180 185 190

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
195 200 205

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
210 215 220

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
225 230 235 240

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
245 250 255

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

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
275 280 285

ES 2 565 834 T3

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 290 295 300

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 305 310

<210> 84  
 <211> 531  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

<400> 84

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

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

Pro Cys Pro Asp Ile Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys  
 35 40 45

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 50 55 60

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 65 70 75 80

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr  
 85 90 95

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 100 105 110

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His  
 115 120 125

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 130 135 140

Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln  
 145 150 155 160

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
 165 170 175

ES 2 565 834 T3

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 180 185 190

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 195 200 205

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 210 215 220

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 225 230 235 240

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 245 250 255

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Arg Ser Ser Glu Pro Lys Ser  
 260 265 270

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu  
 275 280 285

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu  
 290 295 300

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser  
 305 310 315 320

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu  
 325 330 335

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr  
 340 345 350

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn  
 355 360 365

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro  
 370 375 380

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln  
 385 390 395 400

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val  
 405 410 415



ES 2 565 834 T3

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val  
 420 425 430

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro  
 435 440 445

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr  
 450 455 460

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val  
 465 470 475 480

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu  
 485 490 495

Ser Pro Gly Lys Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe Glu Gly Lys Pro Ile  
 500 505 510

Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr Gly His His His  
 515 520 525

His His His  
 530

<210> 85  
 <211> 500  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Monómero de estradómero sintetizado químicamente

10

<400> 85

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

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

Pro Cys Pro Asp Ile Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys  
 35 40 45

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 50 55 60

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 65 70 75 80

ES 2 565 834 T3

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr  
85 90 95

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
100 105 110

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His  
115 120 125

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
130 135 140

Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln  
145 150 155 160

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
165 170 175

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
180 185 190

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
195 200 205

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
210 215 220

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
225 230 235 240

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
245 250 255

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Arg Ser Ser Glu Pro Lys Ser  
260 265 270

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu  
275 280 285

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu  
290 295 300

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser  
305 310 315 320

ES 2 565 834 T3

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu  
 325 330 335

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr  
 340 345 350

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn  
 355 360 365

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro  
 370 375 380

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln  
 385 390 395 400

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val  
 405 410 415

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val  
 420 425 430

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro  
 435 440 445

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr  
 450 455 460

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val  
 465 470 475 480

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu  
 485 490 495

Ser Pro Gly Lys  
 500

<210> 86  
 <211> 159  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 86

Met Lys Asn His Leu Leu Phe Trp Gly Val Leu Ala Val Phe Ile Lys  
 1 5 10 15

Ala Val His Val Lys Ala Gln Glu Asp Glu Arg Ile Val Leu Val Asp

5

10

ES 2 565 834 T3

20

25

30

Asn Lys Cys Lys Cys Ala Arg Ile Thr Ser Arg Ile Ile Arg Ser Ser  
35 40 45

Glu Asp Pro Asn Glu Asp Ile Val Glu Arg Asn Ile Arg Ile Ile Val  
50 55 60

Pro Leu Asn Asn Arg Glu Asn Ile Ser Asp Pro Thr Ser Pro Leu Arg  
65 70 75 80

Thr Arg Phe Val Tyr His Leu Ser Asp Leu Cys Lys Lys Cys Asp Pro  
85 90 95

Thr Glu Val Glu Leu Asp Asn Gln Ile Val Thr Ala Thr Gln Ser Asn  
100 105 110

Ile Cys Asp Glu Asp Ser Ala Thr Glu Thr Cys Tyr Thr Tyr Asp Arg  
115 120 125

Asn Lys Cys Tyr Thr Ala Val Val Pro Leu Val Tyr Gly Gly Glu Thr  
130 135 140

Lys Met Val Glu Thr Ala Leu Thr Pro Asp Ala Cys Tyr Pro Asp  
145 150 155

5 <210> 87  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

10 <400> 87

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
1 5 10 15

15 <210> 88  
<211> 110  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 88

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

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

ES 2 565 834 T3

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

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

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

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

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

5 <210> 89  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 89

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

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe  
 20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu  
 35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe  
 50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly  
 65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr  
 85 90 95

10 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 100 105

15 <210> 90  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 90

ES 2 565 834 T3

Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro  
 1 5 10

5 <210> 91  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 91

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

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

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

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

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

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

10 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys  
 100 105

15 <210> 92  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 92

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

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe  
 20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu  
 35 40 45

20 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe  
 50 55 60

ES 2 565 834 T3

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly  
 65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr  
 85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 100 105

5  
 <210> 93  
 <211> 62  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 93

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

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro  
 20 25 30

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu  
 35 40 45

10  
 Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro  
 50 55 60

15  
 <210> 94  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 94

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

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

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

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

20  
 Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His





ES 2 565 834 T3

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

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

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

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

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

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

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

<210> 98  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 98

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

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe  
 20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu  
 35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe  
 50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly  
 65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr  
 85 90 95

10

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 100 105

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que comprende dos o más unidades multimerizadas,  
5 en el que cada una de dichas unidades comprende una región de multimerización y una región que comprende al menos un dominio Fc que es capaz de unirse a un receptor Fcy,  
en el que cada una de dichas unidades comprende dos monómeros dimerizados, en donde cada uno de dichos monómeros comprende un monómero de región de multimerización y una región que comprende al menos un monómero de dominio Fc, en donde la dimerización de los dos monómeros forma una región de multimerización y una región que comprende al menos un dominio Fc que es capaz de unirse a un receptor Fcy,  
10 en el que las regiones de multimerización de las dos o más unidades se multimerizan para formar el compuesto, y en donde el compuesto es capaz de unirse a un primer receptor Fcy a través de un primer dominio Fc y a un segundo receptor Fcy a través de un segundo dominio Fc,  
en el que la región de multimerización se selecciona entre el grupo que consiste en una bisagra de IgG2, un dominio CH2 de IgE, una cremallera de leucina, una cremallera de isoleucina y un dedo de cinc, y  
15 en el que cada una de las regiones que comprenden al menos un dominio Fc que es capaz de unirse a un receptor Fcy comprende una bisagra de IgG1, un dominio CH2 de IgG1 y un dominio CH3 de IgG1.
2. Una composición que comprende un dispositivo médico implantable o acoplable y al menos un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 unido al mismo.  
20
3. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la reivindicación 1, para su uso como medicamento en un método para alterar una respuesta inmunitaria en un sujeto que comprende administrar a un sujeto que lo necesite la composición farmacéutica.
- 25 4. Una composición que comprende un sustrato con un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 unido al mismo, para su uso en un método de tratamiento de una afección inflamatoria, una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno de la densidad ósea, una infección aguda o una infección crónica, mediante la inhibición de la actividad de una célula procedente de monocitos (MDC), comprendiendo el método poner en contacto la célula *in vivo* con la composición.  
30
5. Una composición que comprende un sustrato que tiene un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 unido al mismo, para su uso en un método de tratamiento que comprende administrar la composición a un sujeto animal en donde el animal tiene o está en riesgo de desarrollar una afección mediada por células derivadas de monocitos (MDMC), en donde la MDMC es una afección inflamatoria, una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno  
35 de la densidad ósea, una infección aguda o una infección crónica.
6. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 4 o con la reivindicación 5 en donde la afección inflamatoria es colitis ulcerosa o enfermedad de Alzheimer, la enfermedad autoinmune es artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico o polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica o el cáncer es un linfoma.  
40

Monómero de fragmento Fc  
de IgG1 normal

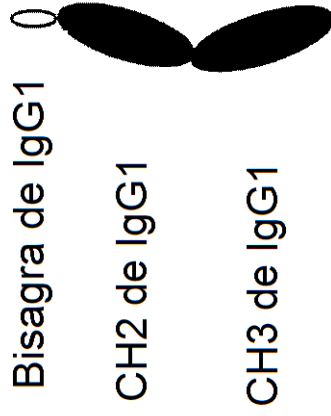


FIGURA 1A

Fragmento de Fc de IgG1 normal

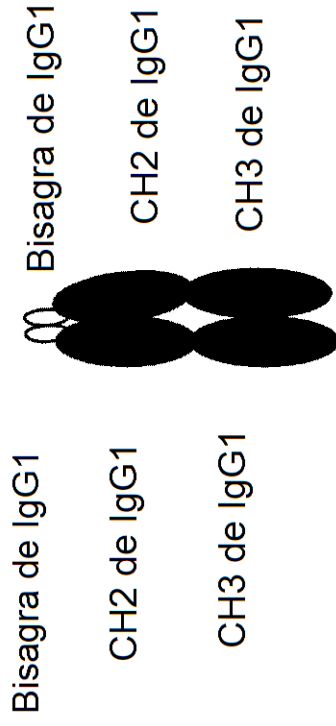
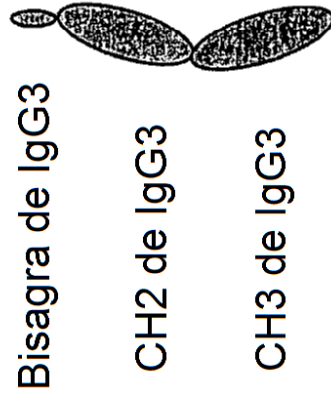


FIGURA 1B

Monómero de fragmento de Fc  
de IgG3 normal



Fragmento Fc de IgG3 normal

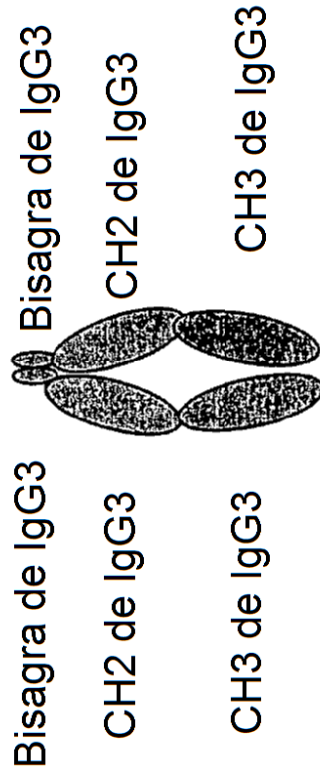


FIGURA 1C

FIGURA 1D

Dos fragmentos Fc  
de IgG1 dimerizados  
unidos mediante  
interacciones proteína-proteína  
"adherentes"

- En ocasiones citado  
en la bibliografía  
como dímeros de fragmento Fc

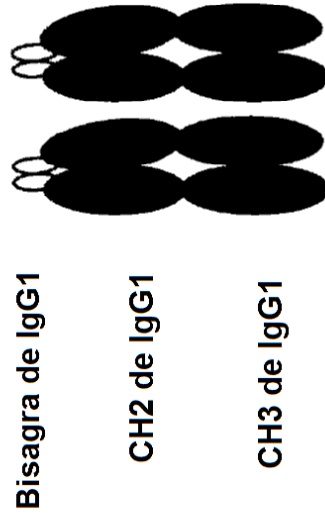


FIGURA 2A

Múltiples fragmentos Fc  
de IgG1 dimerizados  
unidos mediante  
interacciones proteína-proteína  
"adherentes"

- En ocasiones citado  
en la bibliografía  
como multímeros de fragmento Fc

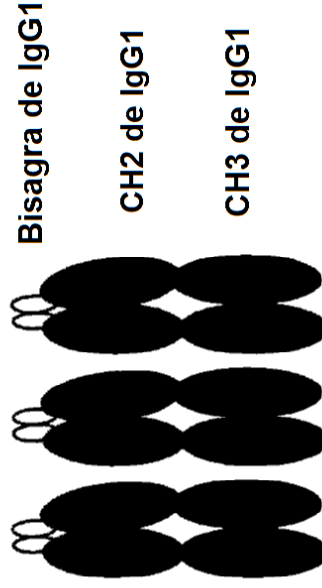


FIGURA 2B

**Estructura de IgG1 de inmunoglobulina normal**

- Puede ser un anticuerpo monoclonal
- Contiene un dímero de monómeros de Fc
- En ocasiones citado en la bibliografía como monómero de IVIG

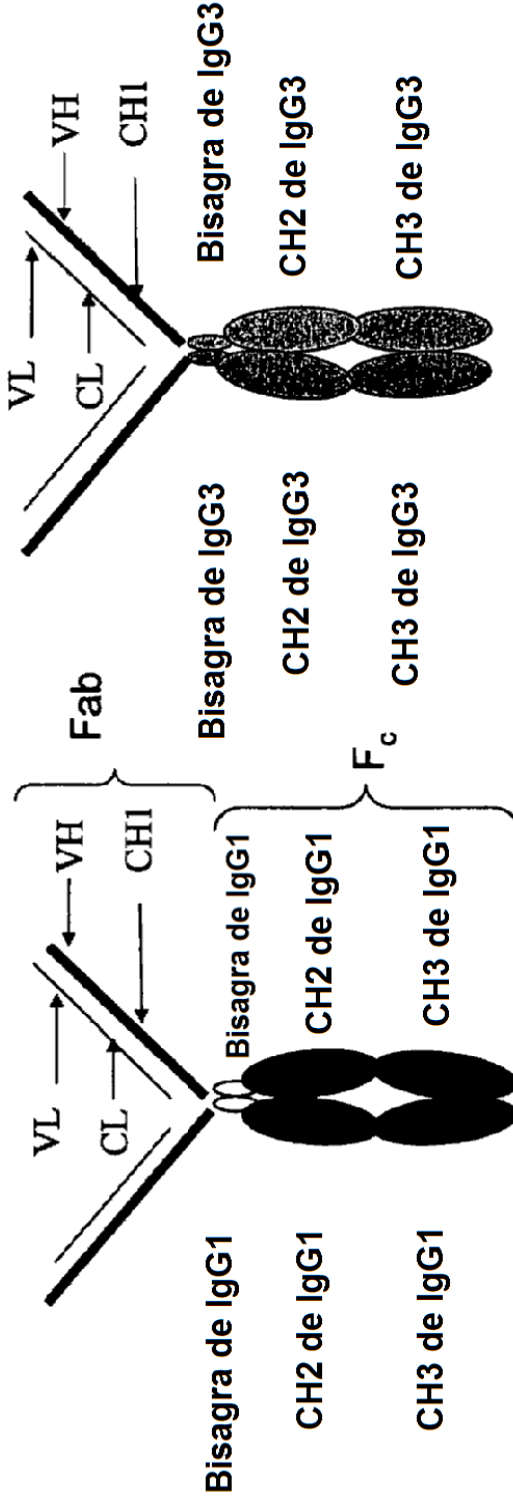


FIGURA 3A

**Estructura de IgG3 de inmunoglobulina normal**

- Puede ser un anticuerpo monoclonal
- Contiene un dímero de monómeros de Fc
- En ocasiones citado en la bibliografía como monómero de IVIG

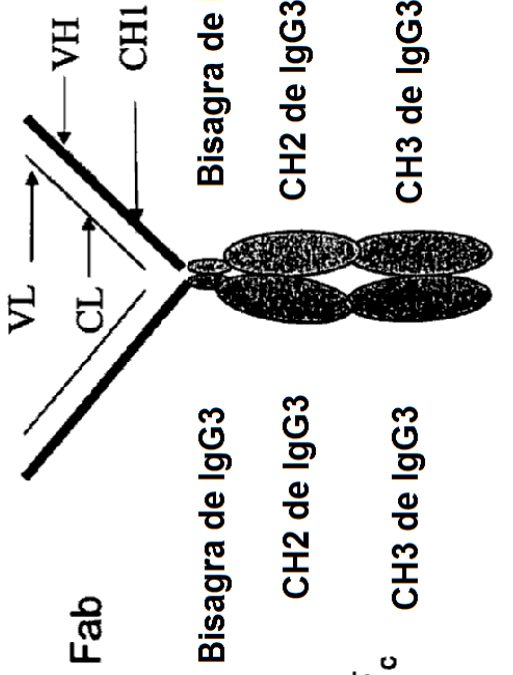


FIGURA 3B

monómero de 3 estradómeros Fc de IgG1 -  
Fc de IgG3 - Fc de IgE

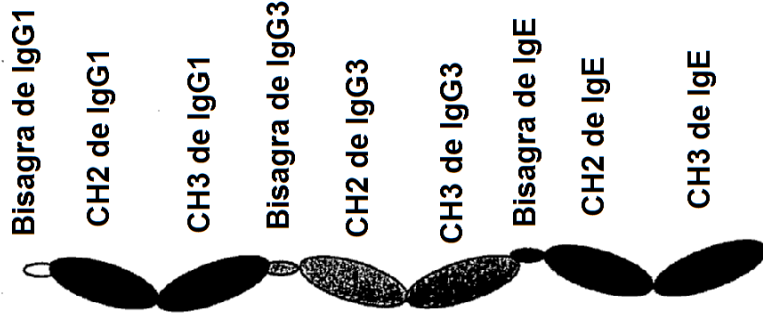


FIGURA 4B

monómero de estradómero de 2 (Fc de IgG1)



FIGURA 4A

Estradómero en serie Fc de IgG1 - Fc de IgG3 - Fc de IgE auto-dimerizado

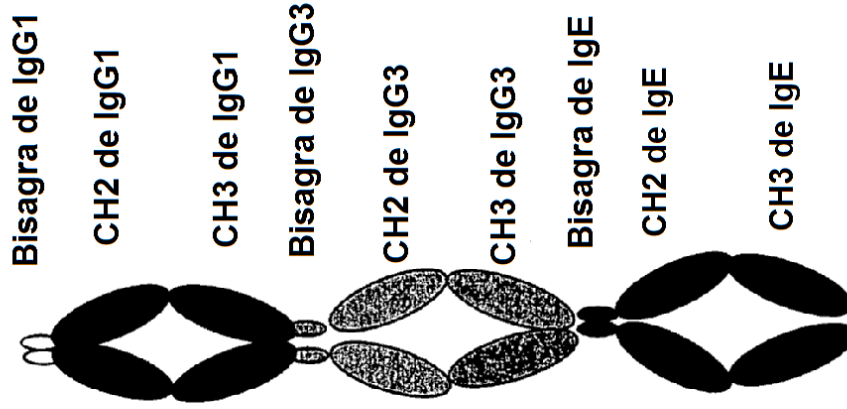


FIGURA 5B

Estradómero en serie 2 (Fc de IgG1) auto-dimerizado

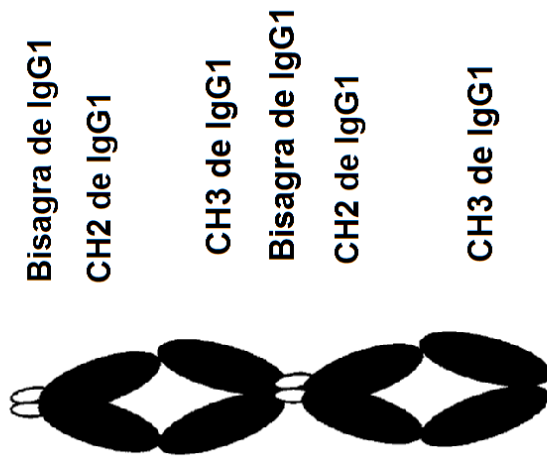
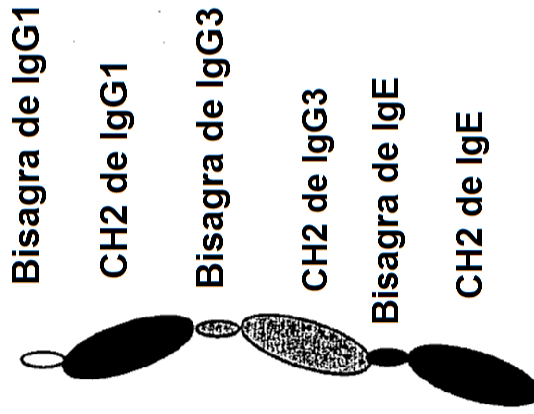


FIGURA 5A

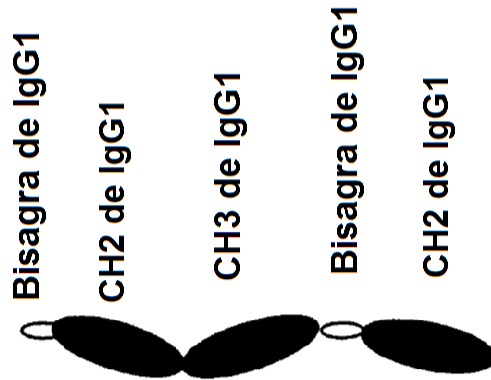


**Monómero de 3 estradómeros  
(bisagra - CH2) de IgG1 - (bisagra - CH2) de IgG3 -  
(bisagra - CH2) de IgE**



**FIGURA 6B**

**Monómero de estradómero Fc de IgG1  
(bisagra - CH2) de IgG1**



**FIGURA 6A**

Estradómero en serie (bisagra - CH2) de IgG1 -  
(bisagra - CH2) de IgG3 - (bisagra - CH2) de IgE  
auto-dimerizado

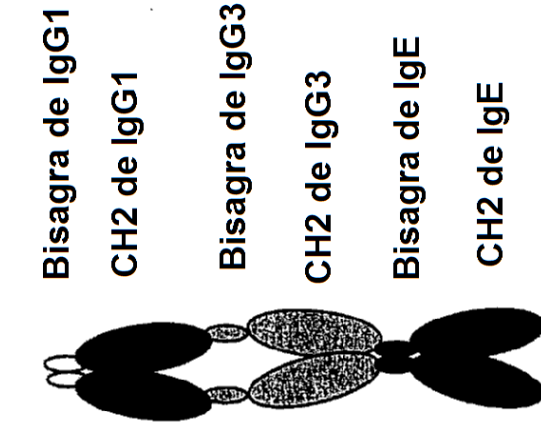


FIGURA 7B

Estradómero en serie de Fc de IgG1 -  
(bisagra - CH2) de IgG1 auto-dimerizado

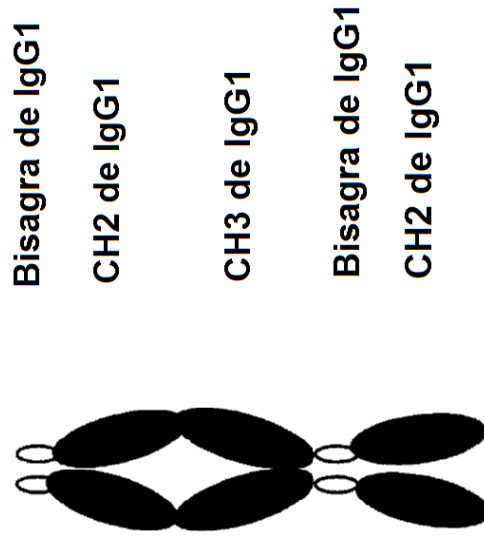
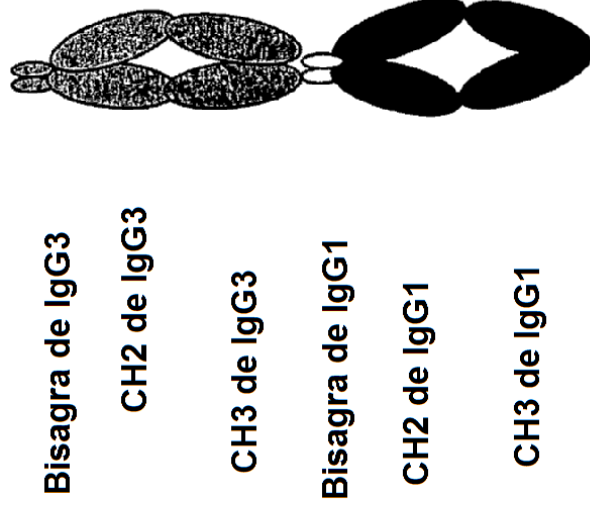


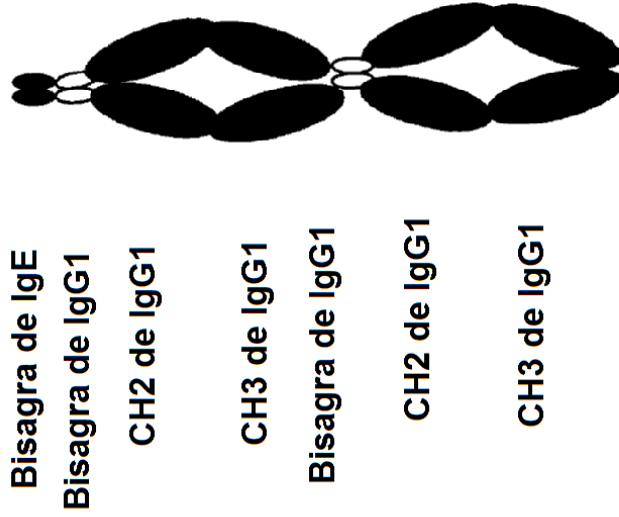
FIGURA 7A

**Estradómero en serie de IgG3 -  
Fc de IgG1**



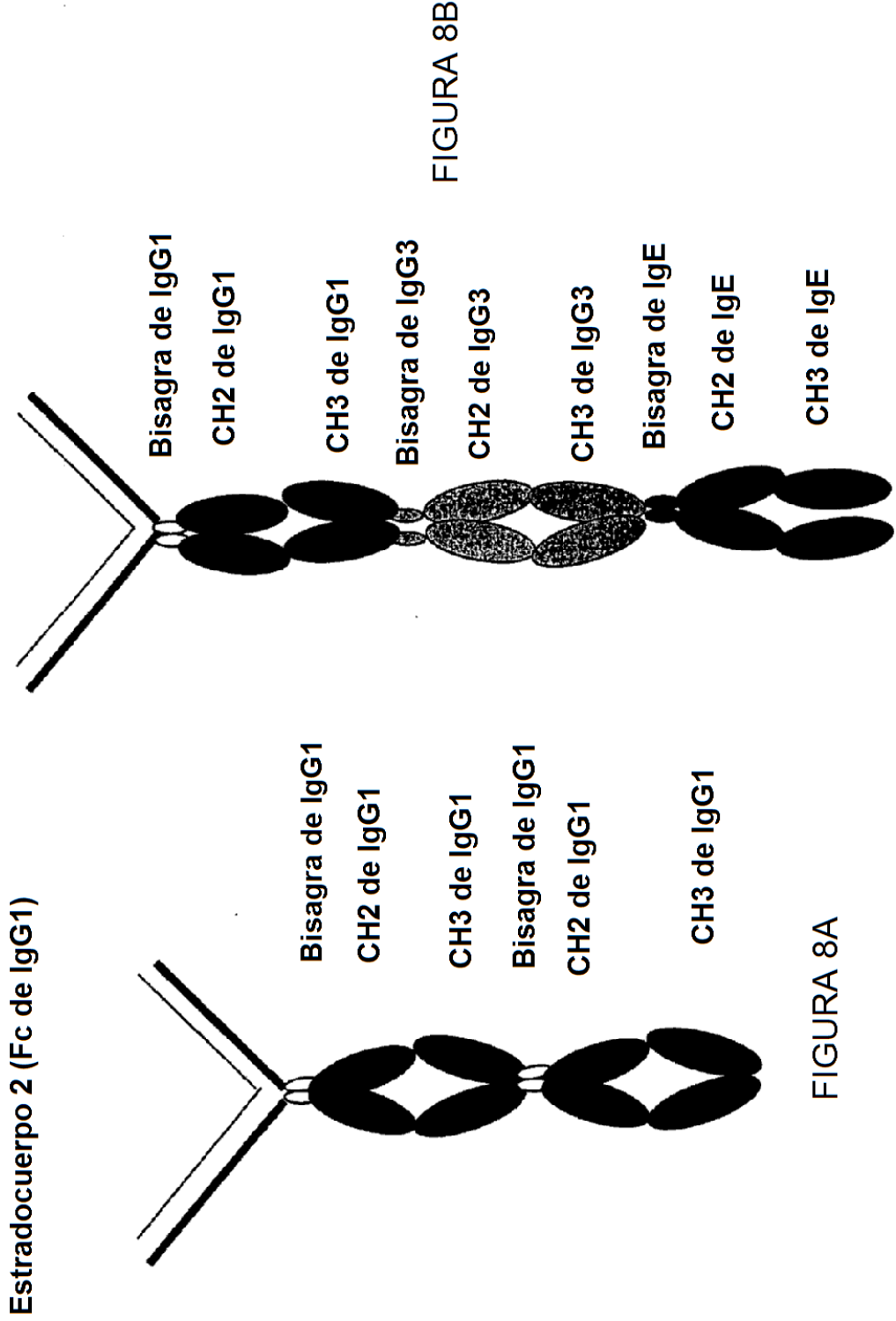
**FIGURA 7D**

**Estradómero en serie de IgE -(bisagra)  
Fc de IgG1 - (bisagra - CH2) de IgG1 -  
(CH3) de IgE**



**FIGURA 7C**

Estradocuerpo de Fc de IgG1 - Fc de IgG3 - 3 Fc de IgE



3 estradocuerpos de (bisagra - CH2)  
de IgG1 - (bisagra - CH2) de IgG3 -  
(bisagra - CH2) de IgE

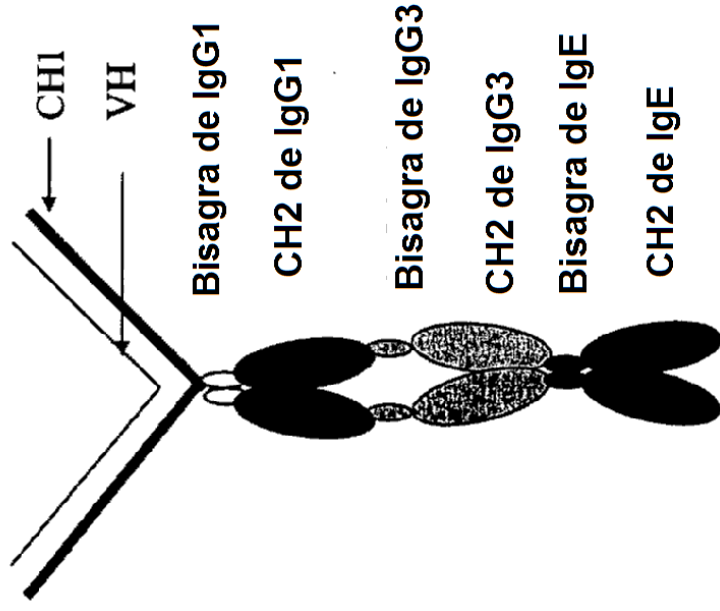


FIGURA 9B

Estradocuerpo de Fc de IgG1 -  
(bisagra - CH2) de IgG1

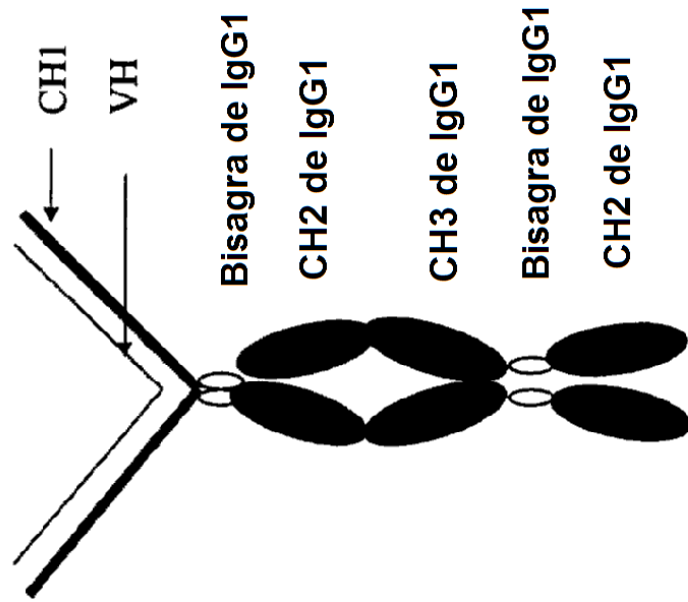


FIGURA 9A

Monómero de estratómero de (bisagra - CH2) de IgG1 -  
CH3 de IgG3 - CH4 de IgM

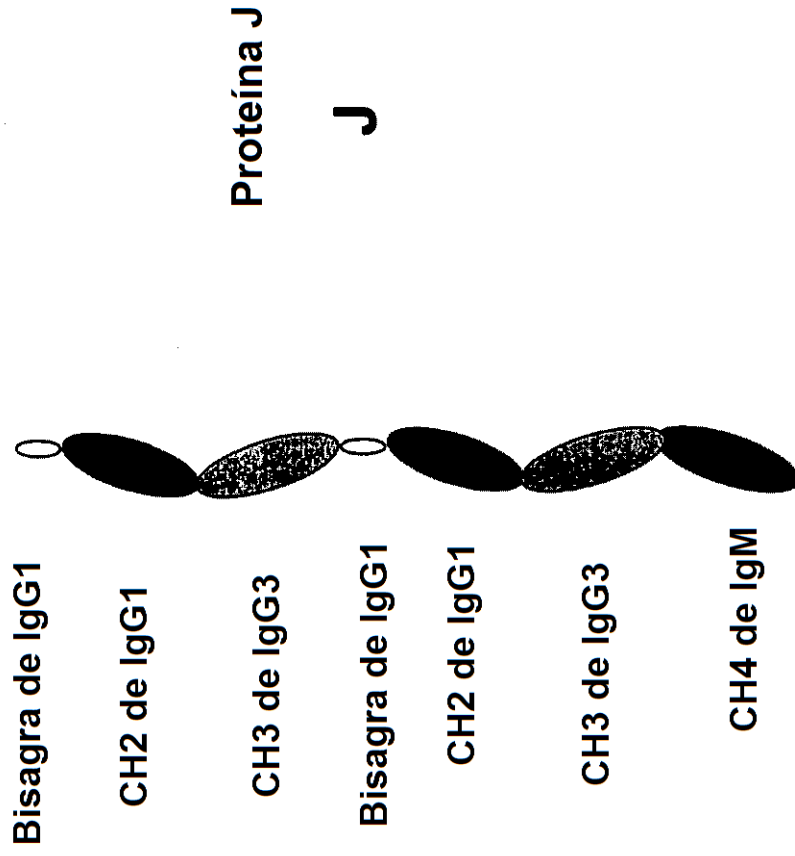


FIGURA 10A

Estradómero de 5[2{(bisagra - CH2) de IgG1 -  
CH3 de IgG3} - CH4 de IgM] - núcleo J

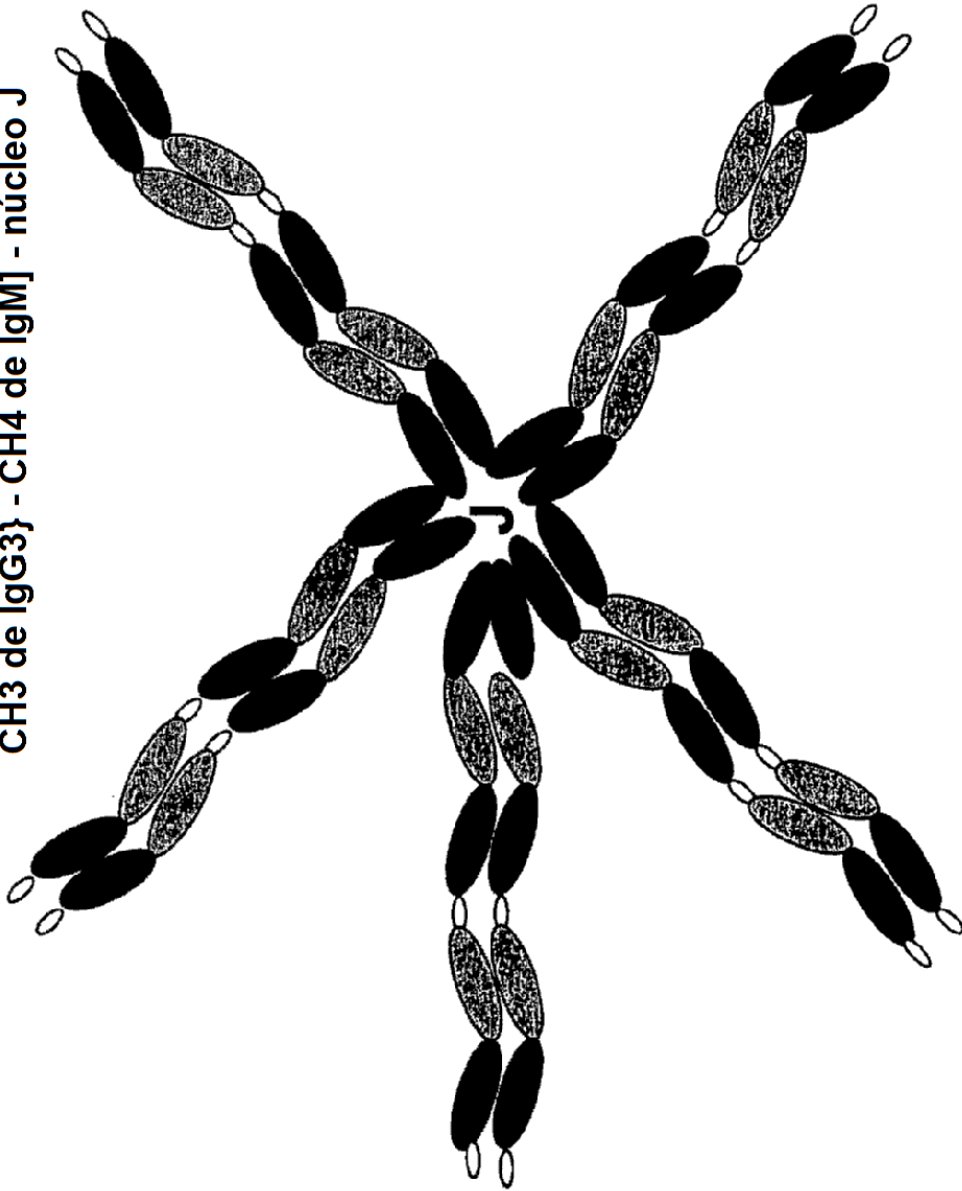
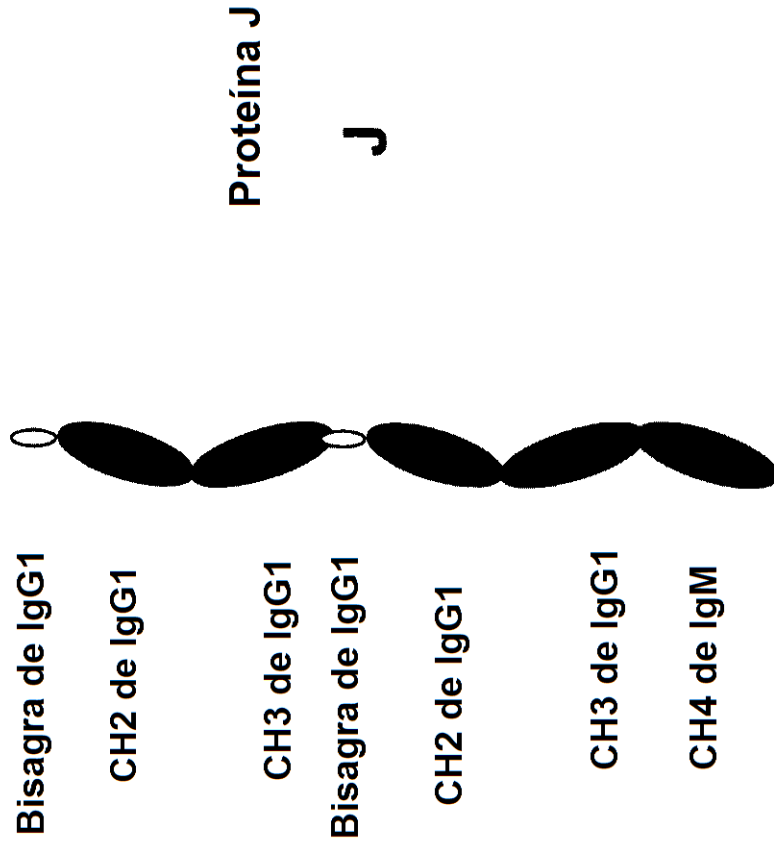


FIGURA 10B

**Monómero de estradómero [2(Fc de IgG1) -  
CH4 de IgM]**



**FIGURA 10C**



Estradómero de 5 [2(Fc de IgG1) -  
CH4 de IgM] - núcleo J

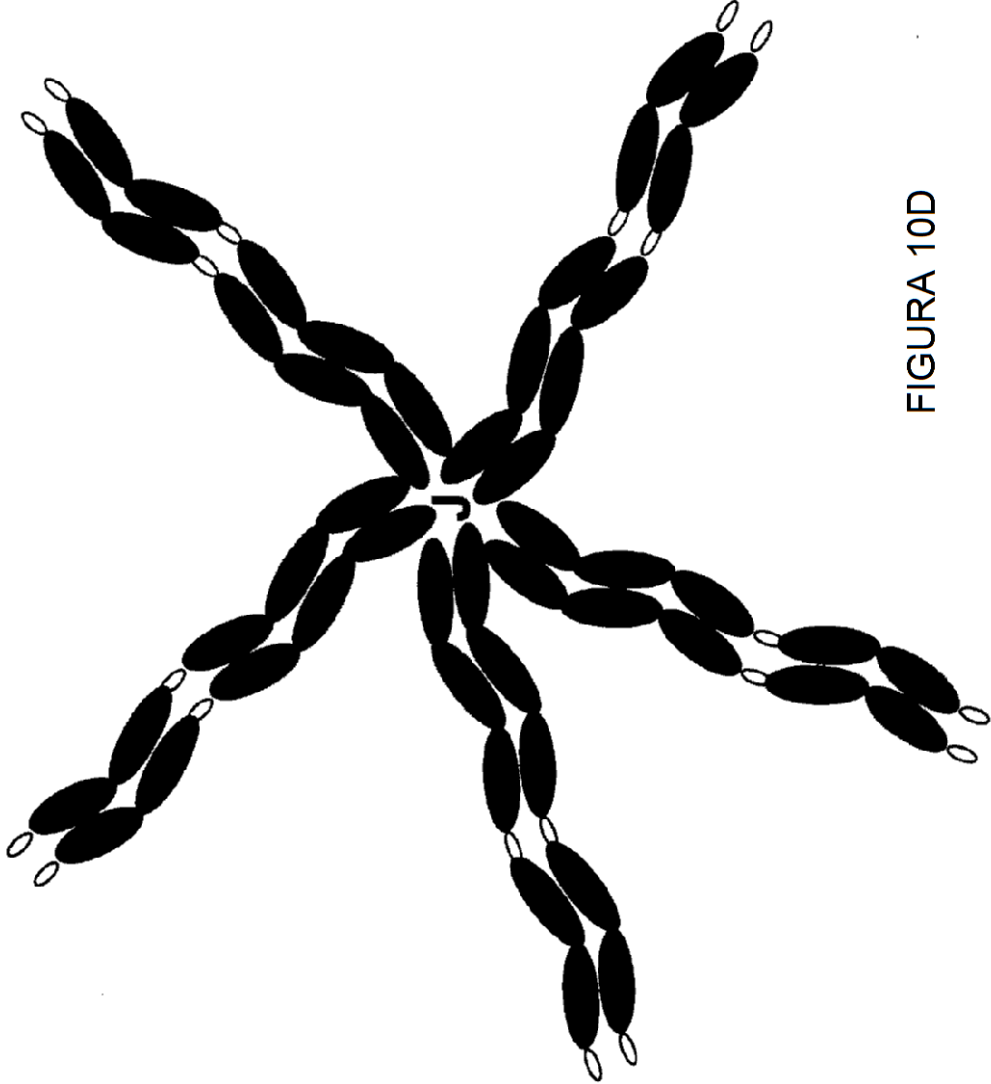
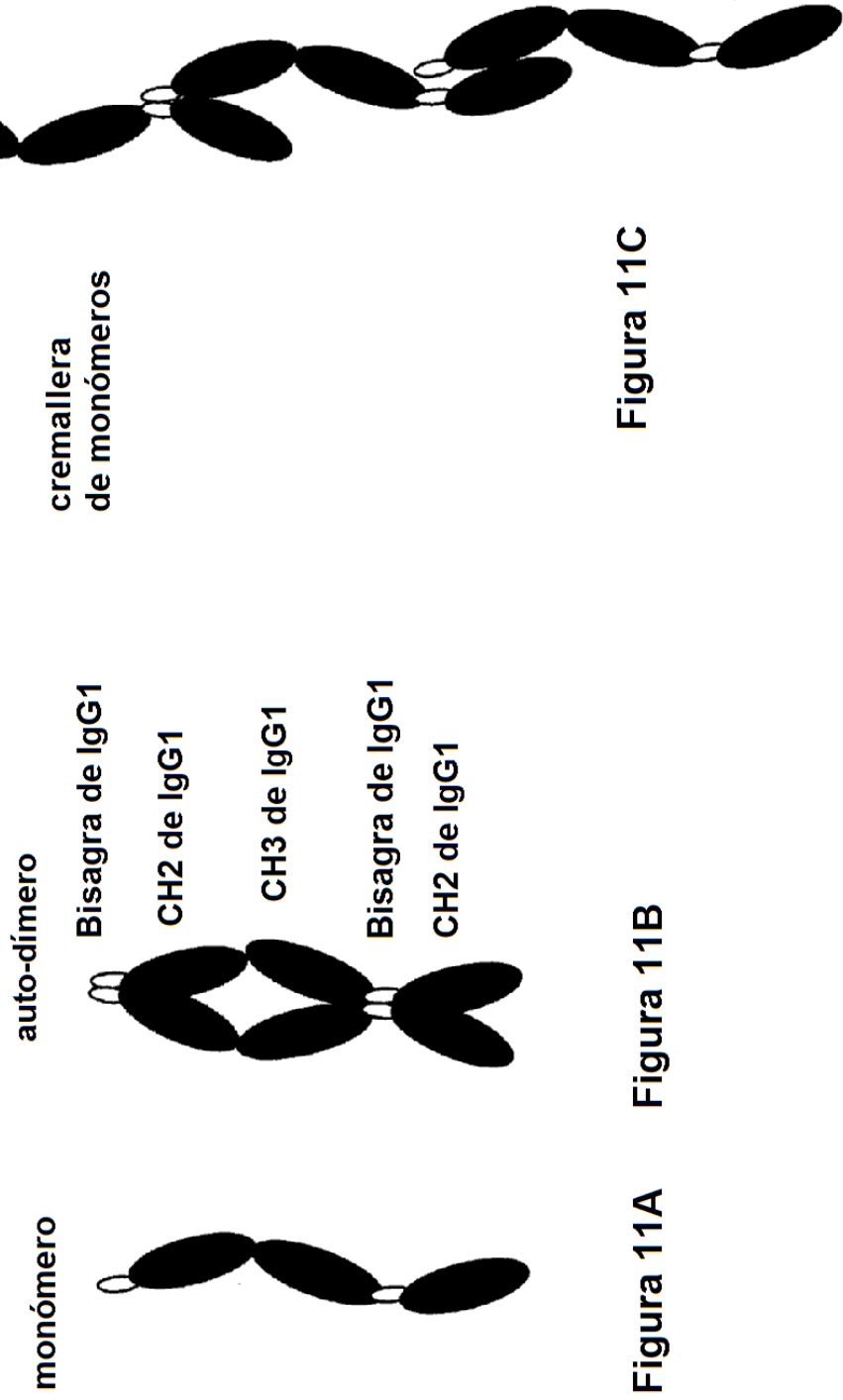


FIGURA 10D

**Diagrama de cómo los monómeros de estradómero pueden auto-dimerizar de manera adecuada o en cremallera**

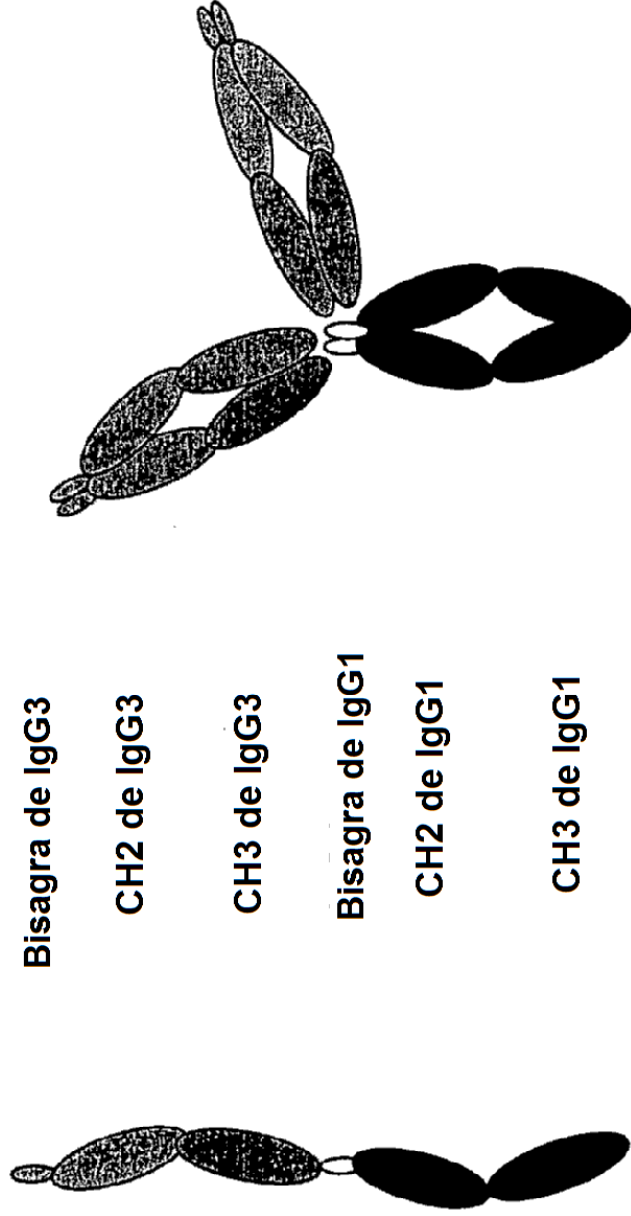


**Figura 11C**

**Figura 11A**    **Figura 11B**

**Dímero de estratómero ramificado  
de Fc de IgG3 - Fc de IgG1 - Fc de IgG3**

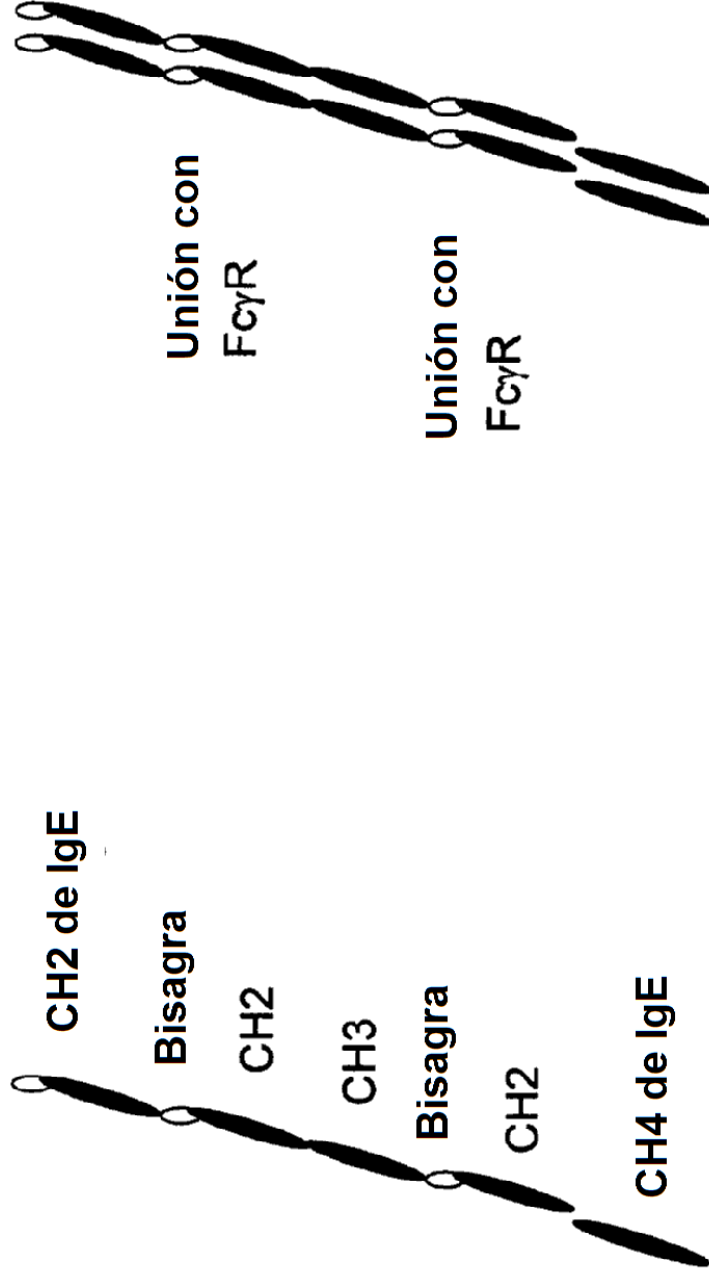
**Monómero de estratómero  
de Fc de IgG3 - Fc de IgG1**



**Figura 12A**

**Figura 12B**

Estradómero de CH2 de IgE - Fc de IgG1 -  
(bisagra - CH2) de IgG1 - CH4 de IgE



Monómero de estradómero

Figura 13A

Estradómero en serie

Figura 13B

Estradómero compuesto de dos estradómeros en serie unidos mediante un enlazador

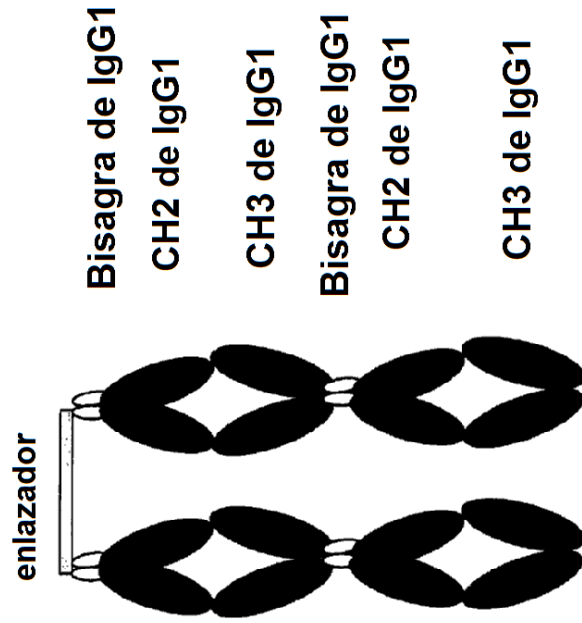


FIGURA 14B

Estradómero compuesto de dos dominios Fc de IgG1 unidos mediante un enlazador

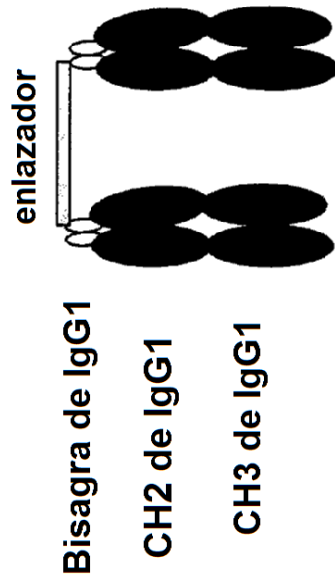


FIGURA 14A

Figura 15

A. Fragmento Fc de IgG1

1 S E P K S C D K T H T C P P C P A P E L  
 1 AGTGAGCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTC  
  
 21 L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S  
 61 CTGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCC  
  
 41 R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K  
 121 CGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG  
  
 61 F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E  
 181 TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGGGGAGGAG  
  
 81 Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L  
 241 CAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTG  
  
 101 N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K  
 301 AATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAA  
  
 121 T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S  
 361 ACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCC  
  
 141 R D E L T K N O V S L T C L V K G F Y P  
 421 CGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGTGCAGCCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC  
  
 161 S D I A V E W E S N G O P E N N Y K T T  
 481 AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCAGC  
  
 181 P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K  
 541 CCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAG  
  
 201 S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N  
 601 AGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGATGATGATGAGGCTCTGCACAAC  
  
 221 H Y T Q K S L S L S P G K  
 661 CACTACAGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

B. Fragmento Fc de IgG2

1 E R K C C V E C P P C P A P P V A G P S  
 1 GAGCGCAAATGTGTGTGTCGAGTGCCACCGTGCCAGCACCACCTGTGGCAGGACCGTCA  
  
 21 V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V  
 61 GTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT  
  
 41 T C V V V D V S H E D P E V Q F N W Y V  
 121 ACGTGCCTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGT  
  
 61 D G V E V H N A K T K P R E E Q F N S T  
 181 GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCAGGGAGGAGCAGTTCAACAGCAGC  
  
 81 F R V V S V L T V V H Q D W L N G K E Y  
 241 TTCCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTGTGACACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTAC  
  
 101 K C K V S N K G L P A P I E K T I S K T  
 301 AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACC

121 K G O P R E P O V Y T L P P S R E E M T  
 361 AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGATGACC

141 K N O V S L T C L V K G F Y P S D I A V  
 421 AAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTG

161 E W E S N G O P E N N Y K T T P P M L D  
 481 GAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACACTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGAC

181 S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q  
 541 TCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG

201 G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K  
 601 GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCCTACACGCAGAAG

221 S L S L S P G K  
 661 AGCCTCTCCTGTCTCCGGTAAA

C. Fragmento Fc de IgG3

1 E L K T P L G D T T H T C P R C P E P K  
 1 GAGCTCAAAAACCCCACTTGGTGACACAACCTCACACATGCCACGGTGCCAGAGCCCAA

21 S C D T P P P C P R C P E P K S C D T P  
 61 TCTTGTGACACACCTCCCCCGTGCCACGGTGCCAGAGCCCAAATCTTGTGACACACCT

41 P P C P R C P E P K S C D T P P P C P R  
 121 CCCCCATGCCACGGTGCCAGAGCCCAAATCTTGTGACACACCTCCCCATGCCACGG

61 C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K  
 181 TGCCAGCACCTGAACTCCTGGGAGGACCGTCAGTCTTCTTCTCCCCAAAACCCAAG

81 D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H  
 241 GATACCCTTATGATTTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAC

101 E D P E V Q F K W Y V D G V E V H N A K  
 301 GAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAGTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG

121 T K P R E E Q F N S T F R V V S V L T V  
 361 ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTC

141 L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L  
 421 CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTC

161 P A P I E K T I S K T K G Q P R E P Q V  
 481 CCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAAGGACAGCCCCGAGAACCACAGGTG

181 Y T L P P S R E E M T K N O V S L T C L  
 541 TACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTG

201 V K G F Y P S D I A V E W E S S G O P E  
 601 GTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAGCGGGCAGCCGGAG

221 N N Y N T T P P M L D S D G S F F L Y S  
 661 AACAACTACAACACCACGCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGC

241 K L T V D K S R W Q Q G N I F S C S V M  
 721 AAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACATCTTCTCATGCTCCGTGATG

261 H E A L H N R F T Q K S L S L S P G K

781 CATGAGGCTCTGCACAACCGCTTCACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

D. Fragmento Fc de IgG4

1 E S K Y G P P C P S C P A P E F L G G P  
 1 GAGTCCAAATATGGTCCCCCGTGCCCATCATGCCCAGCACCTGAGTTCTGGGGGGACCA  
  
21 S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E  
 61 TCAGTCTTCCTGTTCCCCCAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCGGGACCCCTGAG  
  
41 V T C V V V D V S Q E D P E V Q F N W Y  
 121 GTCACGTGCGTGGTGGTGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTAC  
  
61 V D G V E V H N A K T K P R E E Q F N S  
 181 GTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGC  
  
81 T Y R V V S V L T V V H Q D W L N G K E  
 241 ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGACACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAG  
  
101 Y K C K V S N K G L P S S I E K T I S K  
 301 TACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA  
  
121 A K G Q P R E P Q V Y T L P P S Q E E M  
 361 GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCAGGAGGAGATG  
  
141 T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A  
 421 ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCC  
  
161 V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L  
 481 GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTG  
  
181 D S D G S F F L Y S R L T V D K S R W Q  
 541 GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG  
  
201 E G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q  
 601 GAGGGGAATGTCCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAG  
  
221 K S L S L S L G K  
 661 AAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAA



Figura 16

Fragmento Fc de IgK/IgG1/fragmento Fc de IgG1 - SEQ ID NO: 17 y 18

```

1                                     M E T D T L
1 GTCAGTTAAGCTTGGTACCGAGCTCGGATCCAGTACCCTTCACCATGGAGACAGACACAC
      HindIII                      BamHI
      KpnI

21  L L W V L L L W V P G S T G D A A D I Q
61 TCCTGCTATGGGTACTGCTGCTCTGGGTTCCAGGTTCCACTGGTGACGGGCAGATATCC
      EcoRV

41  H S G G R S S E P K S C D K T H T C P P
121 AGCACAGTGGCGGCCGCTCGAGTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCAC
      NotI      XhoI

61  C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K
181 CGTGCCACGACCTGAACTCCTGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCA

81  D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H
241 AGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC

101 E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K
301 ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCA

121 T K P R E E Q Y N S* T Y R V V S V L T V
361 AGACAAAGCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCTCACCCG

141 L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L
421 TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCC

161 P A P I E K* T I S K A K G Q P R E P Q V
481 TCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGG

181 Y T L P P S R D E L T K N Q V S L T C L
541 TGTACACCCTGCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGACCGTACCTGACC

201 V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E
601 TGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG

221 N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S
661 AGAACAACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTCTACA

241 K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M
721 GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA

261 H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K S
781 TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAATA

281 L D P K S C D K T H T C P P C P A P E L
841 GTCTAGACCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAC
      XbaI

301 L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S
901 TCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCT

321 R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K
961 CCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCA
    
```

ES 2 565 834 T3

341 F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E  
 1021 AGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG  
  
 361 Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L  
 1081 AGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCTCACCGFCTGCACCAGGACTGGC  
  
 381 N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K  
 1141 TGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGA  
  
 401 T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S  
 1201 AAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT  
  
 421 R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P  
 1261 CCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC  
  
 441 S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T  
 1321 CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCA  
  
 461 P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K  
 1381 CGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACA  
  
 481 S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N  
 1441 AGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACA  
  
 501 H Y T Q K S L S L S P G K T G \*  
 1501 ACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAACCGGTTGACATCATCACC  
  
 1561 ATCACCATTGATGAGTTAAACCCGCTGA

Figura 17

**Monómero de IgG1** - SEQ ID NO: 19 y 20

SitiosEnzRest - señal de IgK - SitiosEnzRest-(Bisagra-CH2-CH3) de IgG1 - SitiosEnzRest- marcadores epitópicos (V5 e His)-PARADA

```

1                                     M E T D T L
1 GTCAGTTAAGCTTGGTACCGAGCTCGGATCCAGTACCCTTCACCATGGAGACAGACACAC
      HindIII                      BamHI
      KpnI

21  L L W V L L L W V P G S T G D A A D I Q
61 TCCTGCTATGGGTACTGCTGCTCTGGGTCCAGGTTCCACTGGTGACGCGGCAGATATCC
      EcoRV

41  H S G G R S S E P K S C D K T H T C P P
121 AGCACAGTGGCGGCCGCTCGAGTGAGCCCAAATCTTGACAAAACCTCACACATGCCAC
      NotI      XhoI

61  C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K
181 CGTGCCACGACCTGAACTCCTGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCCAAACCCA

81  D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H
241 AGGACACCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC

101 E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K
301 ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCA

121 T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V
361 AGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCTCCACCG

141 L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L
421 TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC

161 P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V
481 TCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGG

181 Y T L P P S R D E L T K N Q V S L T C L
541 TGTACACCCTGCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCC

201 V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E
601 TGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG

221 N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S
661 AGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACA

241 K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M
721 GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA

261 H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K S
781 TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAA

281 L E G P R F E G K P I P N P L L G L D S
841 GTCTAGAGGGCCCGGGTTCGAAGGTAAGCCTATCCCTAACCCCTCTCTCGGTCTCGATT
      XbaI                      BstBI

301 T R T G H H H H H
901 CTACGCGTACCGGTCATCATCACCATCACCATTGATGAGTTAAACCCGCTGA
      AgeI
    
```

Figura 18

**Secuencia de dímero de IgG1 sin marcadores** - SEQ ID NO: 21 y 22

SitiosEnzRest - señal de IgK - SitiosEnzRest - (Bisagra-CH2-CH3) de IgG1 - sitio de XbaI (Bisagra-CH2-CH3) de IgG1 -PARADA

```

1                                     M E T D T L
1 GTCAGTTAAGCTTGGTACCGAGCTCGGATCCAGTACCCTCACCATGGAGACAGACACAC
      HindIII           BamHI
      KpnI

21  L L W V L L L W V P G S T G D A A D I Q
61 TCCTGCTATGGGTACTGCTGCTCTGGGTTCCAGGTTCCACTGGTGACGCGGCAGATATCC
      EcoRV

41  H S G G R S S E P K S C D K T H T C P F
121 AGCACAGTGGCGGCGCTCGAGTGAAGCCCAAATCTGTGACAAAACCTCACACATGCCAC
      NotI   XhoI

61  C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K
181 CGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTCCCCCAAACCCA

81  D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H
241 AGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC

101 E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K
301 ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCA

121 T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V
361 AGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCTCTACCCG

141 L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L
421 TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC

161 P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V
481 TCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGG

181 Y T L P P S R D E L T K N Q V S L T C L
541 TGTACACCCTGCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCC

201 V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E
601 TGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG

221 N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S
661 AGAACAATAACAAGACCAGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTCTACA

241 K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M
721 GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGTCCGTGA

261 H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K S
781 TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAA

281 L D P K S C D K T H T C P P C P A P E L
841 GTCTAGACCCCAAATCTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAC
      XbaI

301 L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S
901 TCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTCTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCT

321 R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K

```

ES 2 565 834 T3

961 CCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCA  
 341 F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E  
 1021 AGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG  
 361 Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L  
 1081 AGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGC  
 381 N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K  
 1141 TGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGA  
 401 T I S K A K G O P R E P O V Y T L P P S  
 1201 AAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCAT  
 421 R D E L T K N O V S L T C L V K G F Y P  
 1261 CCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC  
 441 S D I A V E W E S N G O P E N N Y K T T  
 1321 CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCA  
 461 P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K  
 1381 CGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACA  
 481 S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N  
 1441 AGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACA  
 501 H Y T Q K S L S L S P G K T G  
 1501 ACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAACCGGTTGACATCATCACC  
 1561 ATCACCATTGATGAGTTAAACCCGCTGA

Figura 19

**Secuencia de dímero de IgG1 con marcadores epitópicos** - SEQ ID NO: 23 y 24

SitiosEnzRest - señal de IgK - SitiosEnzRest - (Bisagra-CH2-CH3) de IgG1 - sitio de XbaI - (Bisagra-CH2-CH3) de IgG1 - SitiosEnzRest - marcadores epitópicos (V5 e His)-PARADA

```

1                                     M E T D T L
1  GTCAGTTAAGCTTGGTACCGAGCTCGGATCCAGTACCCTTACCATGGAGACAGACACAC
   HindIII                               BamHI
   KpnI

21  L L W V L L L W V P G S T G D A A D I Q
61  TCCTGCTATGGGTACTGCTGCTCTGGGTTCCAGGTTCCACTGGTGACGCGGCAGATATCC
   EcorV

41  H S G G R S S E P K S C D K T H T C P P
121 AGCACAGTGGCGCCGCTCGAGTGAGCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCAC
   NotI   XhoI

61  C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K
181 CGTGCCCAGCACCTGAACCTCTGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCA

81  D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H
241 AGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC

101 E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K
301 ACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCA

121 T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V
361 AGACAAAGCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCAGCGTCTCACC

141 L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L
421 TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCC

161 P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V
481 TCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGG

181 Y T L P P S R D E L T K N Q V S L T C L
541 TGTACACCCTGCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCC

201 V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E
601 TGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG

221 N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S
661 AGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCCTTACA

241 K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M
721 GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA

261 H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K S
781 TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTTCCCTGTCTCCGGGTAAAA

281 L D P K S C D K T H T C P P C P A P E L
841 GTCTAGACCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAC
   XbaI

301 L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S
901 TCCTGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCT
    
```



Figura 20

A. FcgRIIIa (F en 176)

```

ATGTGGCAGCTGCTCCTCCCAACTGCTCTGCTACTTCTAGTTTCAGCTGGCATGCGGACT
M W Q L L L P T A L L L L V S A G M R T
GAAGATCTCCCAAAGGCTGTGGTGTCTCCTGGAGCCTCAATGGTACAGGGTGCTCGAGAAG
E D L P K A V V F L E P Q W Y R V L E K
GACAGTGTGACTCTGAAGTGCCAGGGAGCCTACTCCCCTGAGGACAATCCACACAGTGG
D S V T L K C Q G A Y S P E D N S T Q W
TTTCACAATGAGAGCCTCATCTCAAGCCAGGCCTCGAGCTACTTCATTGACGCTGCCACA
F H N E S L I S S Q A S S Y F I D A A T
GTCGACGACAGTGGAGAGTACAGGTGCCAGACAAACCTCTCCACCCTCAGTGACCCGGTG
V D D S G E Y R C Q T N L S T L S D P V
CAGCTAGAAGTCCATATCGGCTGGCTGTTGCTCCAGGCCCTCGGTGGGTGTTCAAGGAG
Q L E V H I G W L L L Q A P R W V F K E
GAAGACCCTATTCACCTGAGGTGTCACAGCTGGAAGAACAACCTGCTCTGCATAAGGTCACA
E D P I H L R C H S W K N T A L H K V T
TATTTACAGAATGGCAAAGGCAGGAAGTATTTTCATCATAATTCTGACTTCTACATTCCA
Y L Q N G K G R K Y F H H N S D F Y I P
AAAGCCACACTCAAAGACAGCGGCTCCTACTTCTGCAGGGGGCTTTTGGGAGTAAAAAT
K A T L K D S G S Y F C R G L F G S K N
GTGTCTTCAGAGACTGTGAACATCACCATCAAGGTTG cat cat cac cat cat
V S S E T V N I T I T Q G L h h h h h
cat TAG
h *
```

B. FcgRIIIa (V ent 176)

```

ATGTGGCAGCTGCTCCTCCCAACTGCTCTGCTACTTCTAGTTTCAGCTGGCATGCGGACT
M W Q L L L P T A L L L L V S A G M R T
GAAGATCTCCCAAAGGCTGTGGTGTCTCCTGGAGCCTCAATGGTACAGGGTGCTCGAGAAG
E D L P K A V V F L E P Q W Y R V L E K
GACAGTGTGACTCTGAAGTGCCAGGGAGCCTACTCCCCTGAGGACAATCCACACAGTGG
D S V T L K C Q G A Y S P E D N S T Q W
TTTCACAATGAGAGCCTCATCTCAAGCCAGGCCTCGAGCTACTTCATTGACGCTGCCACA
F H N E S L I S S Q A S S Y F I D A A T
GTCGACGACAGTGGAGAGTACAGGTGCCAGACAAACCTCTCCACCCTCAGTGACCCGGTG
V D D S G E Y R C Q T N L S T L S D P V
CAGCTAGAAGTCCATATCGGCTGGCTGTTGCTCCAGGCCCTCGGTGGGTGTTCAAGGAG
Q L E V H I G W L L L Q A P R W V F K E
GAAGACCCTATTCACCTGAGGTGTCACAGCTGGAAGAACAACCTGCTCTGCATAAGGTCACA
E D P I H L R C H S W K N T A L H K V T
TATTTACAGAATGGCAAAGGCAGGAAGTATTTTCATCATAATTCTGACTTCTACATTCCA
Y L Q N G K G R K Y F H H N S D F Y I P
AAAGCCACACTCAAAGACAGCGGCTCCTACTTCTGCAGGGGGCTTGTGGGAGTAAAAAT
K A T L K D S G S Y F C R G L V G S K N
GTGTCTTCAGAGACTGTGAACATCACCATCAAGGTTG cat cat cac cat cat
V S S E T V N I T I T Q G L h h h h h
cac TAG
h *
```



Figura 21

**Secuencia de dímero IgG3/IgG1 con marcadores epitópicos** - SEQ ID NO: 25 y 26

SitiosEnzRest - señal de IgK - sitio de EcoRV - (Bisagra-CH2-CH3) de IgG3 - (Bisagra- CH2-CH3) de IgG1 - SitiosEnzRest-marcadores epitópicos (V5 e His)-PARADA

```

1                                     M E T D T L
1 GTCAGTTAAGCTTGGTACCGAGCTCGGATCCAGTACCCTTCACCATGGAGACAGACACAC
      HindIII                      BamHI
      KpnI

21  L L W V L L L W V P G S T G D A A D I E
61 TCCTGCTATGGGTACTGCTGCTCTGGGTCCAGGTTCCACTGGTGACGGGCAGATATCG
      EcoRV

41  L K T P L G D T T H T C P R C P E P K S
121 AGCTCAAACCCCACTTGGTGACACAACCTCACACATGCCACGGTGCCAGAGCCCAAAT

61  C D T P P P C P R C P E P K S C D T P P
181 CTTGTGACACACCTCCCCCGTGCCACGGTGCCAGAGCCCAAATCTTGTGACACACCTC

81  P C P R C P E P K S C D T P P P C P R C
241 CCCCATGCCACGGTGCCAGAGCCCAAATCTTGTGACACACCTCCCCATGCCACGGT

101 P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D
301 GCCCAGCACCTGAACTCCTGGGAGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGG

121 T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E
361 ATACCCTTATGATTTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGACGTGAGCCAGC

141 D P E V Q F K W Y V D G V E V H N A K T
421 AAGACCCCGAGGTCCAGTTCAAGTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGA

161 K P R E E Q F N S T F R V V S V L T V L
481 CAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTTGGTTCAGCGTCTCACCGTCC

181 H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P
541 TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCC

201 A P I E K T I S K T K G Q P R E P Q V Y
601 CAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAGGACAGCCCCGAGAACCCACAGGTGT

221 T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V
661 ACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGG

241 K G F Y P S D I A V E W E S S G Q P E N
721 TCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAGCGGGCAGCCGGAGA

261 N Y N T T P P M L D S D G S F F L Y S K
781 ACAACTACAACACCACGCCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCA

281 L T V D K S R W Q Q G N I F S C S V M H
841 AGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACATCTTCTCATGCTCCGTGATGC

301 E A L H N R F T Q K S L S L S P G K G G
901 ATGAGGCTCTGCACAACCGCTTCACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAGGCG
    
```



Figura 22

**Fusión de (CH2) de IgE/(Bisagra CH2 CH3) de IgG1/(Bisagra CH2) de IgG1 - (CH4) de IgE sin marcadores -**  
 SEQ ID NO: 27 y 28  
 SitiosEnzRest - señal de IgK - sitio de EcoRV - (CH2) de IgE - (Bisagra-CH2-CH3) de IgG1 - (Bisagra-CH2) de IgG1  
 -(CH4) de IgE-PARADA

```

1                                     M E T D T L
1 GTCAGTTAAGCTTGGTACCGAGCTCGGATCCAGTACCCTTCACCATGGAGACAGACACAC
      HindIII           BamHI
      KpnI

21  L L W V L L L W V P G S T G D A A D I V
61  TCCTGCTATGGGTACTGCTGCTCTGGGTTCCAGGTTCCACTGGTGACGCGGCAGATATCG
      EcoRV

41  C S R D E F T P P T V K I L Q S S C D G G
121 TCTGCTCCAGGGACTTCACCCCGCCACCCTGAAGATCTTACAGTCGTCCTGCGACGGCG

61  G H F P P T I Q L L C L V S G Y T P G T
181 GCGGGCACTTCCCCCGACCATCCAGCTCCTGTGCCTCGTCTCTGGGTACACCCAGGGA

81  I N I T W L E D G Q V M D V D L S T A S
241 CTATCAACATCACCTGGCTGGAGGACGGGCAGGTCATGGACGTGGACTTGTCCACCGCCT

101 T T Q E G E L A S T Q S E L T L S Q K H
301 CTACCACGCAGGAGGGTGTAGCTGGCCTCCACACAAAGCGAGCTCACCTCAGCCAGAAGC

121 W L S D R T Y T C Q V T Y Q G H T F E D
361 ACTGGCTGTGACACCGCACCTACACCTGCCAGGTCACCTATCAAGGTCACACCTTTGAGG

141 S T K K C A G G R S S E P K S C D K T H
421 ACAGCACCAAGAAGTGTGCAGGCCGCGCTCGAGTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTC
      NotI   XhoI

161 T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P
481 ACACATGCCACCGTGCCACGACCTGAACCTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCC

181 P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V
541 CCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGG

201 D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V
601 TGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG

221 H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S
661 TGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTGGTCA

241 V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S
721 GCGTCTCACCGTCTGACCCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT

261 N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R
781 CCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCC

281 E P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q V S
841 GAGAACACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCA

301 L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N
901 GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA
    
```

ES 2 565 834 T3

321 G O P E N N Y K T T P P V L D S D G S F  
 961 ATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTCT

341 F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S  
 1021 TCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCT

361 C S V M H E A L H N H Y T O K S L S L S  
 1081 CATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGT

381 P G K S L D P K S C D K T H T C P P C P  
 1141 CTCCGGGTAAAAGTCTAGACCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCC  
 XbaI

401 A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T  
 1201 CAGCACCTGAACTCCTGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACA

421 L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D  
 1261 CCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAG

441 P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K  
 1321 ACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA

461 P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H  
 1381 AGCCCGGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGTACCGGGTGGTCCAGCGTCTCACCGTCTCTGC

481 Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A  
 1441 ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAG

501 P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T  
 1501 CCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACACACAGGTGTACA

521 L P P S R D E L T K N Q V S L T C L V K  
 1561 CCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCA

541 G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N  
 1621 AAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGAGCCGGGAGAACA

561 Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L  
 1681 ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTCTACAGCAAGC

581 T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E  
 1741 TCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATG

601 A L H N H Y T O K S L S L S P G K G P R  
 1801 AGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAGGCCCGC

621 A A P E V Y A F A T P E W P G S R D K R  
 1861 GTGCTGCCCGGAAGTCTATGCGTTTGCAGCGCCGGAGTGGCCGGGAGCCGGGACAAGC

641 T L A C L I Q N F M P E D I S V Q W L H  
 1921 GCACCCTCGCTGCCTGATCCAGAACTTCATGCCTGAGGACATCTCGGTGCAGTGGCTGC

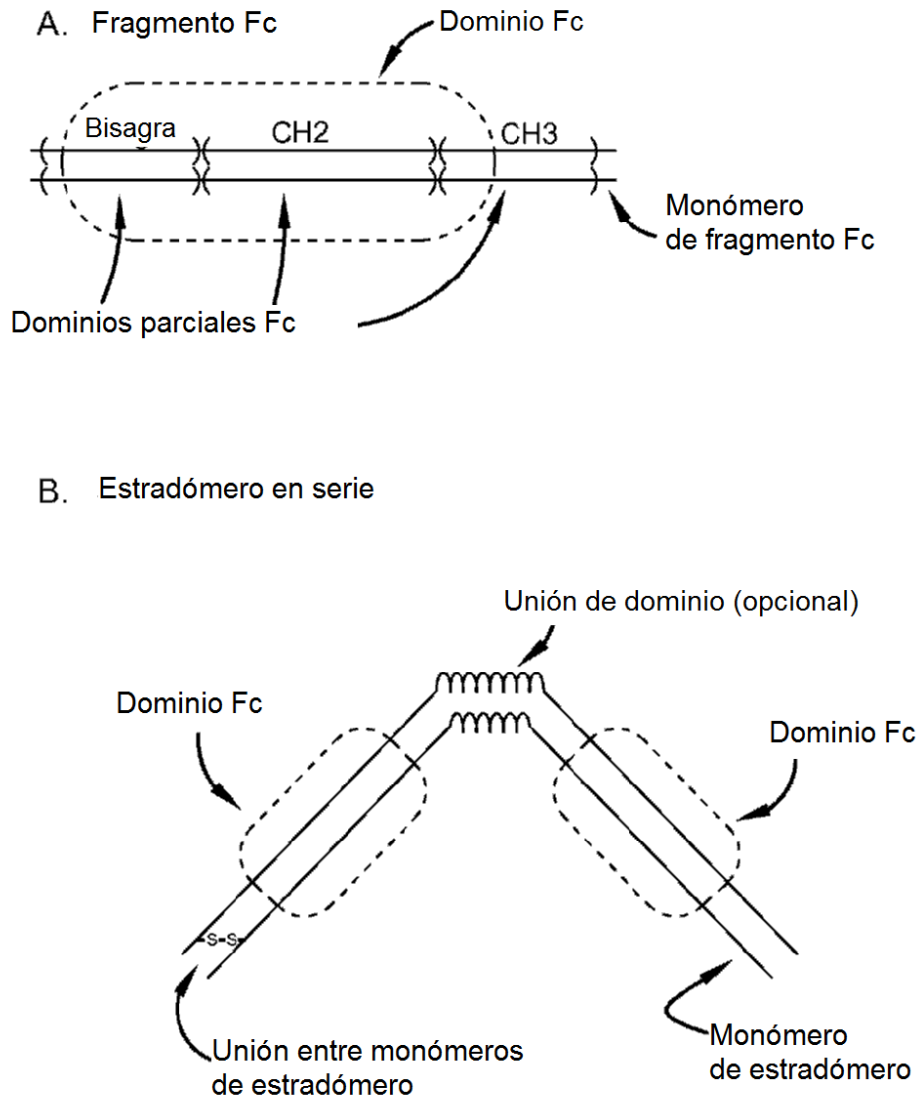
661 N E V Q L P D A R H S T T O P R K T K G  
 1981 ACAACGAGGTGCAGCTCCCGGACGCCCGCACAGCACGACGCAGCCCCGCAAGACCAAGG

681 S G F F V F S R L E V T R A E W E O K D  
 2041 GCTCCGGCTTCTTCGTCTTCCAGCCGCTGGAGGTGACCAGGGCCGAATGGGAGCAGAAAG

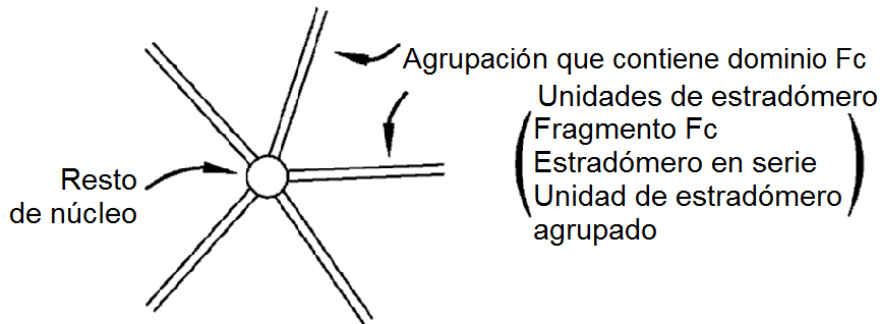
701 E F I C R A V H E A A S P S Q T V O R A  
 2101 ATGAGTTCATCTGCCGTGCAGTCCATGAGGCAGCGAGCCCCTCACAGACCGTCCAGCGAG

721 V S V N P G K  
2161 CGGTGTCTGTAAATCCCGGTAAATGACATCATCACCATCACCATTGATGAGTTAAACCG  
741  
2221 CTGA

**FIG. 23**



C. Núcleo de estradómero



D. Estradómero agrupado

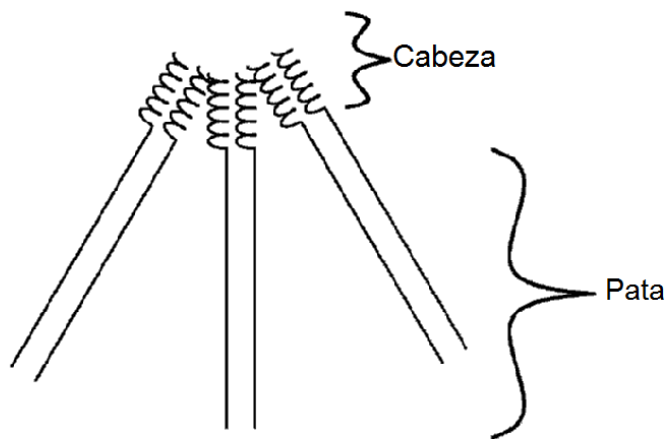
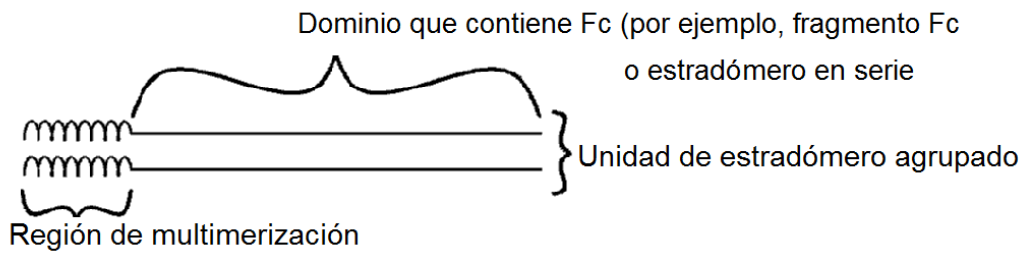


FIGURA 24

SECUENCIA DE AMINOÁCIDOS DE ESTRADÓMERO EN SERIE

G-003 CON MARCADORES (SEQ ID NO: 38)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADIQHGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV  
 FLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN  
 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS  
 RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT  
 VDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSLDEPKSCDKTHTCPPCPAPE  
 LLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK  
 PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ  
 VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF  
 FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKFEGKPIPNPLLGLD  
 STRTGHHHHHH

G-004 SIN MARCADORES (SEQ ID NO: 39)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADIQHGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV  
 FLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN  
 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS  
 RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT  
 VDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSLEPKSCDKTHTCPPCPAPE  
 LLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK  
 PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ  
 VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF  
 FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

G-007 CON MARCADORES (SEQ ID NO: 40)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADIVCSRDFTPPTVKILQSSCDGGGHFPPTIQLLC  
 LVSGYTPGTINITWLEDGQVMDVLDLSTASTTQEGELASTQSELTLSQKHWLSDRTYT  
 CQVTYQGHTFEDSTKKCAGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD  
 TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL  
 TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV  
 SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG  
 NVFSCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP  
 KPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV  
 VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGPRAAPEVYAFATPEWGR  
 DKRTLACLIQNFMPEDI SVQWLHNEVQLPDARHSTTQPRKTKGSGFFVFSRLEVTRA  
 EWEQKDEFICRAVHEAASPSQTVQRAVSVNPGKFEGKPIPNPLLGLDSTRTGHHHHH  
 H

G-011 CON MARCADORES (SEQ ID NO: 41)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADIVCSRDFTPPTVKILQSSCDGGGHFPPTIQLLC  
 LVSGYTPGTINITWLEDGQVMDVLDLSTASTTQEGELASTQSELTLSQKHWLSDRTYT  
 CQVTYQGHTFEDSTKKCGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD  
 TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL  
 TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV  
 SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG



NVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKSLDEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL  
FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST  
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD  
ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV  
DKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKFEGKPIPNPLLGLDSTRTGHHHH  
HH

G-012 SIN MARCADORES (SEQ ID NO: 42)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADIVCSRDFTPPTVKILQSSCDGGGHFPPTIQLLC  
LVSGYTPGTINITWLEDGQVMDVDLSTASTTQEGELASTQSELTLSQKHWSLDRY  
CQVTYQGHTFEDSTKKCGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD  
TLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL  
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV  
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG  
NVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKSLDEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL  
FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST  
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD  
ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV  
DKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGPRAAPEVYAFATPEWPRDKRT  
LACLIQNFMPEDISVQWLHNEVQLPDARHSTTQPRKTKGSGFFVFSRLEVTRAWEQ  
KDEFICRAVHEAASPSQTVQRAVSVNPGK

G-014 SIN MARCADORES (SEQ ID NO: 43)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADIQHGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV  
FLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN  
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS  
RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT  
VDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKSLDEPKSCDKTHTCPPCPAPE  
LLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK  
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ  
VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF  
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKFEEPKSCDKTHTCP  
PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV  
HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG  
QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV  
LSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

G-016 CON MARCADORES (SEQ ID NO: 44)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADISSKPHLVTQLTHAHGCPEPKSCDTPPPCPRCP  
EPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRT  
EVTCTVVVDVSHEDPEVQFKWYVDGVEVHNAKTKLREEQYNSTFRVSVLTVLHQDWL  
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK  
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYNTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSV  
MHEALHNRYTQKSLSLSPGKGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK  
DTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV  
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ  
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ  
GNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKFEGKPIPNPLLGLDSTRTGHHHHHH

G-017 CON MARCADORES (SEQ ID NO: 45)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADIQHGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV  
 FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN  
 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS  
 RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT  
 VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSLEGPRFEEPKSCDKTHTCPP  
 CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH  
 NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ  
 PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD  
 SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKFEGKPIPNP  
 LLGLDSTRTGHHHHHH

G-023 SIN MARCADORES (SEQ ID NO: 46)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADIELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCP  
 EPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG  
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE  
 QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL  
 PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS  
 KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSLEDEPKSCDKTHTCPPCP  
 APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA  
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR  
 EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD  
 GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

G-024 CON MARCADORES (SEQ ID NO: 47)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADIELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCP  
 EPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE  
 VTCVVDVSHEDPEVQFKWYVDGVEVHNAKTKLREEQYNSTFRVSVLTVLHQDWL  
 NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG  
 FYPSDIAVEWESNGQPENNYNTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVM  
 HEALHNRYTQKSLSLSPGKGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK  
 DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV  
 LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ  
 VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ  
 GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSLEGPRFEEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG  
 GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE  
 EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY  
 TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY  
 SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKFEGKPIPNPLGLDSTR  
 TGHHHHHH

G-025 CON MARCADORES (SEQ ID NO: 48)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADIEDTCGELEFQNDIVKTI SVKVIDDEEYEKKN  
 TFFLEIGKPRLVEMSEKKALLNELGGFTITGKYLFQGPVFRKVHAREHPILSTVIT  
 IADEYDDKQPLTSKEKEEGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD  
 TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL

TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV  
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOG  
NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKFEGKPIPNPLLGLDSTRTGHHHHH

G-026 CON MARCADORES (SEQ ID NO: 49)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADI EDTCGELEFQND EIVKTI SVKVIDDEEYEKKN  
TFFLEIGKPRLVEMSEKKALLLNELGGFTITGKYLFGQPVFRKVHAREHPILSTVIT  
IADEYDDKQPLTSKEKEEGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD  
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL  
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV  
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOG  
NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKSLEGPRFEEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG  
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE  
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL  
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS  
KLTVDKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKFEGKPIPNPLLGLDSTRT  
GHHHHH

**ESTRADÓMEROS DE NÚCLEO**

G-002 Fc de IgG1 CON MARCADORES (SEQ ID NO: 50)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADIQHSGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS  
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY  
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP  
SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL  
TVDKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKSLEGPRFEGKPIPNPLLGLD  
STRTGHHHHH

G-002 Fc de IgG1 SIN MARCADORES SIN SITIOS DE ENZIMA DE RESTRICCIÓN (SEQ ID NO: 51)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM  
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL  
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT  
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOGNVF  
SCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

G-022 SIN MARCADORES (SEQ ID NO: 52)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADIQHSGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS  
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY  
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP  
SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL  
TVDKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKSLEGPRFEELKTPLDGTTHT  
CPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPA

**ESTRADÓMERO AGRUPADOS**

G-008 SIN MARCADORES (SEQ ID NO: 53)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADIQHGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV  
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN



PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR  
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM  
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKS  
RWQOGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSLEGPRFEGKPIPNPLLGLDSTRTG  
HHHHH.

SIN MARCADOR. (SEQ ID NO: 58)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADIERKCCVECPCPAPPVAGPSVFLFPPPKPKDTL  
MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLT  
VHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL  
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQOGNV  
FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP  
PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR  
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM  
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKS  
RWQOGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK.

G-019

CON MARCADOR (SEQ ID NO: 59)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADIERKCCVECPCPRSSEPKSCDKTHTCPPCPAP  
ELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK  
KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP  
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDS  
FFLYSKLTVDKSRWQOGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSLEGPRFEGKPI  
NPLLGLDSTRTGHHHHH.

SIN MARCADOR (SEQ ID NO: 60)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADIERKCCVECPCPRSSEPKSCDKTHTCPPCPAP  
ELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK  
KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP  
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDS  
FFLYSKLTVDKSRWQOGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK.

SIN MARCADORES SIN SITIOS DE ENZIMA DE RESTRICCIÓN (SEQ ID NO: 61)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGERKCCVECPCPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV  
FLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN  
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS  
REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKL  
VDKSRWQOGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

G-020

CON MARCADOR (SEQ ID NO: 62)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADIERKCCVECPCPRSSEPKSCDKTHTCPPCPAP  
ELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK  
KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP  
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDS  
FFLYSKLTVDKSRWQOGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSLDEPKSCDKTHT  
CPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG  
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA

KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP  
VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSLEGPR  
FEGKPIPNPLLGLDSTRTGHHHHHH.

SIN MARCADOR (SEQ ID NO: 63)

METDTLLLWVLLWVPGSTGDAADIERKCCVECPCPRSSSEPKSCDKTHTCPPCPAP  
ELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT  
KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP  
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS  
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSLDEPKSCDKTHT  
CPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV  
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA  
KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP  
VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK.

G-027

CON MARCADOR (SEQ ID NO: 64)

METDTLLLWVLLWVPGSTGDAADIVCSRDFTPPTVKILQSSCDGGGHFPPTIQLLC  
LVSGYTPGTINITWLEDGQVMDVDLSTASTTQEGELASTQSELTLSQKHWLSDRITYT  
CQVTYQGHTFEDSTKKCGGGDIVCSRDFTPPTVKILQSSCDGGGHFPPTIQLLCLVS  
GYTPGTINITWLEDGQVMDVDLSTASTTQEGELASTQSELTLSQKHWLSDRITYTCQV  
TYQGHTFEDSTKKCGGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLM  
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL  
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT  
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV  
FCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSLEGPRFEGKPIPNPLLGLDSTRTGHHHHHH.

SIN MARCADOR (SEQ ID NO: 65)

METDTLLLWVLLWVPGSTGDAADIVCSRDFTPPTVKILQSSCDGGGHFPPTIQLLC  
LVSGYTPGTINITWLEDGQVMDVDLSTASTTQEGELASTQSELTLSQKHWLSDRITYT  
CQVTYQGHTFEDSTKKCGGGDIVCSRDFTPPTVKILQSSCDGGGHFPPTIQLLCLVS  
GYTPGTINITWLEDGQVMDVDLSTASTTQEGELASTQSELTLSQKHWLSDRITYTCQV  
TYQGHTFEDSTKKCGGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLM  
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL  
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT  
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV  
FCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK.

G-028

CON MARCADOR (SEQ ID NO: 66)

METDTLLLWVLLWVPGSTGDAADILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKK  
LIGERGHGGGSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT  
CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK  
EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY  
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEA  
LHNHYTQKSLSLSPGKSLEGPRFEGKPIPNPLLGLDSTRTGHHHHHH

SIN MARCADOR (SEQ ID NO: 67)

METDTLLLWVLLWVPGSTGDAADILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKK  
LIGERGHGGGSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT

CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK  
EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS  
SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEA  
LHNHYTQKSLSLSPGK.

G-029 (SEQ ID NO: 68)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKK  
LIGERGHGGGDIVCSRDFTPPTVKILQSSCDGGGHFPPTIQLLCLVSGYTPGTINIT  
WLEDGQVMDVDLSTASTTQEGELASTQSELTLSQKHWLSDRTYTCQVTYQGHTFEDS  
TKKCGGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCV  
VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY  
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD  
IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALH  
NHYTQKSLSLSPGKSLEGPRFEGKPIPNPLLGLDSTRTGHHHHHH.

SIN MARCADOR (SEQ ID NO: 69)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKK  
LIGERGHGGGDIVCSRDFTPPTVKILQSSCDGGGHFPPTIQLLCLVSGYTPGTINIT  
WLEDGQVMDVDLSTASTTQEGELASTQSELTLSQKHWLSDRTYTCQVTYQGHTFEDS  
TKKCGGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCV  
VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY  
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD  
IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALH  
NHYTQKSLSLSPGK.

G-030

CON MARCADOR (SEQ ID NO: 70)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKK  
LIGERGHILGGGDIERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCV  
VVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEY  
KCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD  
IAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALH  
NHYTQKSLSLSPGKRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SR  
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD  
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSV  
MSHEALHNHYTQKSLSLSPGKSLEGPRFEGKPIPNPLLGLDSTRTGHHHHHH.

SIN MARCADOR (SEQ ID NO: 71)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAADILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKK  
LIGERGHILGGGDIERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCV  
VVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEY  
KCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD  
IAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALH  
NHYTQKSLSLSPGKRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SR  
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD  
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSV  
MSHEALHNHYTQKSLSLSPGK.

G-031

CON MARCADOR (SEQ ID NO: 72)

METDTLLLWVLLWVPGSTGDAADILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKK  
LIGERGHDIERKCCVECPCPRSSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK  
DTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV  
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ  
VSLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ  
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSLEGPRFEGKPIPNPLLGLDSTRTGHHHH  
HH.

SIN MARCADOR (SEQ ID NO: 73)

METDTLLLWVLLWVPGSTGDAADILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKK  
LIGERGHDIERKCCVECPCPRSSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK  
DTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV  
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ  
VSLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ  
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK.

G-032

CON MARCADOR (SEQ ID NO: 74)

METDTLLLWVLLWVPGSTGDAADILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKK  
LIGERGHILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKKLIGERGHGGGSSEPKSC  
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW  
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK  
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNY  
KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKS  
LEGPRFEGKPIPNPLLGLDSTRTGHHHHHH

SIN MARCADOR (SEQ ID NO: 75)

METDTLLLWVLLWVPGSTGDAADILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKK  
LIGERGHILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKKLIGERGHGGGSSEPKSC  
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW  
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK  
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNY  
KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK.

G-033

CON MARCADOR (SEQ ID NO: 76)

METDTLLLWVLLWVPGSTGDAERKCCVECPCPDIVCSRDFTPPTVKILQSSCDG  
GGHFPPTIQLLCLVSGYTPGTINITWLEDGQVMDVDLSTASTTQEGELASTQSELT  
SOKHWLSDRITYTCQVYQGHTFEDSTKKCGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG  
PSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE  
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL  
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS  
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSLEGPRFEGKPIPNPLL  
LDSTRTGHHHHHH.

SIN MARCADOR (SEQ ID NO: 77)

METDTLLLWVLLWVPGSTGDAERKCCVECPCPDIVCSRDFTPPTVKILQSSCDG  
GGHFPPTIQLLCLVSGYTPGTINITWLEDGQVMDVDLSTASTTQEGELASTQSELT







Figura 25

IgG1 humana

Bisagra-EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:87)

CH2- APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV  
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP  
APIEKTISKAK (SEQ ID NO:88)

CH3- GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ  
PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT  
QKLSLSPGK (SEQ ID NO:89)

IgG2 humana

Bisagra- RKCCVECPCPCP (SEQ ID NO:90)

CH2- APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWY  
VDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGL  
PAPIEKTISKTK (SEQ ID NO:91)

CH3- GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP  
ENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ  
KLSLSPGK (SEQ ID NO:92)

IgG3 humana

Bisagra- ELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPK  
SCDTPPPCPRCP (SEQ ID NO:93)

CH2- APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF  
KWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN  
KALPAPIEKTISKTK (SEQ ID NO:94)

CH3- GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQP  
ENNYNTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFFCFSVMHEALHNRFTQK  
SLSLSPGK (SEQ ID NO:95)

IgG4 humana

Bisagra - ESKYGPPCPSCP (SEQ ID NO:96)

CH2- APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF  
NWXVVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN  
KGLPSSIEKTISKAK (SEQ ID NO:97)

CH3- GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP  
ENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCFSVMHEALHNHYTQ  
KLSLSLGLK (SEQ ID NO:98)