

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 599 996**

51 Int. Cl.:

**C07K 14/31** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.12.2006** E 11194071 (4)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.09.2016** EP 2431383

54 Título: **Polipéptidos**

30 Prioridad:

**05.12.2005 GB 0524788**

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

**06.02.2017**

73 Titular/es:

**AFFIBODY AB (100.0%)  
Gunnar Asplunds Allé 24  
171 69 Solna, SE**

72 Inventor/es:

**FRIEDMAN, MIKAELA;  
STÅHL, STEFAN;  
JONSSON, ANDREAS;  
ERIKSSON, TOVE y  
NILSSON, FREDRIK**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

ES 2 599 996 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

Polipéptidos

**Campo de la invención**

Esta invención se refiere a polipéptidos que se unen al receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). Los polipéptidos tienen aplicaciones industriales en medicina, medicina veterinaria, diagnóstico por la imagen, técnicas de separación y diagnóstico.

**Antecedentes**

La expresión anormal de receptores en la familia del receptor del factor de crecimiento epidérmico (familia EGFR; también denominada familia del receptor ErbB), está frecuentemente relacionada con varios tumores malignos en pulmón, mama, próstata, colon, ovarios, cabeza y cuello. Es interesante estudiar esta familia del receptor para obtener una mejor comprensión de la relación de los receptores con el pronóstico y tratamiento del paciente. La familia consiste en cuatro receptores transmembranarios, el receptor del factor de crecimiento epidérmico, EGFR, (ErbB1/HER1), HER2 (ErbB2/neu), HER3 (ErbB3) y HER4 (ErbB4). (Gullick W.J. *Endocr. Rel. Canc.* 2001; **8**: 75-82; Witton C.J. *et al. J. Patol.* 2003; **200**: 290-297). Cada receptor comprende un dominio extracelular de unión al

ligando, un dominio transmembranario y un dominio intracelular de tirosina cinasa (excepto HER3 que carece de un dominio funcional de tirosina cinasa) (Citri A., *et al. Exp. Cell Res.* 2003; **284** (1):54-65; Harari D. y Yarden Y. *Oncogene* 2002; **19**:6102-6114). Existe una variante de EGFR que no tiene casi ECD- EGFRVIII, Wikstrand C.J. *et al. Cancer Res.* **55**: 3140-3148, 1995; Wang H.S. *et al. J. Biol. Chem.* 272: 2927-2935, 1997; Kuan C.T., *et al. Endocr. Relat. Cancer* 8:83-96, 2001.

Cuando un ligando se une a un receptor en la familia EGFR, el receptor se estimula para dimerizarse, ya sea con otro receptor idéntico (homodimerización) o con otro receptor en la familia (heterodimerización) (Olayoye M.A., *et al. Embo J.* 2000; **19**:3159-67; Yarden Y., Sliwkowski M.X. *Cell Biol.* 2001; **2**:127-37). La dimerización del receptor activa el dominio intracelular de tirosina cinasa, que conduce a la proliferación, migración, apoptosis, diferenciación u otros procesos celulares (Yarden Y., Sliwkowski M.X. *Cell Biol.* 2001; **2**:127-37; Wells A. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 1999; **31**:637-643; Vermeer P.D. *et al. Nature* 2003; **422**:322-6). EGFR y HER2 son los receptores más estudiados de los cuatro en la familia y se sobreexpresan en muchos tumores malignos (Nordberg E. *et al. Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* Julio 2005; **32**(7):771-7). Una gran expresión de estos receptores concretos está relacionada con frecuencia con un pronóstico insuficiente (Hendriks B.S. *et al. J. Biol. Chem.* 2003; **278**:23343-23351; Arteaga C.L. *Oncologist* 2002; **7** Supl. 4:31-9; Earp H.S. *et al. Breast Cancer Res. Treat.* 1995; **35**:115-32; Wester K. *et al. Acta Oncol.* 2002; **41**:282-8. Lorenzo G.D. *et al. Clin. Prostate Cancer* 2003; **2**(1):50-7).

Varios ligandos se unen a miembros de la familia del receptor EGFR. El único receptor que no tiene ningún ligando natural conocido es HER2. (Citri A., *et al. Exp. Cell Res.* 2003; **284** (1):54-65; Yarden Y., Sliwkowski M.X. *Cell Biol.* 2001; **2**:127-37; Lenferink A.E.G., *et al. EMBO J.* 1998; **17**:3385-3397). El anticuerpo trastuzumab (Herceptina), que se une al dominio extracelular, puede utilizarse para dirigir el receptor HER2, especialmente en tumores expresados por HER2 en cáncer de mama. La unión de trastuzumab puede bloquear la señalización intracelular que estimula el crecimiento, disminuir la capacidad de reparación celular después de la quimioterapia y la radioterapia y posiblemente también mejorar la capacidad de apoptosis. Bookman M.A. *et al. J. Clin. Oncol.* 2003; **21**:283-290; Pegram M.D. *et al. Cancer Treat. Res.* 2000; **103**: 747-75; McKeage K., Perry C.M. *Drugs* 2002; **62**:209-43). Pueden utilizarse también moléculas Affibody descritas en el documento WO2005/003156 para dirigir HER2.

La función de EGFR puede inhibirse bloqueando la unión del ligando a la parte extracelular del receptor, utilizando anticuerpos tales como cetuximab (Erbix, ImClone/Bristol Myers Squibb) (Baselga J. *Eur. J. Cancer* 37: Supl. 4, **S16-22**, 2001, ABX-EGF Ranson M., *Curr. Opin. Mol. Ther.* 5: 541-546, 2003 o mab425/EMD55900 (Merck) o fragmentos de anticuerpos (Borkovitz A. *et al.: Expert Opin. Biol. Ther.* **4**: 1453-1471, 2004). La función del receptor puede bloquearse en algunos, pero no en todos los pacientes, con inhibidores de tirosina cinasa de bajo peso molecular tal como Iressa (Gefitinib, AstraZeneca) ( Sundberg A.L. *et al.: Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **30**: 1348-1356, 2003; Herbst R.S. *et al. : Nat. Rev. Cancer* **4**: 956-965, 2004) o Tarceva (Erlotinib, OSI-774) (Krozely P. *Clin. J. Oncol. Nurs.* **8**: 163-168, 2004) que se unen a la parte intracelular del receptor. En ambos casos , el objetivo es bloquear la señalización que estimula el crecimiento, y de ese modo inhibir la proliferación de células tumorales (Rich J.N., Bigner D.D.: *Nat. Rev. Drug Discov.* **3**: 430-446, 2004). Sin embargo hay margen de mejora. Por ejemplo Iressa ha demostrado ser una decepción, actuando en sólo una fracción de los pacientes que sobreexpresan el EGFR. Para cetuximab, todavía queda por ver cuál será la mejor modalidad de tratamiento de poliquimioterapia para aumentar el impacto terapéutico del tratamiento. Estas terapias se pueden combinar con un método a base de radionúclidos para destruir las células tumorales (Carlsson J., *et al.: Radiotherapy and Oncology*, **66** (2), 107-117, 2003), y un ejemplo interesante es la reciente aplicación de Gefitinib para modificar la absorción y los efectos terapéuticos de EGF radiomarcado (con ástato) (Sundberg A.L. *et al.: Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **30**: 1348-1356, 2003). El desarrollo de agentes dirigidos al polipéptido anti-EGFR proporciona una alternativa interesante al ligando EGF biológico agonista natural (estimulante tumoral), para la administración de radionúclidos tanto para diagnóstico (por imagen) como con fines terapéuticos, como se ejemplificó anteriormente para HER-2 (Wikman M. *et al. Protein Engineering, Design & Selection* (PEDS), **17** (5), 455-462, 2004; Steffen A.C. *et al. Cancer Biotherapy and*

*Radiopharmaceuticals*, **20**, 239-248, 2005; Steffen A.C. *et al. Eur. J. Nuclear Medicine*, en imprenta, 2005). Dichos polipéptidos también pueden tener efectos biológicos, incluso sin radiactividad, que son de interés terapéutico. Las variantes Z, también denominadas "moléculas Affibody®", como se describe por ejemplo en el documento WO2005/0003156, son polipéptidos que tienen peso molecular intermedio (6-15 kDa), y por lo tanto pueden tener  
5 mejor penetración en el tejido tumoral que los anticuerpos (150 kDa), y al mismo tiempo tener mejores propiedades de circulación general que las sustancias de bajo peso molecular como Iressa y Tarceva (≈1 kDa) que se eliminan rápidamente por excreción renal. De hecho, las variantes Z suelen tener vidas medias en un intervalo adecuado para aplicaciones de detección por la imágenes *in vivo*, y si es necesario para aplicaciones terapéuticas o de otro tipo, las vidas medias pueden ampliarse drásticamente por la tecnología de fusión génica (véase por ejemplo el documento  
10 WO 2005/097202A).

La sobreexpresión de EGFR es común en carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello, (HNSCC) (Rikimaru, K. *et al. Head Neck*, 1992. **14(1)**: págs. 8-13; Santini, J. *et al. Head Neck*, 1991. **13 (2)**: págs. 132-9. Ekberg T. *et al. Int. J. Oncology*, 26 (5), 1177-1185, 2005). Se han sugerido niveles elevados de HER2 en varios estudios de HNSCC (Craven, J. M. *et al. Anticancer Res.*, 1992. **12(6B)**: págs. 2273-6), con posible valor pronóstico  
15 en carcinomas orales de células escamosas, (SCC) (Werkmeister, *et al. Oral Oncol.*, 2000. **36(1)**: págs. 100-5; Werkmeister, R. *Am. J. Surg.*, 1996. **172 (6)**: págs. 681-3; Xia, W. *et al. Clin. Cancer Res.*, 1997. **3(1)**: págs. 3-9; Xia, W. *et al. Clin. Cancer Res.*, 1999. **5(12)**: págs. 4164-74). Se ha demostrado que HER3 se sobreexpresa en estirpes celulares de HNSCC y está relacionado con la evolución clínica maligna (Xia, W. *et al. Clin. Cancer Res.*, 1999. **5(12)**: págs. 4164-74; Shintani, S. *et al. Cancer Lett.*, 1995. **95(1-2)**: págs. 79-83) y que se sobreexpresa también en otros tipos de tumores malignos (Gullick, W.J. *Cancer Surv.*, 1996. **27**: págs. 339-49). Algunas estirpes celulares de carcinoma de mama humano tienen transcritos de HER4 (Plowman, G.D. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993. **90 (5)**: págs. 1746-1750) pero la función de HER4 en el cáncer es menos clara (Srinivasan, R. *et al. Cancer Res.*, 2000. **60 (6)**: págs. 1483-7). Es interesante estudiar la coexpresión de los cuatro receptores, ya que se ha sugerido que los patrones de coexpresión pueden estar relacionados con fenotipos malignos (Xia, W. *et al. Clin. Cancer Res.*, 1999. **5(12)**: págs. 4164 -74; Bei, R. *et al. J. Pathol.*, 2001. **195(3)**: págs. 343-8; Krahn, G. *et al. Eur. J. Cancer*, 2001. **37(2)**: págs. 251-9). Las tinciones inmunohistoquímicas de EGFR y HER2 han presentado tinción membranosa pronunciada. Por el contrario, la tinción de HER3 y HER4 ha sido principalmente citoplásmica (Plowman, G. D *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1993. **90(5)**: págs. 1746-1750; Srinivasan, R. *et al. Cancer Res.*, 2000. **60(6)**: págs. 1483-7). Además, se ha publicado que EGFR y HER2 se expresan a altos niveles tanto en tumores como en  
25 metástasis. Por lo tanto, parece que EGFR y HER2 son objetivos potenciales para aplicaciones de diagnóstico por la imagen y terapéuticas *in vivo* macromoleculares y de péptidos, mientras que éste podría no ser el caso con HER3 y HER4.

También se han encontrado concentraciones elevadas de EGFR proteína en el carcinoma de vejiga urinaria y la sobreexpresión se ha relacionado con el estadio del tumor y el grado de tumor maligno (Harney, J.V. *et al., J. Urol.*,  
35 **146**, 227-31 (1991); Messing, E.M. *Cancer Res.*, **50**, 2530-7 (1990); Neal, D.E. *et al., Cancer*, **65**, 1619-1625 (1990); Sauter, G. *et al. Int. J. Cancer*, **57**, 508-14 (1994); Gardmark T., *et al. British Journal of Urology* (BJU), **95**, 982-986, 2005).

En el glioblastoma multiforme (GBM) la forma más maligna de los gliomas, que son tumores del sistema nervioso central primarios frecuentes, la sobreexpresión de EGFR se detecta en al menos la mitad de todos los tumores  
40 analizados (Boskovitz A., *et al. Expert Opin. Biol. Ther.* **4**: 1453-1471, 2004; Shinojima N., *et al. Cancer Res.* **63**: 6962- 6970, 2003; Ekstrand A.J., *et al. Cancer Res.* **51**: 2164-2172, 1991; Rainov N.G. *et al. Journal of Neuro-Oncology* **35**: 13-28 (1997); Carlsson J. *et al. J. Neurooncol.* 8 Sep. 2005; [Epub antes de imprimir]. La sobreexpresión se debe a las velocidades de amplificación génica y/o de aumento de la transcripción, y se ha publicado el número de 10<sup>5</sup> receptores por célula tumoral (Rich J.N., Bigner D.D.: *Nat. Rev. Drug Discov.* **3**: 430-446,  
45 2004; Bigner S.H. *et al. J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **47**, 191-205 (1998); Carpenter, G. *Ann. Rev. Biochem.* **56**, 881-914 (1987); Collins V.P. *Cancer Biology* **4**, 27-32 (1993); Libermann T.A. *et al. Nature* **313**, 144-147, (1985); Kleihues P., Ohgaki H. *Neuro-oncol.* **1**, 44-51, (1999); Kleihues P., Ohgaki H. *Toxicol. Pathol.* **28**, 164-170, (2000); Boskovitz A. *et al. Expert Opin. Biol. Ther.* **4**, 1453-1471, (2004)). La sobre-expresión de EGFR se correlaciona con el aumento de la tasa de crecimiento del glioma y de disminución de la supervivencia (Rich J.N., Bigner D.D.: *Nat. Rev. Drug Discov.* **3**, 430-446, (2004); Carlsson J. *et al. J. Neurooncol.* 8 Sep. 2005; [Epub antes de la impresión]; Schlegel J. *et al. Int. J. Cancer* **56**, 72-77, (1994); Wikstrand C.J., Bigner D.D. *J. Natl. Cancer Inst.* **90**, 799-801, (1998); Shinojima N. *et al. Cancer Res.* **63**, 6962-6970, (2003)) y se ha indicado que la sobreexpresión de EGFR es más pronunciada en las células tumorales que invaden bordes (Okada Y., *et al. Cancer Res.* **63**, 413-416) (2003)). Polipéptidos de unión específicos de EGFR posiblemente se podrían emplear para aplicaciones  
55 terapéuticas para el tratamiento del glioma, por ejemplo, mediante administración locorregional en la cavidad posoperatoria.

Varios otros tumores malignos de origen epitelial, tales como las que se encuentran en el pulmón y de mama, también están relacionados con una elevada expresión de EGFR (Salomon, D.S. *et al. Crit. Rev. Onco./ Hematol.*,  
60 **19(3)**: 183-232, (1995)). Los receptores EGFR están también distribuidos entre varios tejidos normales y se expresan a niveles bastante altos, especialmente en hepatocitos de hígado y en el epitelio de la piel (Gusterson, B. *et al. Cell Biol. Int. Rep.*, **8**, 649-58 (1984); Damjanov, I. *et al. Lab. Invest.*, **55**, 588-92. (1986)). Potencialmente, esto puede causar problemas en aplicaciones terapéuticas, especialmente radioterapia, pero es probablemente de menos importancia en aplicaciones de diagnóstico y de formación de imágenes, donde se dan bajas cantidades de

marcadores de diagnóstico o de formación de imágenes que se unen a los receptores EGFR. No obstante, los polipéptidos de unión a EGFR podrían encontrar aplicaciones en determinados tipos de cáncer, donde se ha de considerar la administración local.

5 Es un objeto de la invención proporcionar nuevos agentes que se unen al EGFR, que podrían utilizarse para diagnóstico, formación de imágenes *in vitro* o *in vivo*, así como en aplicaciones terapéuticas. Además, dichos polipéptidos de unión de EGFR podrían encontrar utilización en la estadificación y como una evaluación directa de la terapia basada en SME destinada reducir el receptor diana.

10 Además del desarrollo de agentes de formación de imágenes moleculares comercializados, las aplicaciones incluyen la utilización en el desarrollo de fármacos y procedimiento de identificación donde se desean agentes de diagnóstico por la imagen específicos para medir el resultado del tratamiento en modelos *in vivo* y posteriormente durante el desarrollo clínico. La formación de imágenes molecular proporciona una lectura directa de la eficacia de un producto farmacéutico destinado a reducir un receptor del factor de crecimiento, así como para evaluar el efecto antitumoral.

### Compendio de la invención

15 Según un aspecto de la misma, la invención proporciona un polipéptido que se une al receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), que comprende un motivo que se une al receptor de factor de crecimiento epidérmico, EBM, motivo que consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:

i) EMWX<sub>4</sub>AWX<sub>7</sub>EIR X<sub>11</sub>LPNLNGWQM TAFIASLLD,

en donde, independientemente uno de otro,

X<sub>4</sub> se selecciona de I, V, G y S;

20 X<sub>7</sub> se selecciona de D, E, N y K; y

X<sub>11</sub> se selecciona de D, N y E;

y

ii) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 93% de identidad con la secuencia definida en i);

25 el polipéptido de unión al EGFR que se une al EGFR de modo que el valor K<sub>D</sub> de la interacción es como máximo 10 μM.

30 La definición anterior de una clase de secuencia relacionada, polipéptidos que se unen a EGFR según la invención se basa en un análisis estadístico de un gran número de variantes de polipéptidos al azar de un andamiaje original, que fueron seleccionados por su interacción con EGFR en varios experimentos de selección diferentes. El motivo que se une al EGFR identificado, o "EBM", corresponde a la región enlazadora de la diana del andamiaje original, región que constituye dos hélices alfa dentro de un dominio de proteína de haz trihelicoidal. En el andamiaje original, la variedad de restos de aminoácidos de las dos hélices de EBM constituyen una superficie de unión para la interacción con la parte Fc constante de anticuerpos. En la presente invención, la variación aleatoria de los restos en la superficie de unión y la posterior selección de variantes han sustituido la capacidad de interacción de Fc por una capacidad para la interacción con EGFR.

35 Como entenderá el experto en la técnica, la función de cualquier polipéptido, tal como la capacidad de unión a EGFR de los polipéptidos según la invención, depende de la estructura terciaria del polipéptido. Por tanto, es posible hacer cambios menores en la secuencia de aminoácidos en un polipéptido sin afectar la función de los mismos. Por lo tanto, la invención abarca variantes modificadas del EBM de i), que son de tal manera que la secuencia resultante es al menos 93% idéntica a una secuencia que pertenece a la clase definida por i). Por ejemplo, es posible que un resto de aminoácido perteneciente a un determinado grupo funcional de restos de aminoácidos (p. ej., hidrófobo, hidrófilo, polar, etc.) puede ser intercambiado por otro resto de aminoácido del mismo grupo funcional.

40 Como se describe en detalle en el apartado experimental más adelante, la selección de variantes que se unen a EGFR ha llevado a la identificación de una gran cantidad de secuencias individuales del motivo que se une al EGFR (EBM). Estas secuencias constituyen realizaciones individuales de la secuencia de EBM i) en la definición de polipéptidos que se unen a EGFR según este aspecto de la presente invención. Las secuencias de motivos individuales que se unen al EGFR de la invención se presentan como SEQ ID n° 16, n° 34, n° 39, n° 93, n° 105, n° 107, n° 149, n° 154 y n° 155. En realizaciones de la invención, la secuencia del EBM i) puede ser la SEQ ID n° 147.

50 En realizaciones de la presente invención, el EBM puede formar parte de un dominio de proteína del haz de tres hélices. Por ejemplo, el EBM puede constituir esencialmente o formar parte de dos hélices alfa con un bucle de interconexión, dentro de dicho dominio de proteínas con haz de tres hélices.

En determinadas realizaciones de la invención, dicho dominio de proteína con haz de tres hélices se selecciona de dominios de proteínas receptoras bacterianas. Ejemplos no restrictivos de dichos dominios son los cinco dominios

diferentes trihelicoidales de la proteína A de *Staphylococcus aureus*, y sus derivados. Por lo tanto, un polipéptido que se une al EGFR según la invención puede comprender una secuencia de aminoácidos seleccionada de:

ADNNFNK- [EBM] -DPSQSANLLSEAKKLNESQAPK (EBM dentro del dominio de la proteína A estafilocócica);

ADNKFNK- [EBM] -DPSQSANLLAEAKKLNDQAQAPK (EBM dentro del dominio B de la proteína A estafilocócica);

5 ADNKFNK- [EBM] -DPSVSKEILAEAKKLNDQAQAPK (EBM dentro del dominio C de la proteína A estafilocócica);

ADAQQNNFNK- [EBM] -DPSQSTNVLGEAKKLNESQAPK (EBM dentro del dominio D de la proteína A estafilocócica);

AQHDE- [EBM] -DPSQSANVLGEAQLNDSQAPK (EBM dentro del dominio E de la proteína A estafilocócica); y

10 VDNKFNK- [EBM] -DPSQSANLLAEAKKLNDQAQAPK (EBM en el derivado de la proteína Z del dominio B de la proteína A estafilocócica);

en donde [EBM] es un motivo que se une al EGFR, como se ha definido anteriormente.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un polipéptido que se une al EGFR que comprende una secuencia de aminoácidos derivada de la secuencia de aminoácidos SEQ ID n° 327:

VDNKFNK EQQNAFYEILH LPNLNE EQRNAFIQSLKD DPSQ SANLLAEAKKLNDQAQAPK

15 comprendiendo sustituciones de aminoácidos en cualquiera o en todas las posiciones 9 a 11, 13 a 14, 17 a 18, 24 a 25, 27 a 28, 32 y 35 de la secuencia anterior, o las posiciones correspondientes a esas posiciones, cuyas sustituciones mejoran la unión del polipéptido a EGFR en comparación con un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos no modificada, y en las que el polipéptido de unión a EGFR se une a EGFR de modo que el  $K_D$  valor de la interacción es como máximo de 10  $\mu$ M.

20 Según otro aspecto alternativo de la misma, la invención proporciona un polipéptido que se une al EGFR, cuya secuencia de aminoácidos comprende una secuencia que cumple una definición seleccionada de las siguientes: iii) se selecciona de la SEQ ID n° 179, n° 197, n° 202, n° 256, n° 268, n° 270, n° 312, n° 317 y n° 318, iv) es una secuencia de aminoácidos que tiene 93% o más de identidad con una secuencia seleccionada de SEQ ID n° 179, n° 197, n° 202, n° 256, n° 268, n° 270, n° 312, n° 317 y n° 318.

25 Un polipéptido que se une al EGFR según cualquier aspecto de la invención puede unirse a EGFR de manera que el valor  $K_D$  de la interacción es como máximo de  $1 \times 10^{-6}$  M, por ejemplo a lo sumo  $1 \times 10^{-7}$  M.

30 Cuando se hace referencia en la presente memoria al grado de identidad entre las secuencias de aminoácidos de polipéptidos diferentes, se da el límite inferior de identidad del 85% a una secuencia descrita en la presente memoria. En algunas realizaciones, el polipéptido de la invención puede tener una secuencia que es al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idéntica a la secuencia descrita en la presente memoria. La comparación puede realizarse sobre un intervalo que corresponde a la más corta de las secuencias que se comparan, o sobre un intervalo que corresponde a un motivo que se une al EGFR en al menos una de las secuencias que se comparan.

35 Los polipéptidos tienen ventajas por que se unen bien a un EGFR. Normalmente, los polipéptidos pueden ser relativamente cortos y en virtud de su pequeño tamaño deben tener una mejor penetración en el tejido tumoral que los anticuerpos, mientras que al mismo tiempo tiene propiedades de mejor circulación general que las sustancias que se unen a EGFR de bajo peso molecular convencionales (a menudo con vidas medias demasiado cortas) y anticuerpos monoclonales (a menudo con tiempos de circulación demasiado largos).

40 Un polipéptido según la invención puede tener aproximadamente 53 a 58 aminoácidos de longitud. Sin embargo, la longitud puede ser mayor o menor. La longitud del polipéptido puede reducirse, por ejemplo, en el extremo N hasta en cuatro aminoácidos.

45 El empleo del término "posición" es relativo. En un polipéptido según la invención que tiene también 53 aminoácidos de longitud como el polipéptido sin modificar mencionado anteriormente, las posiciones de los aminoácidos en el polipéptido corresponden exactamente con las del polipéptido sin modificar cuando una situación donde hay, por ejemplo, una ampliación del terminal N en comparación con el polipéptido sin modificar los restos de aminoácidos en el péptido modificado correspondientes al péptido sin modificar tienen el mismo número de posición. Por ejemplo, si hay una ampliación en el resto de aminoácido seis en el polipéptido modificado entonces número siete de aminoácido de ese polipéptido modificado, contando a partir del terminal N corresponde al aminoácido en la posición número uno del polipéptido sin modificar.

50 Por consiguiente, los polipéptidos de la invención se pueden usar como una alternativa a los anticuerpos o sustancias de bajo peso molecular convencionales en diversas aplicaciones médicas, veterinarias, de diagnóstico y de formación de imágenes. Por ejemplo, los polipéptidos que se unen a EGFR de la invención se pueden usar en el

tratamiento de cánceres relacionados con EGFR tales como los causados por sobreexpresión de EGFR descritos anteriormente, especialmente cuando se aplica la distribución local, por ejemplo, glioma. Los polipéptidos que se unen a EGFR de la invención también se pueden usar para inhibir la señalización celular mediante la unión a un EGFR en una superficie celular, en el diagnóstico de cáncer, tanto *in vivo* como *in vitro* en agentes dirigidos contra células que expresan EGFR, particularmente células que sobreexpresan EGFR, en métodos histoquímicos para la detección de EGFR, en los métodos de separación y otras aplicaciones. Además del desarrollo de agentes de formación de imágenes moleculares para la clínica, existe una aplicación para que los agentes de diagnóstico por la imagen preclínicos midan el resultado del tratamiento en modelos *in vivo* y posteriormente durante el desarrollo clínico. El diagnóstico por la imagen molecular debe proporcionar una lectura directa de la eficacia de un producto farmacéutico destinado a disminuir un receptor del factor de crecimiento p. ej., HER2 o EGFR, así como para evaluar el efecto antitumoral. Los polipéptidos de la invención pueden ser útiles en cualquier método que se basa en la afinidad por EGFR de un reactivo. Por lo tanto, los polipéptidos pueden utilizarse como reactivos de detección, reactivos de captura o reactivos de separación en dichos métodos, pero también como agentes terapéuticos por derecho propio o como un medio para dirigir otros agentes terapéuticos, con efectos terapéuticos directos (p. ej., moléculas tóxicas, toxinas) o indirectos (p. ej., vacunas contra el cáncer, moléculas inmunoestimulantes) para la proteína EGFR.

Los métodos que emplean los polipéptidos según la invención *in vitro* se pueden realizar en diferentes formatos, tales como placas de microvaloración, en matrices de proteínas, en superficies de biodetectores, en perlas, en citometría de flujo, en secciones de tejido, etcétera.

El destinatario experto apreciará que pueden hacerse diversas modificaciones y/o adiciones a un polipéptido según la invención con el fin de adaptar el polipéptido a una aplicación específica sin apartarse del alcance de la presente invención. Estas modificaciones y adiciones se describen con más detalle a continuación y pueden incluir aminoácidos adicionales en la misma cadena polipeptídica, o etiquetas y/o agentes terapéuticos que están químicamente conjugados o sino unidos al polipéptido de la invención.

Además, la invención también abarca fragmentos de polipéptidos que se unen a EGFR derivados de la proteína A que conservan la unión a EGFR. La posibilidad de crear fragmentos de un dominio de SPA natural con especificidad de unión conservada fue demostrado por Braisted A.C. *et al.* en *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**: 5688-5692 (1996). En los experimentos descritos en ese artículo, usando un diseño basado en estructuras y métodos de presentación en fagos, el dominio de unión de un haz de tres hélices de 59 restos se redujo a un derivado de dos hélice resultante de 33 restos. Esto se logró por selección gradual de mutaciones al azar de diferentes regiones, lo que produjo la estabilidad y la afinidad de unión para mejorar de forma iterativa. Siguiendo el mismo razonamiento, con los polipéptidos de la presente invención, el destinatario experto podrá obtener un polipéptido que se une al EGFR "minimizado" con las mismas propiedades de unión que las del polipéptido que se une al EGFR "original". Por lo tanto, un polipéptido que constituye un fragmento de un polipéptido según la invención, está dentro del alcance de la invención.

Las expresiones "unión a EGFR" y "afinidad de unión por EGFR", empleadas en esta memoria descriptiva se refieren a una propiedad de un polipéptido que puede probarse, por ejemplo, empleando la tecnología de resonancia de plasmones superficiales, tal como en un instrumento Biacore. Por ejemplo, como se describe en los ejemplos más adelante, la afinidad que se une al EGFR puede probarse en un experimento en el que EGFR, o un fragmento de EGFR tal como su dominio extracelular, se inmoviliza en un chip detector del instrumento, y la muestra que contiene el polipéptido a ensayar se hace pasar sobre el chip. Alternativamente, el polipéptido a ensayar se inmoviliza en un chip detector del instrumento, y una muestra que contiene EGFR, o un fragmento de EGFR tal como su dominio extracelular, se hace pasar sobre el chip. EGFR puede ser, en este sentido, un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID n° 328, y su dominio extracelular puede ser un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID n° 329. El experto en la técnica puede interpretar los resultados obtenidos mediante dichos experimentos para establecer al menos una medida cualitativa de la afinidad de unión del polipéptido por EGFR. Si se desea una medición cualitativa, por ejemplo para determinar un valor de  $K_D$  para la interacción, se pueden usar también métodos de resonancia de plasmones superficiales. Los valores de unión pueden definirse por ejemplo en un instrumento Biacore 2000 (Biacore AB). EGFR está inmovilizado en un chip detector de la medición, y las muestras del polipéptido cuya afinidad va a determinarse, se preparan por dilución en serie y se inyectan en orden aleatorio. Los valores de  $K_D$  pueden calcularse a continuación a partir de los resultados utilizando por ejemplo, el modelo de unión de Langmuir 1:1 del programa informático BIAevaluation 4.1 proporcionado por el fabricante del instrumento (Biacore AB).

Cuando se introducen sustituciones de aminoácidos, éstos no deben afectar a la estructura básica del polipéptido. Por ejemplo, el plegamiento total de la cadena principal C $\alpha$  del polipéptido puede ser esencialmente el mismo que el de un dominio Z "natural" con el que está relacionado, es decir, que tiene los mismos elementos de estructura secundaria en el mismo orden. Por lo tanto los polipéptidos que tienen esta estructura básica tendrán espectros de DC similares al dominio Z "natural". El destinatario experto tiene en cuenta otros parámetros que pueden ser relevantes. El requisito de conservar la estructura básica, pone restricciones en las que las posiciones de la secuencia de aminoácidos pueden ser objeto de sustitución. Por ejemplo, se prefiere que los restos de aminoácidos situados en la superficie del polipéptido estén sustituidos, mientras que los restos de aminoácidos enterrados dentro del núcleo del polipéptido "haz de tres hélices" deben mantenerse constantes a fin de conservar

las propiedades estructurales de la molécula. El mismo razonamiento se aplica a fragmentos de polipéptidos de la invención.

La invención también abarca polipéptidos en los que el polipéptido que se une al EGFR descrito anteriormente está presente como un dominio que se une al EGFR al que restos de aminoácidos adicionales se han añadido a cualquiera de los terminales. Estos restos de aminoácidos adicionales pueden desempeñar una función en la unión de EGFR por el polipéptido, pero pueden igualmente servir bien a otros propósitos, relacionados por ejemplo con una o más de la producción, purificación, estabilización, acoplamiento o detección del polipéptido. Dichos restos de aminoácidos adicionales pueden comprender uno o más restos de aminoácidos añadidos a efectos de acoplamiento químico. Un ejemplo de esto, es la adición de un resto de cisteína en la primera o última posición en la cadena polipeptídica, es decir, en el terminal N o C. Dichos restos de aminoácidos adicionales también pueden proporcionar una "etiqueta" para purificación o detección del polipéptido tal como una etiqueta His<sub>6</sub>, una etiqueta "myc" o una etiqueta de "flag" para interacción con anticuerpos específicos para la etiqueta.

La invención también abarca polipéptidos que se unen a EGFR en la que un polipéptido que se une al EGFR, como se describió anteriormente está presente como un dominio que se une al EGFR al que péptidos o proteínas adicionales u otros grupos funcionales se acoplan por el terminal N o C o a cualquier otro resto (específica o inespecíficamente) mediante conjugación química (utilizando métodos de química orgánica conocidos).

Los "restos de aminoácidos adicionales" expuestos anteriormente, también pueden proporcionar una o más dominios de polipéptidos con alguna función deseada, tal como la misma función de unión que el primer dominio que se une al EGFR, u otra función de unión, o una función enzimática, función tóxica (p. ej., una inmunotoxina), o una función de señalización fluorescente o una de estas combinaciones.

El polipéptido de la invención puede estar en formas monoméricas o poliméricas. Las formas poliméricas del polipéptido pueden presentar ventajas porque pueden haber mejorado las propiedades de unión. Las formas poliméricas preferidas incluyen las formas diméricas y triméricas. Las formas poliméricas de los polipéptidos pueden comprender un número adecuado de polipéptidos de la invención. Estos polipéptidos esencialmente forman dominios dentro del polímero. Todos estos dominios pueden tener la misma secuencia de aminoácidos, pero, alternativamente, pueden tener diferentes secuencias de aminoácidos. Los polipéptidos se pueden unir por enlace covalente utilizando métodos conocidos de química orgánica, o expresarse como uno o más polipéptidos de fusión en un sistema para la expresión biotecnológica de polipéptidos, o unirse de cualquier otro modo, ya sea directamente o mediante un enlazador, por ejemplo un aminoácido enlazador.

Además, los polipéptidos de fusión, en los que el polipéptido que se une al EGFR de la invención proporciona un primer dominio o resto, y el segundo o más restos tienen otras funciones que la unión a EGFR también se contemplan y están dentro del alcance de la presente invención. El segundo o más restos de dicho polipéptido de fusión puede comprender un dominio de unión con una afinidad por otra molécula diana que EGFR. Dicho dominio de unión puede ser otro, que se une al polipéptido similar. Por ejemplo, el que se une al polipéptido puede ser una variante Z. Esto hace que sea posible crear reactivos multiespecíficos que se pueden utilizar en varios tipos de aplicaciones tales como en medicina, medicina veterinaria, diagnóstico, separación y formación de imágenes. La preparación de dichos polipéptidos de fusión multiespecíficos se puede realizar como generalmente se ha descrito anteriormente.

En otras realizaciones de la invención, el segundo o más restos pueden comprender una proteína no relacionada, de origen natural o biotecnológica (o uno de sus fragmentos que conserva la capacidad de unión o de otro tipo de la proteína de origen natural o biotecnológica) que tiene una afinidad de unión por una diana. Por ejemplo, un polipéptido que se une al EGFR según la invención puede estar unido a un dominio que se une al albúmina de la proteína G estreptocócica, o de cualquier otra proteína/péptido con afinidad por una proteína sérica para mejorar la vida media del polipéptido que se une al EGFR para su empleo en aplicaciones terapéuticas.

Los polipéptidos que se unen a EGFR de la presente invención pueden proporcionarse en forma de otros polipéptidos de fusión. Por ejemplo, el polipéptido que se une al EGFR o uno de sus fragmentos, pueden acoplarse por enlace covalente a un segundo o más resto o restos, que además de, o en lugar de la unión a la diana, presentan otras funciones. Un ejemplo sería una fusión entre uno o más polipéptidos que se unen a EGFR y un polipéptido enzimáticamente activo que sirve como resto indicador o efector. Los ejemplos de enzimas indicadoras, que pueden acoplarse al polipéptido que se une al EGFR para formar una proteína de fusión, son bien conocidos por los expertos en la técnica e incluyen enzimas tales como la  $\beta$ -galactosidasa, fosfatasa alcalina, peroxidasa de rábano picante, carboxipeptidasa. Otras opciones para el segundo y más resto o restos de un polipéptido de fusión según la invención incluyen polipéptidos fluorescentes, tales como la proteína verde fluorescente, la proteína roja fluorescente, luciferasa y sus variantes.

Otras opciones para el segundo y más resto o restos de un polipéptido de fusión según la invención incluyen un resto o restos para aplicaciones terapéuticas. En aplicaciones terapéuticas, también se pueden acoplar otras moléculas, por enlace covalente o no covalente, al polipéptido de la invención que se une al EGFR por otros medios. Por ejemplo, otras moléculas tales como enzimas para aplicaciones "ADEPT" (Antibody-Directed Enzyme Prodrug Therapy) utilizando el polipéptido de la invención para dirigir la enzima efectora (p. ej., carboxipeptidasa) o

fusiones de RNasa o Dnasa; proteínas para la regeneración de células efectoras y otros componentes del sistema inmunitario; citocinas, tales como IL-2, IL-12, TNF $\alpha$ , IP-10; factores procoagulantes, tales como el factor tisular, el factor de von Willebrand; toxinas, tales como ricina A, exotoxinas de *Pseudomonas*, calicheamicina, maitansinoide, pequeñas moléculas tóxicas, tales como análogos de auristatina, doxorubicina.

- 5 Otros aminoácidos descritos anteriormente (en especial hexahistidina, cisteína) se pueden emplear para acoplar quelantes para radioisótopos a los polipéptidos que se unen a EGFR con el fin de incorporar fácilmente radionúclidos para diagnóstico (p. ej., <sup>68</sup>Ga, <sup>76</sup>Br, <sup>111</sup>In, <sup>99</sup>Tc, <sup>125</sup>I) o tratamiento (p. ej., <sup>90</sup>Y, <sup>131</sup>I, <sup>211</sup>A, <sup>177</sup>Lu).

La invención también abarca polipéptidos en los que el polipéptido que se une al EGFR descrito anteriormente se ha provisto de un grupo marcador, tal como al menos un fluoróforo, biotina o isótopo radiactivo, por ejemplo, para la

- 10 detección del polipéptido.

Con respecto a la descripción anterior de polipéptidos y proteínas de fusión que incorporan un polipéptido que se une al EGFR de la invención, debe señalarse que la designación de primer, segundo y más restos se hace en aras de claridad para distinguir entre el resto o restos que se unen a EGFR, por una parte, y restos que presentan otras funciones por otra parte. Estas designaciones no pretenden hacer referencia al orden real de los diferentes dominios

- 15 en la cadena de polipéptido de la proteína o polipéptido de fusión. Así, por ejemplo, un primer resto puede aparecer en el extremo del terminal N, en el medio, o en el extremo terminal del C de la proteína o polipéptido de fusión.

Otros aspectos y realizaciones de la invención preferidos serán evidentes a partir de la lista siguiente de realizaciones y las reivindicaciones adjuntas.

#### Breve descripción de los dibujos

- 20 Los polipéptidos según la invención y métodos para su empleo se describirán a continuación, a modo de ejemplo solamente, con referencia a los dibujos adjuntos, figuras 1-12, en las que:

La figura 1 es una lista de las secuencias de aminoácidos de ejemplos de motivos que se unen a EGFR comprendidas en los polipéptidos que se unen a EGFR (SEQ ID n° 1-163), los ejemplos de polipéptidos que se unen a EGFR (SEQ ID n° 164-326), el derivado de proteína Z del dominio B de la proteína A de *Staphylococcus aureus* (SEQ ID n° 327), el EGFR humano completo (SEQ ID n° 328) y el dominio extracelular de EGFR humano (SEQ ID n° 329);

- 25 la figura 2A muestra las secuencias de diferentes polipéptidos que se unen a EGFR seleccionados en el Ejemplo 1 en comparación con la secuencia de la proteína Z. La figura indica restos de aminoácidos básicos, ácidos, apolares y polares; la figura 2B muestra la secuencia de aminoácidos de cuatro polipéptidos de la figura 2A e indica restos de

- 30 aminoácidos hidrófobos, neutros e hidrófilos, la figura 2C muestra las secuencias de aminoácidos de los polipéptidos de la figura 2B con otras características de relieve, y la figura 2D ilustra una estrategia de maduración de la afinidad para la producción de polipéptidos según la invención;

la figura 3 muestra el resultado del análisis SDS-PAGE de polipéptidos que se unen a EGFR His<sub>6</sub>-Z<sub>EGFR: 942</sub> (carril 1), His<sub>6</sub>-Z<sub>EGFR: 948</sub> (carril 2), His<sub>6</sub>-Z<sub>EGFR: 955</sub> (carril 3), His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR: 942</sub>)<sub>2</sub> (carril 4), His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR: 948</sub>)<sub>2</sub> (carril 5) y His<sub>65</sub>-(Z<sub>EGFR: 955</sub>)<sub>2</sub> (carril 6). El carril M contiene proteínas marcadoras. A la derecha, la masa molecular se da en kilodaltons.

- 35 La figura 4 muestra el resultado de los estudios de unión de biodetectores realizados utilizando diversos polipéptidos de unión a EGFR;

la figura 5 muestra el resultado del análisis citométrico de flujo de la afinidad por EGFR natural de tres polipéptidos que se unen a EGFR;

- 40 la figura 6 es una serie de imágenes de microscopia confocal de células expuestas a polipéptidos que se unen a EGFR marcados con fluoróforo;

la figura 7 es un diagrama que muestra el resultado de los estudios de unión celular con polipéptidos radiomarcados que se unen a EGFR;

- 45 la figura 8 es una serie de gráficos que muestran los resultados de la saturación y estudios con polipéptidos radiomarcados que se unen a EGFR;

la figura 9 muestra el resultado de los estudios de unión a biodetectores realizados utilizando diversos polipéptidos que se unen a EGFR;

- 50 la figura 10 es una serie de imágenes de las células expuestas a polipéptidos que se unen a EGFR, utilizando A) detección fluorescente y B) detección enzimática;

la figura 11 es un diagrama que muestra los resultados de una prueba de especificidad *in vitro* de conjugados bencil-DTPA marcados con indio-111 de polipéptidos que se unen a EGFR en células A431. Todos los puntos de datos son



valores medios de tres mediciones, y las barras de error representan SEM.

La figura 12 es una serie de diagramas que muestran la biodistribución de conjugados que se unen a  $^{111}\text{In}$ -bencil-DTPA-EGFR y relaciones de tejido tumoral a normal en ratones portadores de xenoinjertos A431. Cada punto de datos representa un promedio de cuatro animales  $\pm$  desviación típica y se expresa en porcentaje de radiactividad inyectada por gramo de órgano o tejido.

En los siguientes experimentos, se utilizó presentación en fagos para seleccionar variantes de proteína Z que se unen a EGFR procedentes del dominio B de la proteína A de *Staphylococcus aureus*. Las variantes Z que se unen a EGFR se denominan a veces en conjunto  $Z_{\text{EGFR}}$ . Cada una de las variantes Z se le ha dado un número de identificación único #####, y cada una de las variantes se denominan indistintamente Z ##### y  $Z_{\text{EGFR}}$ : #####.

## 10 Ejemplo 1

Primera selección de polipéptidos que se unen a EGFR

### *Materiales y métodos*

#### *Producción de enlazadores de polipéptidos, cepas, vectores y biblioteca de fagómidos*

La cepa RRIΔM15 del supresor ámbar de *Escherichia coli* (Rüther, U. (1982) *Nucleic Acids Res.*, 10, 5765-5772) se utilizó como anfitrión bacteriano para la producción de fagos y el procedimiento de clonación. El vector fagómico pAffi1, y la construcción de la biblioteca de fagómidos, Zlib2002 (3 x 10<sup>9</sup> miembros), utilizados en este estudio se describen en la Grönwall C., Jonsson A., Lindström S., Gunneriusson E., Stahl S., Herne N.: "Selection and characterization of Affibody ligands binding to Alzheimer amyloid beta peptides", *J. Biotechnol.* (2006) en prensa, Epub 27 Sep. 2006. Se subclonaron inserciones de fagómidos de los clones seleccionados en los vectores de expresión pAY442 y pAY430, que contiene un activador T7 (Studier *et al.*, (1990) *Methods Enzymol.*, 185, 60-89), un fragmento de ADN que codifica una etiqueta (His<sub>6</sub>) hexahistidil y un sitio de clonación múltiple, junto con un gen que confiere resistencia a canamicina, así como una cisteína adicional en el terminal C para marcaje directo por pAY430. Se utilizó la cepa BL21 (DE3) de *E. coli* (Novagen, Madison, Wis.) para la producción de proteínas a partir de los vectores de expresión.

#### 25 *Preparación de estirpes de fagos*

La preparación de estirpes de fagos de la biblioteca (una parte de Zlib2002) y entre selecciones se llevó a cabo según los procedimientos previamente descritos (Nord, K. *et al.*, (1997) *Nat. Biotechnol.*, 15, 772-777; Hansson *et al.*, (1999) *Immunotechnology*, 4, 237-252), utilizando el fago cooperador M13K07 (New England Biolabs, Beverly, MA.). La precipitación con PEG/NaCl dio valoraciones de fagos de alrededor de 10<sup>13</sup> pfu/ml.

#### 30 *Selecciones de fagos*

Durante las selecciones (SEQ ID nº 329) se utilizó como proteína diana un dominio extracelular (ECD) recombinado de ~ 100 kDa de EGFR que comprende 623 aminoácidos, correspondiente a los nucleótidos 259-2127. La proteína se biotiniló *in vitro* utilizando EZ-Link™-Sulfo-NHS-LC-Biotin (Pierce, Rockford, IL.). Se añadió un exceso molar de 20 veces de biotina al EGFR-ECD en solución salina tamponada con fosfato (PBS; fosfato 10 mM, NaCl 137 mM, pH 7,2), y la mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 1 h. seguido de una diálisis prolongada contra PBS a 4°C para eliminar el excedente de biotina.

La proteína diana biotinilada se inmovilizó a continuación sobre perlas paramagnéticas recubiertas con estreptavidina (Dynabeads M-280 Streptavidin; Dynal A.S., Oslo, Noruega). Para cada ronda de selección, las perlas se lavaron dos veces con PBS enriquecida con 0,1% de Tween-20 (PBST). Para evitar ligantes no específicos, todos los tubos utilizados en este procedimiento se pretrataron con PBST enriquecido con 0,1% de gelatina. Para evitar más ligantes contra la estreptavidina presente en las perlas paramagnéticas, se preincubó la estirpe de fago en PBST enriquecido con 0,1% de gelatina con 0,2 mg de las perlas (previamente lavadas dos veces con PBST para las rondas 1 y 2. La estirpe de fago no unido se somete a continuación a biopanning contra la proteína diana EGFR-ECD durante 1 h 45 min a temperatura ambiente en rotación continua en tambor vertical, seguido de incubación con las perlas paramagnéticas recubiertas con estreptavidina durante 15 min (temperatura ambiente, rotación continua en tambor vertical). Se llevaron a cabo dos selecciones independientes, con cada dos concentraciones diferentes de la diana decrecientes en cada ronda de panning de la manera siguiente. Para la ronda 1; se incubaron 12 y 1,2  $\mu\text{g}$  de proteína diana con 6 y 0,6 mg de perlas, respectivamente, para la ronda 2; se incubaron 5, 2,5, 0,5, y 0,35  $\mu\text{g}$  de proteína diana con 2,5, 1,25, 0,25, 0,125 mg de perlas, respectivamente, y para las rondas 3 y 4 se incubaron, 5, 1, 0,5, y 0,1  $\mu\text{g}$  de proteína diana con 1, 0,5, 0,1, 0,05 mg de perlas, respectivamente. Este procedimiento dio lugar a una inmovilización de ~ 2  $\mu\text{g}$  de proteína diana por mg de perlas, como se determina por análisis SDS-PAGE. Los cuatro rondas de biopanning se realizaron de la manera siguiente. Las perlas se lavaron dos veces con PBST en la ronda 1, cinco veces en la ronda 2, siete veces en la ronda 3 y 10 veces en ronda 4. Los fagos unidos se eluyeron posteriormente con 500  $\mu\text{l}$  de glicina-HCl 50 mM, pH 2,1, durante 10 min a temperatura ambiente, seguido de neutralización inmediata con 50  $\mu\text{l}$  de Tris-HCl 1 M, pH 8,0 y 450  $\mu\text{l}$  de PBS.

Los fagos eluidos se utilizaron para infectar células RRIΔM15 en fase logarítmica durante 30 min a 37°C. Las suspensiones de células infectadas se extendieron sobre placas TYE de agar-agar (15 g/l de agar-agar, 8 g/l de NaCl, 10 g/l de triptona y 6 g/l de extracto de levadura), enriquecidas con glucosa al 2% y 100 mg/l de ampicilina, y seguido de incubación durante la noche a 37°C. Las colonias cultivadas se recogieron por resuspensión en caldo de cultivo de soja tripsínica (TSB, 30 g/l; Merck, Darmstadt, Alemania), enriquecido con 5 g/l de extracto de levadura, 2% de glucosa y 100 μ/ml de ampicilina, y se utilizó una fracción (~ 500 veces en exceso de células en comparación con la valoración de fagos después de la elución) para inoculación, lo que lleva a la siguiente generación de estirpe del fago. El proceso de selección se supervisó valorando las estirpes de fagos antes de la selección y después de la elución. Se dejó una dilución en serie de los fagos para infectar las células RRIΔM15 en fase logarítmica durante 5 min a temperatura ambiente, seguido por siembra en placas TYE de agar-agar, enriquecidas con glucosa al 2% y 100 μg/ml de ampicilina, e incubación durante la noche a 37°C.

#### *ELISA con estreptavidina*

Después de cuatro rondas de biopanning, se realizó un ELISA en 372 colonias escogidas al azar de las cuatro selecciones, para excluir inserciones del fagómido (pAffi1) con la capacidad de unión de estreptavidina. Los lisados celulares de las colonias escogidas al azar se incubaron en placa prebloqueada (Nunc transparente, c96, 236001) de 96 pocillos revestida de estreptavidina (PBST enriquecida con leche en polvo al 2%) durante 1,5 horas a temperatura ambiente. Como anticuerpo primario se utilizó un ligante pan-antipolipéptido específico de IgG de conejo (1,5 horas, temperatura ambiente, agitación continua) y como anticuerpo secundario una inmunoglobulina de conejo-HRP (P0448 Daco Cytomatation; 1 hora, temperatura ambiente, agitación continua). Se midió la absorbancia A<sub>405nm</sub> con un espectrofotómetro Tecan Sunrise después de la adición de la solución de sustrato (Immunopure TMB; Pierce).

#### *Secuenciación de ADN*

La secuenciación del ADN de los inserciones de fagómidos (pAffi1) se llevó a cabo en los clones que no se unen a estreptavidina de la cuarta ronda de panning, donde 64 clones eran de las selecciones 1 y 2, y 32 de las selecciones 3 y 4. Se utilizaron cebadores específicos y terminadores Big Dye (Amersham Biosciences, Uppsala, Suecia) y se analizaron los fragmentos de Sanger en un secuenciador de ADN ABI Prism 3700 Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, Calif.). Los fragmentos de ADN subclonado se verificaron por el mismo procedimiento.

Después de excluir las secuencias con codones de terminación ámbar (tres), más de una cisteína (una), y las secuencias que se han encontrado en las selecciones para otras dianas (tres), se seleccionaron diez secuencias para investigarlas más a fondo. Las secuencias de aminoácidos respectivas de estos polipéptidos ligantes se muestra en la figura 1 y se describe en el listado de secuencias como SEQ ID n° 164-173. El motivo que se une al EGFR deducido de estas variantes se presenta como SEQ ID n° 1-n° 10. Las secuencias de las variantes seleccionadas se presentan también en la figura 2A. En concreto, en la figura 2A, la secuencia de aminoácidos correspondiente al dominio Z "natural" se alinea con las secuencias de aminoácidos deducidas de los 10 polipéptidos ligantes diferentes seleccionados contra EGFR-ECD, los guiones utilizados en esa figura, y en cualquier parte en esta memoria, representan un aminoácido que es el mismo que el aminoácido correspondiente en la secuencia "natural". Se presentan los 13 restos de aminoácidos aleatorios (Q9, Q10, N11, F13, Y14, L17, H18, E24, E25, R27, N28, P32 y K35). Los restos de aminoácidos que se encuentran en la misma posición en más de una de las variantes se presentan en negrita. Las barras horizontales indican identidades de aminoácidos. Las figuras de la derecha representan el número de veces que se detectó cada polipéptido ligante tras la secuenciación del ADN de 372 colonias. Las tres hélices α en el dominio Z natural están en recuadros.

La figura 2B y la figura 2C da más características de las sustituciones de aminoácidos en los polipéptidos ligantes. En el contexto de hidrofobia/hidrofilia, "neutro" significa un aminoácido que no es relativamente hidrófobo ni hidrófilo.

La figura 2D ilustra una estrategia de maduración para mejorar los polipéptidos ligantes determinados inicialmente. En este sentido, los restos en las posiciones 9, 10, 11, 13, y 14 pueden ser menos importantes y estar sometidos a sustituciones, mientras que para las posiciones 17 y 18, se prefieren especialmente asparagina y arginina aunque serina e histidina, que pueden ser preferibles por razones técnicas, también pueden producirse y utilizarse para uniones como resultado de la similitud de codones. En la posición 35, se prefieren valina y serina aunque por razones técnicas, pueden seleccionarse especialmente también leucina y alanina. Para las posiciones 24, 25, 27, 28 y 32, se contemplan, respectivamente los aminoácidos G, W, M, T y A, aunque sustituciones únicas en cualquiera de estos sitios pueden ocurrir con capacidad de unión a EGFR conservada de las moléculas.

#### *Montajes de ADN*

Fragmentos de ADN que codifican diferentes polipéptidos ligantes de EGFR se subclonaron en los vectores de expresión pAY442 y pAY430. Los fragmentos se amplificaron a partir del vector pAffi1 con cebadores específicos introduciendo una zona Accl tanto en 3' como en 5', y se ligaron en los vectores pAY442 y pAY430, previamente restringidos con la misma enzima, y se desfosforilaron usando fosfatasa alcalina de intestino de ternera (CIAP; Fermentas). Los fragmentos de ADN amplificados se purificaron con QIAuick PCR Purification Kit (Qiagen GmbH,

Hilden, Alemania) y se hibridaron antes de la ligadura con T4 ADN ligasa (New England Biolabs). Las ligaduras dieron lugar a vectores de expresión denominados pAY442-Z<sub>EGFR:no</sub> y pAY430-Z<sub>EGFR:no</sub>, que codifican los diferentes polipéptidos ligantes fusionados a una etiqueta His<sub>6</sub> en el terminal N, lo que permite la purificación por cromatografía de afinidad por iones metálicos inmovilizados (IMAC). Todas las preparaciones de plásmidos, después del cultivo de células de *E. coli* transformadas durante la noche, se realizaron utilizando QIAprep Spin Miniprep Kit (Qiagen GmbH) según las instrucciones del fabricante.

#### Producción y purificación de proteínas

Los polipéptidos ligantes seleccionados se expresaron como proteínas de fusión etiquetadas con His<sub>6</sub> de los plásmidos pAY442 y pAY430 en la cepa BL21 (DE3) de *E. Coli*.

- 10 Las células se inocularon en 5 ml de medio TSB (30 g/l de caldo de soja tripsínico), que contenía 50 mg/l de canamicina, y se cultivaron en placa de pocillos profundos durante la noche a 37°C a ~ 150 rpm. TSB reciente (5 ml), enriquecido con 5 g/l de extracto de levadura y 50 mg de canamicina, se inoculó con 20 µl de los cultivos de toda la noche y las células se cultivaron a 37°C durante 4 horas, cuando se indujo la expresión génica mediante la adición de β-D-tiogalactósido de isopropilo (IPTG) a una concentración final de 1 mM. Después del cultivo durante la noche a 25°C, se recogieron las células por centrifugación (10.000 g, 10 min) y se lisaron por congelación y descongelación (-80°C, 40 min). Los sedimentos celulares se volvieron a poner en suspensión posteriormente en un tampón de urea (8 M, pH 8,0). Las proteínas de fusión con His<sub>6</sub>-Z<sub>EGFR</sub> se recuperaron por purificación IMAC en columnas Ni-NTA Superflow en condiciones de desnaturalización (Qiagen) usando el robot BR3000. Las proteínas unidas se eluyeron con tampón de urea a pH bajo (8 M, pH 4,5) y se llevó a cabo la renaturalización de las proteínas de fusión purificadas cambiando el tampón a HBS (HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3,4 mM, 0,005% de tensioactivo P20, pH 7,4) en columnas de cromatografía de exclusión por tamaño NAP<sup>TM</sup>-5 (Amersham Biosciences). La concentración de proteínas para los polipéptidos se calculó a partir de mediciones de absorbancia a 280 nm, utilizando el coeficiente de extinción apropiado para cada proteína. Los polipéptidos purificados se analizaron más por SDS-PAGE en geles PhastGel<sup>TM</sup> homogéneos al 20% utilizando un sistema Phast (Amersham Biosciences, Uppsala, Suecia). Las concentraciones de proteína para variantes Z<sub>EGFR</sub> seleccionadas también se determinaron por análisis de aminoácidos (Aminosyraanalyscentralen, Uppsala, Suecia).

La figura 3 muestra el análisis SDS-PAGE de los polipéptidos His<sub>6</sub>-Z<sub>EGFR:942</sub> que se unen a EGFR expresados y purificados por IMAC- (carril 1), His<sub>6</sub>-Z<sub>EGFR:948</sub> (carril 2), His<sub>6</sub>-Z<sub>EGFR:955</sub> (carril 3), His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR:942</sub>)<sub>2</sub> (carril 4), His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR:948</sub>)<sub>2</sub> (carril 5) e His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR:955</sub>)<sub>2</sub> (carril 6). Carril M, proteínas marcadoras con masas moleculares en kilodaltons.

#### Análisis de biodetectores

- Se utilizó un instrumento BIAcore® 2000 (Biacore AB, Uppsala, Suecia) para la interacción bioespecífica en tiempo real (BIA) entre polipéptidos ligantes seleccionados y la proteína diana. EGFR-ECD (diluido en NaAc 10 mM, pH 4,5) se inmovilizó (~2600 RU) sobre la capa de dextrano carboxilado de una superficie de la cubeta de flujo de un chip detector CM5 (Biacore) mediante acoplamiento de aminas, según las instrucciones del fabricante. Otra superficie de la cubeta de flujo se activó y desactivó para ser utilizado como superficie de referencia, y HER2-ECD e IgG humana (Amersham Biosciences, Uppsala, Suecia) se inmovilizaron en las superficies de cubetas de flujo separadas en el chip detector CM5, para servir como referencias negativas. Las muestras de todos los polipéptidos ligantes a prueba se diluyeron en el tampón HBS corriente (HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3,4 mM, tensioactivo P20 al 0,005%, pH 7,4) y se filtraron (0,45 µm; Millipore, Billerica, MA) antes del análisis de unión se realizaron a 25°C. En un primer experimento, ~1 mM de cada polipéptido ligante a prueba (diluido en HBS) se inyectó sobre todas las superficies con un caudal de 20 µl/min. Un polipéptido ligante de 53 aminoácidos no relacionado, que no tiene afinidad por EGFR, se utilizó como referencia negativa, y se inyectaron también el ligando natural hEGF (Chemicon International, Temecula, Calif., EE.UU.) y el anticuerpo monoclonal comercial cetuximab (MERCK Darmstadt, Alemania) como referencias positivas. En un segundo experimento, los polipéptidos ligantes His<sub>6</sub>-Z<sub>EGFR</sub> monomérico e His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR</sub>)<sub>2</sub> dimérico se sometieron a análisis cinético, en el que se inyectaron las proteínas sobre una superficie EGFR-ECD a concentraciones que van desde 0,00625 µM a 12,8 µM con un caudal de 30 µl/min. La constante de equilibrio de disociación (K<sub>D</sub>), la constante de velocidad de asociación (k<sub>a</sub>) y la constante de velocidad de disociación (k<sub>d</sub>) se calcularon utilizando programa informático BIAevaluation 3.2 (Biacore), suponiendo una unión uno a uno. Para el segundo experimento, las muestras se pasaron por duplicado en orden aleatorio, y después de cada inyección las cubetas de flujo se regeneraron mediante la inyección de HCl 10 mM. Los resultados de los análisis de clasificación de biodetectores se representan en la Tabla 1 y la figura 4. La Tabla 1 proporciona una comparación de parámetros cinéticos de los polipéptidos ligantes que se unen a EGFR-ECD monovalentes y bivalentes a partir de análisis de biodetectores en BIAcore. Los montajes de polipéptidos diméricos que se une al EGFR se generaron mediante una estrategia de la duplicación de genes, producidos y purificados por afinidad como se describió anteriormente en Steffen *et al. Cancer Biother. & Radiofarmaceuticals*, 20, 239-248. Un polipéptido adicional, Z<sub>EGFR:1239</sub> (identificado como una secuencia en relación con Z<sub>EGFR:955</sub>), se incluyó después de la secuenciación de otros clones, y se describen los datos sobre su rendimiento como monómero. La constante de equilibrio de disociación proporciona la siguiente clasificación de afinidad de los cuatro ligantes de polipéptidos His<sub>6</sub>-Z<sub>EGFR</sub>: His<sub>6</sub>-Z<sub>EGFR:1239</sub> < His<sub>6</sub>-Z<sub>EGFR:955</sub> < His<sub>6</sub>-Z<sub>EGFR:948</sub> < His<sub>6</sub>-Z<sub>EGFR:942</sub>.

Tabla 1

Polipéptido que se une al EGFR	$K_D^a$ (nM)	$k_a^b$ ( $M^{-1} s^{-1}$ )	$k_d^c$ ( $s^{-1}$ )
His <sub>6</sub> -Z <sub>EGFR:942</sub>	~ 130	~ $3,0 \times 10^5$	~ $4,0 \times 10^{-2}$
His <sub>6</sub> -(Z <sub>EGFR:942</sub> ) <sub>2</sub>	~ 30	~ $6,0 \times 10^5$	~ $1,6 \times 10^{-2}$
His <sub>6</sub> -Z <sub>EGFR:948</sub>	~ 180	~ $4,2 \times 10^5$	~ $7,7 \times 10^{-2}$
His <sub>6</sub> -(Z <sub>EGFR:948</sub> ) <sub>2</sub>	~ 40	~ $1,9 \times 10^5$	~ $8,1 \times 10^{-3}$
His <sub>6</sub> -Z <sub>EGFR:955</sub>	~ 190	~ $6,2 \times 10^4$	~ $1,2 \times 10^{-2}$
His <sub>6</sub> -(Z <sub>EGFR:955</sub> ) <sub>2</sub>	~ 50	~ $4,8 \times 10^4$	~ $2,4 \times 10^{-3}$
His <sub>6</sub> -Z <sub>EGFR:1239</sub>	~ 490	~ $1,9 \times 10^5$	~ $9,2 \times 10^{-2}$

<sup>a</sup> Constante de equilibrio de disociación

<sup>b</sup> Constante de velocidad de asociación

5 <sup>c</sup> Constante de velocidad de disociación

Puede verse que a partir de este análisis de unión *in vitro*, los cuatro polipéptidos que se unen a EGFR se unieron a EGFR con más bien alta afinidad y que diferían algo en sus características cinéticas de unión.

10 La figura 4A muestra los resultados de sensogramas obtenidos después de la inyección de los variantes His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR:942</sub>)<sub>2</sub> (cuadrados), His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR:948</sub>)<sub>2</sub> (triángulos) e His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR:955</sub>)<sub>2</sub> (círculos) purificadas sobre superficies de cubetas de flujo con chip detector que contienen EGFR-ECD acoplado a amina (cuadrados/triángulos/círculos rellenos) o HER2-ECD (triángulos/cuadrados/círculos blancos). Esto demuestra una unión específica de las tres variantes His<sub>6</sub>-Z<sub>EGFR</sub> (His<sub>6</sub>-Z<sub>EGFR:942</sub>, His<sub>6</sub>-Z<sub>EGFR:948</sub> e His<sub>6</sub>-Z<sub>EGFR:955</sub>) a las superficies de cubetas de flujo inmovilizadas por EGFR-ECD, mientras que no se observa ninguna unión a la superficie de la cubeta de flujo inmovilizada por HER2-ECD.

15 La figura 4B muestra los resultados de sensogramas obtenidos después de la inyección de polipéptidos que se unen a EGFR monovalentes (línea más clara) y la bivalentes (línea más oscura) sobre una superficie de cubetas de flujo de EGFR-ECD. El diagrama muestra los tres ligandos candidatos, donde se demuestra la diferencia en la velocidad de disociación entre los polipéptidos que se unen a EGFR monovalentes y bivalentes, lo que demuestra que la mejora de afinidad aparente por efecto de la avidéz se consiguió al obtener principalmente una velocidad de disociación más lenta en los clones de segunda generación.

#### Cultivo celular

25 Para los estudios de marcaje con fluoróforo FACS y microscopia confocal a continuación, células cancerosas A431 epiteliales humanas (European Collection of Cell Cultures, Wiltshire, Reino Unido), conocidas por expresar  $\sim 2 \times 10^6$  EGFR por célula, se cultivaron en medio enriquecido, que contenía medio EMEM enriquecido con 10% de suero de ternera fetal, L-glutamina 2 mM, 1% de aminoácidos no esenciales y 1% de antibiótico-antimicótico, todos de Gibco (Invitrogen AB). Las células se cultivaron a 37°C en aire humidificado que contenía 5% de CO<sub>2</sub>.

#### Marcaje con fluoróforo

30 Los polipéptidos ligantes His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR:942</sub>)<sub>2</sub>, His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR:948</sub>)<sub>2</sub> e His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR:955</sub>)<sub>2</sub> se marcaron directamente con la cisteína introducida (en el terminal C) con Oregon Green® 488 maleimide (Molecular Probes). Aproximadamente 1 mg de polipéptido ligante His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR</sub>)<sub>2</sub> se volvió a poner en suspensión en PBS y se redujo con DTT 20 mM durante 45 min a 37°C. El excedente de DTT se separó en una columna de exclusión por tamaño NAP™-5 (Amersham Biosciences) equilibrada con PBS. Se añadió una solución 10 mM de Oregon Green 488 maleimida en exceso molar de 20 veces y se mantuvo en la oscuridad durante 2 horas a temperatura ambiente con agitación continua. Se realizó diálisis exhaustiva contra PBS para eliminar el exceso de fluoróforo. La concentración y el rendimiento del marcaje de los polipéptidos ligantes marcados con fluoróforo a prueba se realizaron por medio de cálculos según el protocolo del fabricante utilizando mediciones de absorbancia a 280 y 496 nm. Los polipéptidos ligantes marcados se analizaron también en un gel al 20% SDS-PAGE PhastGel™ homogéneo usando un sistema Phast (Amersham Biosciences).

### FACS

- Los análisis de citometría de flujo se realizaron en un instrumento de citometría de flujo de corriente de aire FACS Vantage SE (BD Biosciences, San José, CA, EE.UU.). El láser se alineó usando perlas de alineación de citometría de flujo para 488 nm (Molecular Probes, Leiden, Países Bajos). Las muestras se iluminaron con un láser de argón refrigerado por aire (488 nm). La fluorescencia, la luz delantera dispersada y lateral dispersada procedente de 10.000 células se detectaron a una velocidad de aproximadamente 300 casos  $s^{-1}$ . Los datos de citometría de flujo se analizaron con el programa informático CellQuest (BD Biosciences). Antes de los análisis citométricos de flujo, las células sembradas en placas de Petri ~3 días antes de experimento se tripsinaron (tripsina al 0,25%, 37°C, 10 min). Se centrifugaron las células (582 g, 3 min) y el sedimento se volvió a poner en suspensión en PBS + 1% de BSA, y se tomaron alícuotas a ~300.000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos. Las células se incubaron con 10  $\mu g/ml$  de polipéptido ligante marcado con fluoróforo His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR</sub>)<sub>2</sub> durante ~ 30 min en hielo. Después de centrifugación y lavado con PBS + 1% de BSA el sedimento celular se volvió a poner en suspensión en 300  $\mu l$  de PBS + 1% de BSA y se sometió a análisis de citometría de flujo. Un polipéptido similar (montaje dimérico etiquetado con His<sub>6</sub>) que no tiene capacidad de unión para EGFR se utilizó como referencia negativa.
- 15 Los resultados de estos estudios se muestran en la figura 5. Específicamente, la figura 5 muestra un análisis de citometría de flujo que demuestra una clasificación de afinidad por los tres ligantes candidatos His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR:942</sub>)<sub>2</sub>, His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR:948</sub>)<sub>2</sub> e His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR:955</sub>)<sub>2</sub> hacia EGFR natural en células A431. Una molécula variante Z no relacionada, utilizada como referencia negativa (blanco), se coloca en el extremo izquierdo en el histograma. Los tres ligantes Z<sub>EGFR</sub> se colocan entonces en el orden His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR:942</sub>)<sub>2</sub> (gris claro) < His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR:948</sub>)<sub>2</sub> (gris) < His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR:955</sub>)<sub>2</sub> (negro). Estos datos sugieren que Z<sub>EGFR:955</sub> puede ser el mejor candidato de los tres, a pesar de su afinidad algo más deficiente en BIAcore, ya que el ensayo se basa en la unión de EGFR natural en células.

### Microscopio confocal

- Se sembraron aproximadamente 300.000 células A431 por placa de Petri de 30 mm el día antes del experimento. Los polipéptidos ligantes His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR:942</sub>)<sub>2</sub>, His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR:948</sub>)<sub>2</sub> e His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR:955</sub>)<sub>2</sub> a prueba se diluyeron hasta aproximadamente 10  $\mu g/ml$  en medio EMEM completo, añadido para separar de las placas de Petri y se incubaron en la oscuridad durante 2 horas a 37°C. Los tres polipéptidos ligantes a prueba se diluyeron también como anteriormente en medio EMEM exento de suero, añadido para separar de las placas de Petri y se incubaron en la oscuridad 1 hora en hielo. Después de la incubación las células se lavaron una vez con medio normal y se añadió algo de medio para el análisis por imágenes en un microscopio confocal (LSM 5 Pascal; Zeiss). Se realizaron exploraciones consecutivas para cubrir el espesor de la célula y se eligió un análisis que representa el centro de la célula. Como referencia negativa, se analizó de la misma manera un polipéptido similar que no tiene afinidad por EGFR.

- Los resultados de la microscopia confocal se muestran en la figura 6. Específicamente, la figura 6 muestra imágenes de microscopia confocal de células A431 expuestas al polipéptido His<sub>6</sub>-Z<sub>EGFR</sub> marcado con Oregon Green para A) 1 hora en hielo y B) 2 horas en 37°C. De izquierda a derecha, His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR:942</sub>)<sub>2</sub>, His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR:948</sub>)<sub>2</sub> e His<sub>6</sub>-(Z<sub>EGFR:955</sub>)<sub>2</sub> se ven membranas celulares unidas en (A) e internalizadas en (B). Los resultados demuestran que los tres polipéptidos que se unen a EGFR parecen, como era de esperar, unirse a la membrana celular, y esta internalización parece ocurrir en la incubación a 37°C.

### Cultivo celular

- Para los estudios de radiomarcaje, especificidad y saturación a continuación, se cultivaron células en frascos de cultivo de 75  $cm^2$  y en placas de 24 pocillos (Nunclon surface, Dinamarca). Para el procedimiento de marcate, se utilizaron <sup>125</sup>I (Amersham Biosciences, Uppsala, Suecia), ácido acético (Merck Darmstadt, Alemania), cloramina-T (Sigma, EE.UU.), metabisulfito de sodio (Aldrich, EE.UU.) y N-succinimidil-4-[tri-metilestannil] benzoato. Se aplicó la columna NAP-5 (Sephadex G-25, Amersham Biosciences, Uppsala, Suecia) para la filtración en gel. Las células se desprendieron con tripsina-EDTA (0,25/0,02%) (Biochrom Kg) y se contaron en un contador de células (Beckman Coulter Z2, Fullerton, Calif., EE.UU.). Se midió la radiactividad con un contador gamma (1480 Wizard, Wallac Oy, Turku, Finlandia). Se utilizó la estirpe celular A431 de carcinoma epidermoide rica en EGFR (ATCC, CLR 1555, Rockville, Md., EE.UU.). Las células se cultivaron en medio F-10 de Ham enriquecido con L-glutamina (Biochrom Kg 2 mM, Berlin, Alemania), PEST (100 UI/ml de penicilina y 100 mg/ml de estreptomycin) y suero de ternera fetal al 10% (Biochrom Kg) ("medio completo"). Las células se cultivaron a 37°C en una incubadora con aire humidificado equilibrado con 5% de CO<sub>2</sub>.

### Radiomarcaje

- Los dímeros de los polipéptidos ligantes Z<sub>EGFR: 942</sub>, Z<sub>EGFR: 948</sub> y Z<sub>EGFR: 955</sub> se marcaron indirectamente con <sup>125</sup>I mediante grupos N-succinimidilo. Se añadió ácido acético (2  $\mu l$ , ácido acético al 0,1% en milli-Q) y N-succinimidil-4-[tri-metilestannil] benzoato (5  $\mu l$ , ácido acético al 5% en metanol) al <sup>125</sup>I (15 MBq). El yodo se acopló al N-succinimidil-4-[tri-metilestannil] benzoato añadiendo 10  $\mu l$  de cloramina-T. La solución se volvió a poner en suspensión a continuación durante 30 segundos y se incubó más a temperatura ambiente durante 5 minutos. Para detener la reacción, se añadieron 15  $\mu l$  de metabisulfito de sodio. Los polipéptidos ligantes se diluyeron en tampón

de borato y se añadieron a la solución de yodo y se añadió más tampón de borato hasta un volumen total de 150  $\mu$ l, después de lo cual la solución se incubó durante 30 minutos. Para separar los polipéptidos ligantes marcados de los compuestos de bajo peso molecular, se utilizó una columna NAP-5 equilibrada con PBS.

#### Prueba de especificidad

- 5 Se cultivaron células A431 en placas de 24 pocillos y se lavaron una vez con medio F-10 de Ham exento de suero. Los tres polipéptidos ligantes diméricos que se están probando se marcaron con  $^{125}$ I y se añadieron a las células con un exceso molar de aproximadamente 10:1 en relación con el número de receptores disponibles y se incubaron a 37°C durante 4 horas. En algunos pocillos se añadieron polipéptidos ligantes no marcados (exceso molar de aproximadamente 500:1) junto con ligantes de [ $^{125}$ I]polipéptido para determinar la unión inespecífica. Se utilizaron de la misma manera EGF (exceso molar de aproximadamente 200:1) y cetuximab (exceso molar de 500:1), pero para investigar si los polipéptidos ligantes tienen el mismo punto de unión que EGF y cetuximab. Las células se lavaron 6 veces a continuación con medio F-10 de Ham exento de suero y se desprendieron añadiendo 0,5 ml de tripsina-EDTA y se incubaron a 37°C durante 30 min o hasta que se desprendieron las células. Se añadió 1 ml de medio completo F-10 de Ham y se volvieron a poner en suspensión las células. En algunos pocillos se utilizó una suspensión de 0,5 ml para contar las células. Se midió la radiactividad (1,5 ml y 1 ml, respectivamente, de las células que se contaron) con un contador gamma.

- Los resultados se presentan en la figura 7. En concreto, en la figura 7, se muestra la unión de celular de [ $^{125}$ I] (Z00942)<sub>2</sub> (42\*), [ $^{125}$ I] (Z00948)<sub>2</sub> (48\*) y [ $^{125}$ I] (Z00955)<sub>2</sub> (\*55). Los datos apoyan los resultados inesperados de la clasificación FACS previa de los ligantes lo que indican que Z<sub>EGFR:955</sub> parece ser el mejor ligante de EGFR natural en las células, seguido de Z<sub>EGFR:948</sub> y Z<sub>EGFR:942</sub> a pesar del hecho de que (Z<sub>EGFR:942</sub>)<sub>2</sub> presentó la mayor afinidad en el análisis BIAcore. Además, los tres montajes de polipéptidos que se unen a EGFR parecen unirse a epítomos superpuestos. Por otra parte, parece que todos compiten por el mismo sitio de unión que el ligando natural EGF y el anticuerpo monoclonal cetuximab.

#### Ensayo de saturación

- 25 Para determinar la constante de afinidad, se determinó la saturación del enlace del polipéptido ligante. La estirpe celular A431 rica en EGFR se cultivó en placas de 24 pocillos. Las células se mantuvieron en hielo y se lavaron una vez en medio F-10 de Ham frío exento de suero. Se preparó una serie de dilución de los polipéptidos diméricos ligantes marcados con  $^{125}$ I y se añadió a las células con un exceso molar de aproximadamente 10:1. Se incubaron las células durante 4 horas, durante el movimiento lento, en hielo en un ambiente donde el aire procedente de una incubadora estaba atrapado dentro de una bolsa de plástico junto con la placa celular. Para cada concentración había también un control bloqueado que contenía polipéptidos ligantes no marcados con un exceso molar de aproximadamente 300:1 para estimación de uniones inespecíficas. Las células se lavaron 6 veces a continuación en medio F10 de Ham frío exento de suero y se desprendieron las células añadiendo 0,5 ml de tripsina-EDTA y se incubaron a 37°C durante 30 min o hasta que se desprendieron las células. Se añadió 1 ml de medio F-10 completo de Ham y se volvieron a poner en suspensión las células. En algunos pocillos se utilizó 0,5 ml de suspensión para contar las células. La radiactividad se midió con un contador gamma. Los datos se analizaron mediante GraphPad Prism 4.

- Los resultados se muestran en la figura 8. En concreto, en la figura 8 se muestran los resultados de los estudios de saturación de [ $^{125}$ I] Z00942 (A), [ $^{125}$ I] Z00948 (B) y [ $^{125}$ I] Z00955 (C). Se muestran los valores medios y las desviaciones típicas de tres valores.

#### Ejemplo 2

##### Segunda selección de polipéptidos que se unen al EGFR

##### Materiales y métodos

##### Cepas y vectores

- 45 La cepa RRIΔM15 de *Escherichia coli* supresora ámbar (Rüther, U. (1982) *Nucleic Acids Res.* 10, 5765-72) se utilizó para la construcción de bibliotecas, como anfitrión bacteriano para la producción de fagos y para el procedimiento de clonación. El vector pAffi1 fagómico se utilizó para la construcción de bibliotecas y se describe en otro lugar (Grönwall C., Jonsson A., Lindström S., Gunneriusson E., Stahl S., Herne N.: "Selection and characterization of Affibody ligands binding to Alzheimer amyloid beta peptides", *J. Biotechnol.* (2006) en prensa, Epub 27 Sep. 2006). Se subclonaron inserciones de fagómicos de los clones seleccionados en los vectores de expresión pAY442, que contenían un activador T7 (Studier *et al.*, (1990) *Methods Enzymol.* 185, 60-89), un fragmento de ADN que codifica una etiqueta (His<sub>6</sub>) de hexahistidil y un sitio de clonación múltiple, junto con un gen que confiere resistencia a la canamicina. La cepa BL21 (DE3) de *E. coli* (Novagen, Madison, Wis.) se utilizó para la producción de proteínas a partir de los vectores de expresión.

### Construcción de una biblioteca secundaria de fagómidos

Una estrategia para la maduración de la afinidad se decidió en base a la alineación de cuatro secuencias de la primera selección de moléculas que se unen a EGFR (Ejemplo 1, figura 2). La biblioteca secundaria fue creada por amplificación por PCR a partir de un único oligonucleótido de la plantilla de 129 nucleótidos con determinados codones degenerados (5' ctc gag gta gac aac aaa ttc aac aaa gaa nnk nnk gcg nnk gag atc mry mry tta cct aac tta aac ggt tgg caa atg acc gcc ttc atc gcg agt tta kyt gat gac cca agc caa agc 3'), que codifican las hélices 1 y 2 de la proteína Z. El fragmento del gen se amplificó usando el cebador directo 5'-ccccccccctcgaggttagacaacaaattcaa-3' (zona de XhoI subrayada) y el cebador inverso 5'-ccccctgctagcaagtttagcgctttggcttgggtcatc-3' (zona de NheI subrayada), con 1 pmol de oligonucleótido de la plantilla para cada una de 95 reacciones paralelas. La amplificación se realizó utilizando AmpliTaq Gold polimerasa (Applied Biosystems, Foster City, CA) durante 15 ciclos (15 segundos a 96°C, 15 segundos a 60°C y 1 minuto a 72°C), se agruparon, se purificaron utilizando QIAquick PCR Purification kit (Qiagen, Hilden, Alemania), XhoI/NheI digerido y ligado al vector pAffi1 fagómido digerido con XhoI/NheI que codifica la tercera hélice  $\alpha$  no abigarrada de la proteína Z. El vector ligado de la biblioteca se extrajo con fenol:cloroformo:alcohol isoamílico (25:24:21 v/v) (Invitrogen). Se transformaron células RRIAM15 electrocompetentes de *Escherichia coli* con 30 alícuotas de de material ligado utilizando cubetas de 0,2 cm de tamaño de abertura en una serie de ECM 630 (BTX, Genetronics) a 2.500 V, 125  $\Omega$  y 50  $\mu$ F. Las células se cultivaron en medio SOC (caldo de soja tripsínica (TSB) + extracto de levadura (YE) enriquecida con 1% de glucosa, 10 mmol/l de MgCl<sub>2</sub>, 10 mmol/l de MgSO<sub>4</sub>, 10 mmol/l de NaCl y 2,5 mmol/l de KCl) durante ~ 1 h a 37°C y se transfirió a seis matraces Erlenmeyer, que contenía cada uno 1 l de TSB enriquecido con 2% de glucosa y 25  $\mu$ g/ml de carbenicilina y se cultivó durante la noche a 37°C. Las células se centrifugaron a 6000 g (15 min, 4°C), después de volver a poner en suspensión en solución de PBS/glicerol a una concentración final aproximada de 20% de glicerol, se dividió en alícuotas y se almacenaron a -80°C.

### Procedimientos de selección de fagos

Se utilizó como proteína diana un dominio extracelular biotecnológico de EGFR de ~ 100 kDa (denominado EGFR-ECD) durante las selecciones (1095-ER; R & D Systems). El EGFR-ECD se biotiniló *in vitro* utilizando EZ-Link™-Sulfo-NHS-LC-LC-Biotina (Pierce, Rockford, Ill., EE.UU.). Se añadió un exceso molar de 20 veces de biotina a EGFR-ECD en solución salina tamponada con fosfato (PBS; fosfato 10 mM, NaCl 137 mM, pH 7,2), y la mezcla se incubó a temperatura ambiente (T.A.) durante 1 h seguido de diálisis exhaustiva contra PBS durante la noche (ON) a 4°C para eliminar el exceso de biotina.

Se realizó la preparación de las estirpes de fagos de la biblioteca y entre selecciones conforme a los procedimientos previamente descritos (Nord, K *et al.*, (1997) *Nat. Biotechnol.*, 15, 772-777; Hansson *et al.*, (1999) *Immunotechnology*, 4, 237-252), utilizando el fago cooperador M13K07 (New England Biolabs, Beverly, MA., EE.UU.). La precipitación con PEG/NaCl produjo valores de fagos de aproximadamente 10<sup>13</sup> unidades formadoras de fagos (pfu) por ml. La selección se llevó a cabo en solución y los fagos unidos se capturaron en perlas paramagnéticas recubiertas con estreptavidina (Dynabeads M-280 Streptavidin; Dynal, Oslo, Noruega). Para evitar ligantes inespecíficos se trataron previamente todos los tubos con PBST (Tween-20 al 0,1% en PBS) enriquecido con 5% de albúmina de suero bovino (PBST-5% de BSA). Para evitar nuevos ligantes contra la estreptavidina presente en las perlas paramagnéticas recubiertas con estreptavidina se preincubó ~ 1 ml de la estirpe del fago en PBST-3% de BSA (30 min, rotación en tambor vertical) con 0,2 mg de las perlas de las dos primeras rondas de selección.

Se realizaron cuatro rondas de biopanning partiendo de las concentraciones objetivo de 100 nM de la manera siguiente. En la 1ª ronda, una alícuota de la biblioteca que contenía aproximadamente 10<sup>12</sup> pfu se incubó en 1 ml de 100 nM de EGFR-ECD biotinilada en PBST-3% de BSA durante 1 h a T.A. con rotación continua, seguido de ~72 horas a 4°C. Para la 2ª ronda, se incubó 50 nM y para la 3ª ronda, 1 nM EGFR-ECD de biotinilada en 1 ml de PBST-3% de BSA, respectivamente (1 h, T.A., la rotación continua en tambor vertical) con una parte de la estirpe del fago de la ronda anterior. Los fagos unidos se capturaron por incubación con Dynabeads M-280 recubiertas de estreptavidina durante 15 min (T.A., rotación continua en tambor vertical). Se añadió la cantidad de perlas que permite una inmovilización de ~ 2  $\mu$ g de la proteína diana por mg de perlas, determinada previamente por análisis de SDS-PAGE (datos no mostrados). Para la 4ª ronda, se realizaron seis protocolos de selección ligeramente diferentes, como se detalla a continuación en la Tabla 2. En los protocolos 4-A y 4-B, 0,01 nM y 0,1 nM de EGFR-ECD biotinilado, respectivamente, se incubó durante 2 h a T.A. con una parte de la estirpe del fago de la ronda anterior, seguido de incubación con un exceso de 100 veces de EGFR-ECD durante 1 h a T.A., captura de los fagos unidos por incubación con perlas recubiertas con estreptavidina durante 15 min, lavado 18 veces, incubación con un exceso de 100 veces de ligantes de EGFR de la primera generación Z00942, Z00948 y Z00955 (Ejemplo 1) durante 1 hora a T.A., y por último se lavó dos veces. En el protocolo 4-C, EGFR-ECD biotinilado 0,5 nM se incubó durante 2 h a T.A. con una parte de la estirpe del fago de la ronda anterior, seguido de la captura de los fagos unidos por incubación con perlas recubiertas con estreptavidina durante 15 min, lavado 18 veces, incubación con un exceso de 100 veces de ligantes de EGFR de primera generación durante 1 h a T.A., y por último se lavaron dos veces. En los protocolos 4-D y 4-E, EGFR-ECD biotinilado 0,1 y 0,5 nM, respectivamente, se incubó durante 2 h a 37°C con una parte de la estirpe del fago de ronda anterior, seguido de incubación con un exceso de 100 veces de EGFR-ECD durante 1 h a 37°C., captura de fagos unidos por incubación con perlas recubiertas con estreptavidina durante 15 min, lavado 18 veces, incubación con un exceso de 100 veces de ligantes de EGFR de primera generación

durante 1 hora a 37°C, y por último se lavaron dos veces. En el protocolo 4-F, se incubó EGFR-ECD biotinilado 0,1 nM durante 2 h a T.A. con una parte de la estirpe del fago de ronda anterior, seguido de la captura de los fagos unidos por incubación con perlas recubiertas con estreptavidina durante 15 min y 20 lavados. El número de etapas de lavado se mantuvo constante a 20 lavados durante el procedimiento de selección y se realizó en PBST-BSA al 3% en todas las etapas de lavado, excepto en el último lavado, donde se usó PBST. Los fagos se eluyeron con 500 µl de glicina 50 mM en HCl (pH 2,1) durante 10 min, seguido de neutralización inmediata por adición de 50 µl de Tris-HCl 1 M, pH 8,0 y 450 µl de PBS. Los fagos eluidos se utilizaron para infectar células RRIΔM15 en fase logarítmica durante 30 min a 37°C. Las suspensiones de células infectadas se extendieron sobre placas TYE de agar-agar (15 g/l de agar-agar, 3 g/l de NaCl, 10 g/l de triptona y 5 g/l de extracto de levadura), enriquecidas con glucosa al 2% y 100 mg/l de ampicilina, y se incubaron durante la noche a 37°C. Las colonias cultivadas se recogieron por resuspensión en caldo de soja tripsínica (TSB, 30 g/l; Merck, Darmstadt, Alemania), enriquecido con 5 g/l de extracto de levadura, glucosa al 2% y 100 mg/l de ampicilina, y se utilizó una fracción (~ 500 veces de células en exceso en comparación con el valor de fagos después de la elución) para inoculación, lo que lleva a la generación siguiente de la estirpe del fago. Se rescataron partículas de fagómido de las células infectadas usando el fago M13K07 cooperador, se purificaron y concentraron con precipitación con PEG. El proceso de selección se supervisó por valoración de las estirpes de fagos antes de cada selección y después de la elución. Se dejó que una dilución en serie de fagos infectara células RRIΔM15 en fase logarítmica durante 5 min a T.A., seguida de siembra en placas TYE de agar-agar, enriquecidas con glucosa al 2% y 100 mg/l de ampicilina, y ON a 37°C.

Tabla 2

20 Protocolos para la ronda 4 de selección

	4-A	4-B	4-C	4-D	4-E	4-F
Incubación con bio-EGFR	2 h, T.A.	2 h, T.A.	2 h, T.A.	2 h, 37°C	2 h, 37°C	2 h, T.A.
Incubación con EGFR (exceso de 100 veces)	1 h, T.A.	1 h, T.A.	-	1 h, 37°C	1 h, 37°C	-
Captura de fagos unidos en perlas recubiertas de estreptavidina	15 min	15 min	15 min	15 min	15 min	15 min
Lavar	1-18	1-18	1-18	1-18	1-18	1-20
Incubación con ligantes de primera generación (exceso de 100 veces)	1 h, T.A.	1 h, T.A.	1 h, T.A.	1 h, 37°C	1 h, 37°C	-
Lavar	19-20	19-20	19-20	19-20	19-20	-

*Clasificación basada en ELISA de ligantes de segunda generación*

Se inocularon colonias aisladas en 1 ml de medio TSB-YE enriquecido con 100 µmol/l de isopropil-L-tio-β-D-galactopiranosido (IPTG) y 100 µg/ml de ampicilina en placas de pocillos profundos (Nunc, Roskilde, Dinamarca), y se cultivaron durante la noche a 37°C. Las células se sedimentaron por centrifugación a 3.000 g durante 10 minutos. Los sedimentos se volvieron a poner en suspensión en 300 µl de PBST y se congelaron durante la noche a -80°C. Las muestras se descongelaron y centrifugaron a 3.500 g durante 20 minutos. Los sobrenadantes (100 µl), que contienen moléculas de variantes Z etiquetadas con ABD se cargaron en pocillos de microvaloración, que se habían recubierto previamente con 6 µg/ml de HSA (A-3782, Sigma) en 15 mmol/l de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y 35 mmol/l de NaHCO<sub>3</sub> (pH 9,6) ON a 4°C y se bloquearon con 2% de leche desnatada en polvo en PBST durante 1 hora a T.A. (agitación continua). Las placas se lavaron cuatro veces con PBST antes de la adición de 50 µl de 8,4 mg/ml de EGFR-ECD biotinilado por pocillo y se incubaron durante 1,5 h. Después de lavar los pocillos cuatro veces con PBST, se añadieron 50 µl por pocillo de estreptavidina-peroxidasa de rábano picante (1:5.000, DAKO Cytomation, Dinamarca) y se incubó durante 1 h. Los pocillos se lavaron cuatro veces y se añadieron 50 µl a cada pocillo de solución de revelado ImmunoPure TMB substrate kit (Pierce). Después de 30 min se añadieron a cada pocillo, 100 µl de solución de interrupción (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 M). Se midió la absorbancia a 450 nm con un espectrofotómetro Tecan Sunrise.

*Secuenciación del ADN y agrupamiento de secuencias*

La secuenciación del ADN de inserciones de fagómidos (pAffi1) se llevó a cabo en 187 clones que se unen a EGFR de la cuarta ronda de panning. Se utilizaron cebadores específicos y terminador Big Dye (Amersham Biosciences,



Uppsala, Suecia) y se analizaron los fragmentos de Sanger en un secuenciador de ADN ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA., EE.UU.). Los fragmentos de ADN subclonados se verificaron por el mismo procedimiento. Las secuencias de los polipéptidos que se unen a EGFR se agruparon utilizando el método denominado de agrupación jerárquica de promedio de afinidad descrito con más detalle por Orlova *et al.* (*Cancer Res.* 66, 4339-48 (2006)).

Las secuencias de aminoácidos deducidas de polipéptidos candidatos que presentan enlace a EGFR en la detección por ELISA descrita en el apartado anterior son ejemplos de polipéptidos que se unen a EGFR. Se presentan en la figura 1 y en la lista de secuencias como SEQ ID n° 174-n° 309. Las secuencias del correspondiente motivo que se une al EGFR de cada uno de dichos polipéptidos de unión se presentan en la figura 1 y en la lista de secuencias como SEQ ID n° 11-n°146.

#### *Detección sistemática de polipéptidos que se unen a EGFR con Biacore*

Los sobrenadantes celulares que contienen variantes Z etiquetadas con ABD producidas a partir del vector pAffi de fago preparado para ELISA se sometieron también a un análisis por biodetector. Los sobrenadantes de 54 clones que demuestran buena unión en ELISA se analizaron con interacción bioespecífica en tiempo real en un instrumento Biacore® 2000. La proteína diana EGFR-ECD (diluida en NaAc 10 mM, pH 4,5) se inmovilizó (~1.200 RU) sobre la capa de dextrano carboxilado de una superficie de la cubeta de flujo de un chip detector CM5 (Biacore) mediante acoplamiento de aminas, según las instrucciones del fabricante. Se activó y se desactivó otra superficie de una cubeta de flujo para ser utilizada como superficie de referencia y HSA se inmovilizó sobre una superficie de una cubeta de flujo aparte en el chip detector CM5, para servir como referencia de la cantidad de variante Z etiquetada con ABD que se expresó. También se utilizó como referencia un ligante de EGFR de primera generación, (Z00955)<sub>2</sub> del ejemplo 1.

#### *Montajes de ADN*

Fragmentos de ADN que codifican diferentes variantes de variantes Z ( $Z_{EGFR}$ ) que se unen a EGFR de segunda generación se subclonaron en los vectores de expresión pAY442. Los fragmentos se amplificaron en el vector pAffi1 con cebadores específicos que introducen un saliente Accl tanto 3' como 5', y se ligaron en el vector pAY442, previamente restringido con la misma enzima y se desfosforiló utilizando fosfatasa alcalina de intestino de ternera (CIAP; Fermentas, Ontario, Canadá). Los fragmentos de ADN amplificados se purificaron con QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Alemania) y se hibridaron antes de la ligadura con T4 ADN ligasa (New England Biolabs, Ipswich, MA., EE.UU.). Las ligaduras dieron lugar a vectores de expresión que codifican, bajo el control del activador de T7, las diferentes variantes Z fusionadas a una etiqueta His<sub>6</sub> en el terminal N, lo que permite la purificación por cromatografía de afinidad en iones metálicos inmovilizados (IMAC). Se construyeron montajes de dímeros de las variantes Z que se une al EGFR de ambos vectores, donde un segundo fragmento génico de la variante Z se introdujo cabeza con cola, dando lugar a variantes de His<sub>6</sub>-( $Z_{EGFR}$ )<sub>2</sub>. Todas las preparaciones de plásmidos se llevaron a cabo, después del cultivo de células de *E. coli* transformadas durante la noche, realizado utilizando QIAprep Spin Miniprep Kit (Qiagen GmbH) según las instrucciones del fabricante.

#### *Expresión y purificación de proteínas*

variantes Z seleccionadas que se unen a EGFR se expresaron como proteínas de fusión etiquetadas con His<sub>6</sub> en el plásmido pAY442 en la cepa BL21 (DE3) de *E. Coli*. Las células se inocularon en 25 ml de medio TSB (30 g/l de caldo de soja tripsínica) enriquecido con 5 g/l de levadura (TSB+YE) y 50 mg/l de canamicina y se cultivaron a 37°C en matraces con agitación. TSB + YE reciente que contenía 50 mg/l de canamicina se inoculó con precultivo a DO<sub>600</sub> ~ 0,06 y se cultivó 3 h a 37°C en un fermentador por lotes, cuando se provocó la expresión génica por adición de isopropil-L-tio-β-D-galactopiranosido (IPTG; Apollo Scientific Ltd., Bradbury, UK) a una concentración final de 0,5 mM. Después de 5 h de cultivo se recogieron las células por centrifugación (15.000 g, 20 min). Los sedimentos celulares se congelaron durante la noche, se descongelaron y se volvieron a poner en suspensión en tampón de desnaturalización (urea 7 M, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 100 mM, Tris-HCl 10 mM, pH 8,0). Después de la incubación a T.A. durante 30 min las células se centrifugaron a 25.000 g durante 15 min y la proteína desnaturalizada del sobrenadante se diluyó en tampón de desnaturalización (urea 7 M, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 100 mM, Tris-HCl 10 mM, pH 6,3) y se aplicó a una columna Ni-NTA Superflow (Qiagen). La proteína unida se eluyó con tampón de urea (urea 8 M, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 100 mM, Tris-HCl 10 mM, pH 4,5). Las proteínas se aplicaron a una columna PD-10 (GE Healthcare) y se eluyó con PBS (pH 7,4). Las proteínas monoméricas se denominan en adelante  $Z_{EGFR,no}$  (vector pAY442) y las proteínas dimericas se denominan ( $Z_{EGFR,no}$ )<sub>2</sub> (vector pAY442). Las concentraciones de proteínas se calcularon a partir de mediciones de absorbancia a 280 nm, utilizando el coeficiente de extinción apropiado para cada proteína. Para confirmar la pureza y la masa molecular correcta de la proteína se extendieron en un gel de SDS-PAGE (NuPAGE al 4-12% Bis-Tris gel; Invitrogen), y en HPLC-MS (HPLC-MS1100; Agilent Technologies). Las proteínas purificadas se analizaron más por DC, donde se registraron los espectros de DC de 16 variantes Z que se unen a EGFR usando un espectropolarímetro Jasco-810. Todos los montajes se diluyeron con PBS a una concentración final de 0,5 mg/ml y se colocaron 200 µl de cada muestra en una cubeta de 1 mm y se analizaron desde 195 a 250 nm a 20°C. Se examinó la estabilidad térmica aplicando un gradiente de temperatura de 20 a 90°C a una longitud de onda fija de 220 nm. El punto de fusión, definido como la temperatura a la que se despliega el 50% de la proteína, se interpretó a partir de los espectros de desplegamiento térmico. Las concentraciones de proteína para variantes  $Z_{EGFR}$

seleccionadas se determinaron también por análisis de aminoácidos (Aminosyraanalyscentralen, Uppsala, Suecia).

#### *Análisis por biodetector*

Se utilizó un instrumento Biacore® 2000 (Biacore AB, Uppsala, Suecia) para el análisis de interacción bioespecífica en tiempo real (BIA) entre las variantes Z seleccionadas y la proteína diana. EGFR-ECD (diluido en NaAc 10 mM, pH 4,5) se inmovilizó (~2400 RU) sobre la capa de dextrano carboxilado de una superficie de la cubeta de flujo de un chip detector CM5 (Biacore) por acoplamiento de aminas, según las instrucciones del fabricante. Otra superficie de la cubeta de flujo se activó y desactivó para ser utilizada como una superficie de referencia y HER2-ECD (Horak *et al.*, (2005) *Cancer Biother. Radiopharm.* 20, 603-13) (suministrada por gentileza de Greg Adams, Fox Chase Cancer Center, PA) y ErbB3/Fc (R & D Systems, 348-RB) se inmovilizó sobre las superficies de cubetas de flujo separadas en el chip detector CM5, para servir como referencias negativas. Todas las muestras de la variante Z se diluyeron en el tampón corriente HBS (HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3,4 mM, tensioactivo P20 al 0,005%, pH 7,4) antes de realizar el análisis de unión a 25°C. En un primer experimento, cada variante Z 500 nM (diluida en HBS) se inyectó sobre todas las superficies con un caudal de 30 µl/min. Una molécula que se une al EGFR de primera generación ((Z<sub>EGFR:955</sub>)<sub>2</sub>; ejemplo 1) se inyectó también como referencia. Después de cada inyección se regeneraron las cubetas de flujo mediante la inyección de 10 µl de HCl 10 mM.

En un segundo experimento, cinco variantes Z<sub>EGFR</sub> monomérica seleccionadas se sometieron más a análisis cinético, en el que las proteínas se inyectaron sobre una superficie EGFR-ECD a concentraciones que van desde 6,25 nM a 500 nM con un caudal de 50 µl/min. La constante de equilibrio de disociación ( $K_D$ ), la constante de velocidad de asociación ( $k_a$ ), y la constante de velocidad de disociación ( $k_d$ ) se calcularon utilizando el programa informático BIAevaluation 3.2 (Biacore). Las muestras se introdujeron por duplicado y después de cada inyección se regeneraron las cubeta de flujo mediante la inyección de 10 µl de HCl 10 mM.

#### *Tinción de inmunofluorescencia*

La estirpe celular A431, adquirida en la colección europea de cultivos celulares (www.ecacc.org.uk), se cultivó a 37°C en ambiente de CO<sub>2</sub> al 5% en el medio sugerido por el proveedor. El medio contenía suero fetal bovino (FBS) a concentraciones sugeridas por los proveedores (Sigma-Aldrich) de la estirpe celular. Las células subconfluentes se lavaron una vez con PBS, se desprendieron con una solución de tripsina/EDTA (Cambrex) y se volvieron a poner en suspensión en medio de cultivo completo. Se añadieron aproximadamente 10.000 células en 20 µl por pocillo de un portaobjetos multipocillo, de 8 pocillos (Histolab) y se incubaron durante la noche. A la mañana siguiente las células se fijaron con formaldehído al 3% recién preparado en PBS durante 15 minutos y se lavaron dos veces con PBS. Las células se tiñeron con 20 µl/pocillo de las variantes Z His<sub>6</sub>-Z01859, His<sub>6</sub>-Z01865, His<sub>6</sub>-Z01864, His<sub>6</sub>-Z01877, His<sub>6</sub>-Z01868, His<sub>6</sub>-Z01913, His<sub>6</sub>-Z01836, His<sub>6</sub>-(Z01907)<sub>2</sub>-Cys e His<sub>6</sub>-(Z01953)<sub>2</sub>-Cys (2-10 mg/ml) durante una hora, o con 1 µg/ml de anticuerpos anti-EGFR de ratón (Abcam, nº ab30). Los portaobjetos teñidos con variantes Z se lavaron en PBS, se incubaron con anticuerpo de cabra contra Z (preparado en la propia empresa) se mezclaron con 5 µg/ml de anti-IgG de cabra Alexa Fluor 488 (Molecular Probes) durante una hora. El portaobjetos teñido con anticuerpo se lavó en PBS y se incubó con anti-IgG de ratón en cabra Alexa Fluor 488 (Molecular Probes) durante una hora. Después de esta segunda etapa de incubación, los portaobjetos se lavaron de nuevo con PBS. El portaobjetos de anticuerpos se tiñó por contraste con 20 µl de DAPI (Molecular Probes) a una concentración de 1 µg/ml durante 10-20 segundos y se lavó de nuevo. Todos los portaobjetos se secaron y se montaron con reactivo contra la decoloración (Vector Laboratories) y se analizó la fluorescencia de las membranas utilizando un microscopio DM-LA, equipado con una cámara Leica DC (Leica Microsystems). Las imágenes se obtuvieron utilizando el programa informático IM1000 (Leica Microsystems).

#### *Tinción inmunohistoquímica*

Se adquirieron tejidos de xenotrasplante A431 en estudios de biodistribución descritos a continuación. Los tumores se congelaron instantáneamente en nitrógeno líquido y se hicieron secciones criogénicas de 6 µm de espesor usando un criostato automatizado Ljung CM3000 (Leica Microsystems). Las secciones se fijaron con formaldehído al 3% recién preparado en PBS durante 15 minutos y se lavaron dos veces con PBS. Las secciones se tiñeron con His<sub>6</sub>-(Z01864)<sub>2</sub>-Cys o His<sub>6</sub>-Z01877 a una concentración de 5 µg/ml, con His<sub>6</sub>-(Z01907)<sub>2</sub>-HRP o His<sub>6</sub>-(Z01853)<sub>2</sub>-HRP a una dilución de 1/40, aproximadamente 6 µg/ml, durante 1 hora. His<sub>6</sub>-(Z01864)<sub>2</sub>-Cys e His<sub>6</sub>-Z01877 se detectaron con anticuerpo de cabra contra Z (preparado en la propia empresa), seguido de 5 µg/ml de anti- HRP de cabra en conejo. Como referencia positiva, un portaobjetos se tiñó con 3 µg/ml de anticuerpo anti-EGFR (Abcam, nº ab2430), se lavó y se detectó con Envision HRP de conejo (Dako, nº K4002) La muestra teñida de HRP se lavó una vez con PBS seguido de incubación con sustrato cromógeno DAB (Dako Cytomation) durante 7 minutos, seguido de lavados con PBS y tinción por contraste con Mayers HTX (Histolab) durante 20 segundos. Los portaobjetos se montaron con Mount-quick (Histolab). Los portaobjetos se analizaron en un microscopio DMLA, equipado con una cámara Leica DC (Leica Microsystems). Se obtuvieron las imágenes y se guardaron utilizando el programa informático IM1000 (Leica Microsystems).

*Especificidad de unión y biodistribución de variantes Z que se unen a EGFR marcado con <sup>111</sup>In**Mediciones de radiactividad*

Se midió la radiactividad usando un contador gamma automatizado con un detector de NaI (TI) de 3 pulgadas (1480 WIZARD, Wallac Oy, Turku, Finlandia). La distribución de radiactividad a lo largo de las tiras de ITLC se midió en el sistema de almacenamiento de fósforo Cyclone™ y se analizó utilizando el programa informático de análisis de imágenes OptiQuant™.

*Acoplamiento de p-SCN-bencil-DTPA a variantes Z y marcaje de conjugados con <sup>111</sup>In*

La conjugación de isotiocianato-bencil-DTPA a variantes Z<sub>EGFR</sub> se realizó según el método descrito por Mirzadeh *et al.* (*Bioconjug. Chem.* 1990; 1:59-65), usando una relación molar quelante a proteína de 1:1. En resumen, 300 µl de solución de variante Z en PBS se mezclaron con 43 µl de solución recién preparada (1 mg/ml) de isotiocianato-bencil-DTPA en tampón de borato de sodio 0,07 M, pH 9,2. El volumen total se ajustó a 500 µl con tampón de borato 0,07 M (pH 8,5-9,0), después de lo cual la mezcla se agitó durante aproximadamente 30 s y a continuación se incubó durante la noche a 37°C. Después de la incubación, la mezcla de reacción se purificó en una columna de exclusión por tamaño NAP-5, preequilibrada con tampón de acetato 0,2 M, pH 5,3 según las instrucciones del fabricante (la fracción de alto peso molecular fue de 0,9 ml). El eluido se agitó, tras lo cual se tomó la fracción que contenía 50 µg de conjugado de variante Z para su posterior marcaje y se congelaron los restos de las soluciones.

Para el marcaje, se mezclaron 50 µg de conjugado con una cantidad predeterminada de <sup>111</sup>In (18 MBq) y se incubaron a temperatura ambiente durante 60 minutos. Al conjugado bencil-DTPA-Z01908, se añadieron 37 µl de tampón de acetato, para equilibrar una alta concentración de esta variante Z.

Para el control de calidad del marcaje, se utilizó ITLC eluido con ácido cítrico 0,2 M. En este sistema, las variantes Z radiomarcadas continúan en el origen, el indio libre migra con el frente del disolvente, y el complejo <sup>111</sup>In-isotiocianato-DTPA tiene un R<sub>f</sub> de 0,4. Los conjugados marcados se purificaron en columnas NAP-5 (la fracción de alto peso molecular fue de 0,9 ml), y se comprobó la pureza de los productos en ITLC.

*Especificidad de unión de conjugados marcados con <sup>111</sup>I para células A431 que expresan EGFR*

Se añadieron conjugados marcados a dos grupos de placas de Petri (3 placas por grupo) con una relación calculada de un conjugado marcado por un receptor EGFR (1,5 × 10<sup>6</sup> receptores por célula A431). Un grupo de placas se saturó previamente con un exceso de 100 veces de variante Z no marcada 10 min antes de añadir el conjugado marcado. Las células se incubaron durante 1 hora a 37°C y se recogió el medio de incubación. Las placas con células se lavaron 6 veces con medio exento de suero frío y se trataron con 0,5 ml de tripsina-EDTA durante 10 minutos a 37°C. Cuando se desprendieron las células, se añadió 0,5 ml de medio completo a cada placa y se volvieron a poner en suspensión las células. Se recogió la suspensión celular para mediciones de radiactividad. La radiactividad asociada a las células (C) se midió en un contador gamma automatizado en paralelo con 1 ml de medio de incubación correspondiente (M). La fracción de radiactividad añadida ligada a las células se calculó como % de radiactividad ligada = C x 100% / (C + M).

*Modelos animales de tumores*

El estudio en animales fue aprobado por el Comité de Ética local para Investigación Animal. En los experimentos *in vivo* se emplearon ratones Balb/c hembra atímicos no consanguíneos (10-12 semanas de edad a la llegada). Los animales se aclimataron durante una semana en las instalaciones Rudbeck de animales de laboratorio utilizando alimentación, lecho y medio habituales antes de la implantación del tumor. Los ratones tuvieron acceso libre al pienso y al agua potable. Los tumores A431 se injertaron por inyección subcutánea (sc) de ~10<sup>7</sup> células en la pata trasera derecha. Los xenoinjertos se dejaron desarrollar durante 2 semanas.

*Estudios de biodistribución*

La biodistribución de polipéptidos que se unen a EGFR se evaluó en ratones portadores de tumores A431 de la cepa Balb/c (atímica) 4 h p.i. de conjugados de la variante Z EGFR marcados con indio-111 (sc). Los ratones se anestesiaron mediante una inyección intraperitoneal mezcla de cetamina HCl (Ketalar, Pfizer) y xilazina HCl (Rompun; Bayer) (20 µl de solución por gramo de peso corporal; Ketalar - 10 mg/ml, Rompun - 1 mg/ml) 4 horas después de la inyección (p.i.) en todos los experimentos de biodistribución. Después, los ratones se sacrificaron mediante punción cardíaca con una jeringuilla de 1 ml enjuagada con heparina diluida (5000 UI/ml, de Leo Pharma, Copenhague, Dinamarca). Se recogieron muestras orgánicas de sangre, pulmón, hígado, bazo, colon, riñón, útero, glándulas salivales, músculo, piel, hueso y tumor, se pesaron y se midió la radiactividad con un contador gamma. Los intestinos (con contenido) se midieron como órganos enteros y no se pesaron. Los valores de absorción orgánica se calcularon en porcentaje inyectado de actividad por gramo de tejido (% IA/g). En todos los experimentos, los ratones se dividieron aleatoriamente en grupos de 4 animales en cada grupo.

## Resultados

*Maduración de afinidad de de variantes Z que se unen a EGFR de primera generación*

Se diseñó y construyó una biblioteca de maduración de afinidad basada en un conjunto principal de moléculas que se unen a EGFR (ejemplo 1). Se alinearon las secuencias de los tres mejores ligantes y una cuarta secuencia del análisis de secuencias adicional en el ejemplo 1. Se consideró razonable fijar 5 posiciones (24, 25, 27, 28 y 32), y se dejó un determinado sesgo para N y R en las posiciones 17 y 18 y para S y V en la posición 35 (figura 2D). Por lo tanto, las posiciones 9, 10, 11, 13 y 14 fueron objeto de asignación al azar empleando codones degenerados NNG/T (figura 2D). Debido al pequeño tamaño de la proteína Z, fue posible utilizar un único oligonucleótido de 129 nucleótidos con codones degenerados, que codifican las hélices 1 y 2 del dominio Z, para crear una biblioteca secundaria. El oligonucleótido se amplificó por PCR y posteriormente se ligó en un vector fagómico que codifica la tercera hélice  $\alpha$  de la proteína Z. La biblioteca resultante consistía en  $\sim 1 \times 10^9$  miembros, que deben incluir adecuadamente una mayoría de las variantes teóricas. Se prepararon estirpes de fagos y se realizaron selecciones esencialmente como se ha descrito anteriormente, utilizando concentraciones decrecientes de proteína diana y lavado exhaustivo, así como el bloqueo de religado de ligantes con constante de velocidad de disociación rápida con un exceso de proteína diana no biotinilada y competencia de ligantes de primera generación (ejemplo 1) con ligantes de segunda generación generados, para seleccionar las variantes más fuertes que se unen a EGFR en la biblioteca.

Los clones obtenidos después de cuatro rondas de selección se cultivaron en placas de 96 pocillos, se congelaron y descongelaron para liberar el contenido periplásmico, y se sometieron a un procedimiento de detección ELISA de actividad de unión a EGFR. Al someter 372 clones escogidos al azar a la detección sistemática por ELISA una mayoría de los clones mostraban altos valores de absorbancia, lo que indica buena unión a la proteína diana. A partir de los clones con mayor valor de la absorbancia, 186 clones se sometieron a secuenciación del ADN y tras el agrupamiento de los clones secuenciados se visualizó la relación entre los clones seleccionados.

Además, se realizó una detección por análisis con biodetector en el contenido periplásmico que contenía variantes Z etiquetados con ABD en 54 clones con el fin de seleccionar clones con el mejor enlace a EGFR y la constante de velocidad de disociación más lenta (datos no mostrados).

Basándose en los valores en la detección por ELISA, los resultados del agrupamiento de la secuenciación del ADN y la detección por análisis con biodetector, se seleccionaron 16 clones para una caracterización posterior, a saber, Z01836, Z01848, Z01853, Z01859, Z01864, Z01865, Z01868, Z01877, Z01887, Z01888, Z01905, Z01907, Z01908, Z01913, Z01917 y Z01960 (véase la figura 1 y la lista de secuencias). Prácticamente se demostró que todos los ligantes eran soluble a concentraciones  $\geq 1,0$  mg/ml y presentaban un espectro DC en forma de hélice  $\alpha$  característico en la región espectral del UV lejano (190-250 nm), con máximo de absorción a 207 y 220 nm. El punto de fusión se interpretó a partir de espectros de desplegamiento térmico y se determinó a 50°C o superior prácticamente para todos los ligantes. Los espectros registrados después de la desnaturalización térmica presentaron un repliegamiento completo en la estructura de la hélice  $\alpha$ .

35 *Detección con biodetector*

Para obtener una clasificación inicial de las afinidades de unión, las 16 variantes Z seleccionadas, así como la Z<sub>EGFR:955</sub> monomérica y dimérica (ejemplo 1) se expresó y analizó su unión a EGFR usando un instrumento Biacore. Los diferentes variantes Z<sub>EGFR</sub> se inyectaron por separado sobre las superficies de las cubeta de flujo del chip detector que contienen la proteína diana EGFR-ECD inmovilizada y las proteínas de referencia HER2-ECD y HER3 fusionado con Fc, respectivamente. Se observaron afinidades de unión en el intervalo nanomolar bajo para los 16 ligantes (datos no mostrados). La mayoría de los ligantes no mostraron ninguna unión inespecífica a HER2-ECD ni HER3 fusionado a Fc. Se seleccionaron cinco ligantes con la mejor afinidad y fuera de la gama de análisis del biodetector para caracterización posterior, a saber, Z01853, Z01868, Z01877, Z01907 y Z01908.

Comparación de los ligantes de primera y segunda generación *in vitro*

45 Se compararon Z01853, Z01868, Z01877, Z01907 y Z01908 con afinidad madurada ( $K_D \sim 10$  nM) con una forma de Z00955 monomérica ( $K_D \sim 185$  nM) y dimérica ( $K_D \sim 50$  nM) empleando análisis Biacore (figura 9). Las velocidades de asociación de las variantes Z con afinidad madurada son aproximadamente las mismas que para los ligantes monoméricos y diméricos de primera generación. La velocidad de disociación, sin embargo, ha mejorado  $\sim 20$  veces.

50 *Fluorescencia y análisis inmunohistoquímico*

Los resultados se muestran en la figura 10. La figura 10 A muestra las células A431 teñidas con las siguientes variantes Z específicas para EGFR; a) His<sub>6</sub>-Z01859, b) His<sub>6</sub>-Z01865, c) His<sub>6</sub>-Z01864, d), His<sub>6</sub>-Z01913 e) His<sub>6</sub>-Z01877, f) His<sub>6</sub>-Z01868, g) His<sub>6</sub>-Z01836, h) His<sub>6</sub>-(Z01853)<sub>2</sub>-Cys e i) His<sub>6</sub>-(Z01907)<sub>2</sub>-Cys. Las variantes Z monoméricas se detectaron con anticuerpo de cabra contra Z, seguido de la detección con anticuerpos anti-cabra conjugados con Alexa 488. Las variantes Z diméricas se marcaron con Oregon Green. Como referencia positiva, A431 se tiñeron con un anticuerpo anti-EGFR (j).

La figura 10B muestra criosecciones de xenoinjertos A431 teñidas con a) His<sub>6</sub>-(Z01864)<sub>2</sub>-Cys, b) His<sub>6</sub>-Z01877, c) His<sub>6</sub>-(Z01853)<sub>2</sub>-Cys y d) His<sub>6</sub>-(Z01907)<sub>2</sub>-Cys. His<sub>6</sub>-(Z01864)<sub>2</sub>-Cys, e His<sub>6</sub>-Z01877 (a y b) se detectaron con anticuerpos de cabra contra Z seguido de detección con anticuerpos anti-cabra conjugados a HRP. Las moléculas His<sub>6</sub>-(Z01853)<sub>2</sub>-Cys (c) e His<sub>6</sub>-(Z01907)<sub>2</sub>-Cys (d) se conjugaron directamente a HRP. Como referencia positiva, A431 se tiñeron con un anticuerpo anti-EGFR (e).

*Especificidad y biodistribución de variantes Z que se unen a EGFR marcado con <sup>111</sup>In*

Todos los conjugados de variantes Z se lograron marcar con indio-111 con rendimientos mayores del 90%, y después de la purificación con NAP-5, todos los conjugados tenían una pureza superior al 95%.

La especificidad de unión de los conjugados marcados se evaluó en la estirpe celular A431 de carcinoma epidermoide que expresa EGFR. Los resultados se muestran en la figura 11. En la figura, todos los puntos de datos son valores medios de tres mediciones, y las barras de error representan SEM. La unión de todos los conjugados se vio que era específica de EGFR (véase la figura 11), ya que era posible bloquear la absorción por adición de un exceso de 100 veces de Z<sub>EGFR</sub> no marcado (p <0,0001).

Los resultados de biodistribución para conjugados de variantes Z marcados con indio-111 4 h p.i. en de tumor A431 se resumen en la figura 12. En la figura, cada punto de datos representa un promedio de cuatro animales ± desviación típica y se expresa en porcentaje de radiactividad inyectada por gramo de órganos o tejidos. Erika Nordberg (Ciencias Biomédicas de radiación, Universidad de Uppsala), en colaboración con Affibody AB (VINNOVA) obtuvieron los datos de <sup>111</sup>In-CHX-DTPA (Z<sub>EGFR:955</sub>)<sub>2</sub> y se incluyen para comparación.

La focalización del tumor *in vivo* se logró con los cinco nuevas variantes Z en el nivel de 4-6% de IA/g, pero no mejoró en comparación con el dímero no madurado (4% de IA/g).

Las principales diferencias entre el dímero de primera generación (Z00955)<sub>2</sub> y todos los monómeros madurados pudieron observarse en la depuración de la sangre, la absorción hepática y la acumulación renal: para los nuevos monómeros seleccionados en el experimento de maduración, la concentración de radiactividad en sangre fue mayor, la absorción hepática fue menor y la absorción renal fue mayor que para (Z00955)<sub>2</sub>. Muy probablemente, estas observaciones están relacionadas: los nuevos monómeros tienen un enlace más débil a los receptores EGFR en el hígado, debido a la menor reactividad cruzada a receptores murinos y/o debido al enlace monovalente al receptor, que no provoca la internalización y el enlace es reversible.

**Ejemplo 3**

*Tercera selección de polipéptidos que se unen a EGFR según la invención*

Basándose en un análisis estadístico de los resultados de la selección del ejemplo 2, se preparó una tercera biblioteca de supuestos polipéptidos que se unen a EGFR esencialmente como se ha descrito anteriormente. Después de la selección de presentación en fagos utilizando EGFR como objetivo y detección por ELISA de las variantes seleccionadas, se identificaron 17 secuencias más de variantes de Z que se unen a EGFR. Sus secuencias de aminoácidos se presentan en la figura 1 y en la lista de secuencias como SEQ ID n° 310- n° 326. Los motivos de unión a EGFR deducidos de estas variantes Z que se unen a EGFR se presentan en la figura 1 y en la lista de secuencias como SEQ ID n° 147-n° 163.

**APARTADOS**

1. Polipéptido que se une al receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) que comprende un motivo de unión al receptor del factor de crecimiento epidérmico, EBM, motivo que consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:

i) EX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>AX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EIX<sub>10</sub> X<sub>11</sub>LPNLNX<sub>17</sub>X<sub>18</sub>QX<sub>20</sub> X<sub>21</sub>AFIX<sub>25</sub>SLX<sub>28</sub>D,

en donde, independientemente uno de otro,

X<sub>2</sub> se selecciona de M, F, V, L, I y S;

X<sub>3</sub> se selecciona de entre W, D, E y L;

X<sub>4</sub> se selecciona de I, V, G, S, M, L, A, T, N, D y W;

X<sub>6</sub> se selecciona de W, V, L, I, M y S;

X<sub>7</sub> se selecciona de D, E, N y K;

X<sub>10</sub> se selecciona de R, G, H y K;

X<sub>11</sub> se selecciona de D, N, E, Y y S;

$X_{17}$  se selecciona de G, W y A;

$X_{18}$  se selecciona de W, G y A;

$X_{20}$  se selecciona de M, L, F, A y E;

$X_{21}$  se selecciona de T, D, N, A y Q;

5  $X_{25}$  se selecciona de A, S, N, G y L; y

$X_{28}$  se selecciona de L, W, V, F y A;

y

ii) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 85% de identidad con la secuencia definida en i);

10 el polipéptido de unión a EGFR que se une al EGFR de modo que el valor  $K_D$  de la interacción es como máximo 10  $\mu\text{M}$ .

2. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 1, en donde  $X_2$  es M.

3. Polipéptido que se une al EFGR según cualquier apartado precedente, en donde  $X_3$  es W.

4. Polipéptido que se une al EFGR según cualquier apartado precedente, en donde  $X_4$  se selecciona de I, V, G y S.

5. Polipéptido que se une al EFGR según cualquier apartado precedente, en donde  $X_6$  se selecciona de V y W.

15 6. Polipéptido que se une al EFGR según cualquier apartado precedente, en donde  $X_{10}$  se selecciona de R y G

7. Polipéptido que se une al EFGR según cualquier apartado precedente, en donde  $X_{11}$  se selecciona de D, N y E.

8. Polipéptido que se une al EFGR según cualquier apartado precedente, en donde  $X_{17}$  se selecciona de W y G.

9. Polipéptido que se une al EFGR según cualquier apartado precedente, en donde  $X_{18}$  se selecciona de W y G.

10. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 9, en donde  $X_{18}$  es W.

20 11. Polipéptido que se une al EFGR según cualquier apartado precedente, en donde  $X_{20}$  es M.

12. Polipéptido que se une al EFGR según cualquier apartado precedente, en donde  $X_{21}$  se selecciona de T y D.

13. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 12, en donde  $X_{21}$  es T.

14. Polipéptido que se une al EFGR según cualquier apartado precedente, en donde  $X_{25}$  se selecciona de A, S y N.

15. Polipéptido que se une al EFGR según cualquier apartado precedente, en donde  $X_{28}$  se selecciona de L y W.

25 16. Polipéptido que se une al EFGR según cualquier apartado precedente, en donde  $X_{18}$  es W y  $X_{21}$  es T.

17. Polipéptido que se une al EFGR según cualquier apartado precedente, en donde  $X_{18}$  es W y  $X_{20}$  es M.

18. Polipéptido que se une al EFGR según cualquier apartado precedente, en donde la secuencia de aminoácidos i) cumple al menos seis de las nueve condiciones I-IX siguientes:

I)  $X_2$  es M;

30 II)  $X_3$  es W;

III)  $X_6$  es W;

IV)  $X_{10}$  es R;

V)  $X_{17}$  es G;

VI)  $X_{18}$  es W;

35 VII)  $X_{20}$  es M;

VIII)  $X_{21}$  es T;

IX)  $X_{28}$  es L.

19. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 18, en donde la secuencia de aminoácidos i) cumple al menos siete de las nueve condiciones I-IX.

20. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 19, en donde la secuencia de aminoácidos i) cumple al menos ocho de las nueve condiciones I-IX.

5 21. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 20, en donde la secuencia de aminoácidos i) es

EMWX<sub>4</sub>AWX<sub>7</sub>EIR X<sub>11</sub>LPNLNGWQM TAFIX<sub>25</sub>SLLD

22. Polipéptido que se une al EGFR según cualquier cualquiera de los apartados 1-17, en donde la secuencia de aminoácidos i) cumple al menos tres de las siguientes cinco condiciones V-VIII y X:

V) X<sub>17</sub> es G;

10 VI) X<sub>18</sub> es W;

VII) X<sub>20</sub> es M;

VIII) X<sub>21</sub> es T;

X) X<sub>25</sub> es A.

15 23. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 22, en donde la secuencia de aminoácidos i) cumple al menos cuatro de las cinco condiciones V-VIII y X.

24. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 23, en donde la secuencia de aminoácidos i) es

EX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>AX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EIX<sub>10</sub> X<sub>11</sub>LPNLNGWQM TAFIASLX<sub>25</sub>SLX<sub>28</sub>D.

25. Polipéptido que se une al EGFR según cualquiera de los apartados 1-17, en donde la secuencia de aminoácidos i) es

20 EX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>AX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EIG ELPNLNWGQX<sub>20</sub> X<sub>21</sub>AFIX<sub>25</sub>SLWD.

26. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 25, en donde la secuencia de aminoácidos i) es

EX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>IAX<sub>7</sub>EIG ELPNLNWGQX<sub>20</sub> DAFINSLWD.

27. Polipéptido que se une al EGFR según una cualquier apartado precedente, en donde la secuencia de aminoácidos i) se selecciona de las SEQ. ID. n° 1 a n° 163.

25 28. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 27, en donde la secuencia de aminoácidos i) se selecciona de las SEQ ID n° 33, SEQ ID n° 48, SEQ ID n° 57, SEQ ID n° 87, SEQ ID n° 88 y SEQ ID n° 147.

29. Polipéptido que se une al EGFR según una cualquier apartado precedente, en el que dicho motivo que se une al EGFR forma parte de un dominio proteico del haz de tres hélices.

30 30. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 29, en el que dicho motivo que se une al EGFR esencialmente forma parte de dos hélices alfa y un bucle que les conecta, dentro de dicho dominio proteico del haz de tres hélices.

31. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 30, en el que dicho dominio proteico del haz de tres hélices se selecciona de los dominios de proteínas receptoras bacterianas.

35 32. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 31, en el que dicho dominio proteico del haz de tres hélices se selecciona de los dominios de la proteína A de *Staphylococcus aureus* o de uno de sus derivados.

33. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 32, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de:

ADNNFNK- [EBM] -DPSQSANLLSEAKKLNESQAPK;

ADNKFNK- [EBM] -DPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK;

40 ADNKFNK- [EBM] -DPSVSKEILAEAKKLNDAQAPK;

ADAQQNNFNK- [EBM] -DPSQSTNVLGEAKKLNESQAPK;

AQHDE- [EBM] -DPSQSANVLGEAQLNDSQAPK; y

VDNKFNK- [EBM] -DPSQSANLLAEAKKLNDAPK;

en donde [EBM] es un motivo que se une al EGFR, como se ha definido en cualquiera de los apartados 1-28.

34. Polipéptido que se une al EGFR que comprende una secuencia de aminoácidos derivada de la secuencia de aminoácidos SEQ. ID. nº 327:

5 VDNKFNK EQQNAFYELH LPNLNE EQRNAFIQSLKD DPSQSANLLAEAKKLNDAPK

comprendiendo sustituciones de aminoácidos en cualquiera o en todas las posiciones 9 a 11, 13 a 14, 17 a 18, 24 a 25, 27 a 28, 32 y 35 de la secuencia anterior, o las posiciones correspondientes a esas posiciones, cuyas sustituciones mejoran la unión del polipéptido a EGFR en comparación con un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos no modificada, en el que el polipéptido de unión a EGFR se une a EGFR de modo que el valor  $K_D$  de la interacción es como máximo de 10  $\mu$ M.

35. Polipéptido que se une al EGFR, cuya secuencia de aminoácidos comprende una secuencia que cumple una definición seleccionada de las siguientes:

iii) se selecciona de las SEQ ID nº 164 a nº326;

15 iv) es una secuencia de aminoácidos que tiene 85% o más de identidad con una secuencia seleccionada de las SEQ ID nº 164 a nº 326.

36. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 35, cuya secuencia de aminoácidos comprende una secuencia que cumple una definición seleccionada de las siguientes:

v) se selecciona de las SEQ ID nº 196, SEQ. ID. nº 211, SEQ. ID. nº 220, SEQ. ID. nº 250, SEQ. ID. nº 251 y SEQ. ID. nº 310;

20 vi) es una secuencia de aminoácidos que tiene 85% o más de identidad con una secuencia seleccionada de las SEQ. ID. nº 196, SEQ. ID. nº 211, SEQ. ID. nº 220, SEQ. ID. nº 250, SEQ. ID. nº 251 y SEQ. ID. nº 310.

37. Polipéptido que se une al EGFR según cualquier apartado precedente que ha sido ampliado por aminoácidos con terminal C y/o terminal N.

25 38. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 37, en que la o cada ampliación de aminoácidos aumenta la unión de EGFR por el polipéptido.

39. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 37 o 38, en que la o cada ampliación de aminoácidos mejora la producción, purificación, estabilización *in vivo* o *in vitro*, acoplamiento o detección del polipéptido.

30 40. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 39 en que la ampliación comprende un dominio de unión a la albúmina de la proteína G estreptocócica, o de uno de sus derivados, que aumenta la vida media del polipéptido que se une al EGFR en aplicaciones terapéuticas.

41. Polipéptido que se une al EGFR según cualquier apartado precedente, que se une al EGFR de modo que el valor de  $K_D$  de la interacción es como máximo  $1 \times 10^{-6}$  M.

42. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 41, que se une al EGFR de modo que el valor de  $K_D$  de la interacción es como máximo  $1 \times 10^{-7}$  M.

35 43. Polipéptido que se une al EGFR según una cualquier apartado precedente que se une al dominio extracelular de EGFR.

44. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 43 que une a una parte del dominio extracelular de EGF correspondiente a la SEQ. ID. nº 329.

40 45. Polipéptido que se une al EGFR que comprende un fragmento de un polipéptido que se une al EGFR según cualquier apartado precedente.

46. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 45 en que el fragmento comprende una reducción del terminal N de un polipéptido según cualquiera de los apartados 1-44.

47. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 46, en que la reducción del terminal N es de hasta 4 aminoácidos.

45 48. Polipéptido que se une al EGFR según cualquier apartado precedente en forma polimérica, que comprende al menos dos unidades monoméricas de polipéptido que se une al EGFR, cuyas secuencias de aminoácidos pueden ser iguales o diferentes.



49. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 48, en que las unidades monoméricas de polipéptido que se une al EGFR están acopladas por enlace covalente.
50. Polipéptido que se une al EGFR según el apartado 49, en que las unidades monoméricas de polipéptido que se une al EGFR se expresan como una proteína de fusión.
- 5 51. Polipéptido que se une al EGFR según cualquiera de los apartados 48-50 en forma dimérica.
52. Un polinucleótido que codifica un polipéptido según cualquier apartado precedente.
53. Procedimiento de producción de un polipéptido según cualquiera de los apartados 1-51, comprendiendo el procedimiento la expresión de un polinucleótido según el apartado 52.
54. Combinación de un polipéptido que se une al EGFR según cualquiera de los apartados 1-51 y un agente detectable.
- 10 55. Combinación según el apartado 54, en la que el agente detectable es una sustancia radioactiva para su empleo en radiografía.
56. Combinación según el apartado 55, en la que la sustancia radioactiva es un radionúclido.
57. Combinación según el apartado 54, en la que el agente detectable es una enzima.
- 15 58. Combinación de un polipéptido que se une al EGFR según un cualquiera de los apartados 1-51 y un agente terapéutico.
59. Combinación según cualquiera de los apartados 54-58, en la que el polipéptido que se une al EGFR y el agente detectable o el agente terapéutico se acoplan por enlace covalente.
60. Combinación según cualquiera de los apartados 54-59, en la que el polipéptido que se une al EGFR y el agente detectable o el agente terapéutico se expresan como proteína de fusión.
- 20 61. Procedimiento de radiografía, en el que una combinación según cualquiera de los apartados 54-60 se utiliza como agente de radiografía.
62. Procedimiento de detección de EGFR, que comprende proporcionar una muestra que se sospecha que contiene un EGFR, muestra que contiene un polipéptido que se une al EGFR según cualquiera de los apartados 1-51, o una combinación según cualquiera de los apartados 54-60 y detectar la unión del polipéptido o combinación para indicar la presencia de un EGFR en la muestra.
- 25 63. Procedimiento de separación o de captura de EGFR en una muestra, comprendiendo el procedimiento poner en contacto la muestra con un polipéptido que se une al EGFR según cualquiera de los apartados 1-51 o una combinación según cualquiera de los apartados 54-60, con lo cual EGFR se une al polipéptido y puede eliminarse de la muestra.
- 30 64. Procedimiento de diagnóstico para determinar la presencia de un EGFR en un mamífero, incluyendo el procedimiento poner en contacto el sujeto, o una muestra procedente del sujeto, con un polipéptido que se une al EGFR según cualquiera de los apartados 1-51 o una combinación según cualquiera de los apartados 54-60 y detectar la unión del polipéptido o combinación.
- 35 65. Procedimiento según el apartado 64, en el que el sujeto es un ser humano.
66. Procedimiento según el apartado 64 o 65, en el que el procedimiento se realiza *in vivo*.
67. Procedimiento según el apartado 64 o 65, en el que el procedimiento se realiza en una muestra *in vitro*.
68. Procedimiento de tratamiento de una enfermedad relacionada con EGFR en un mamífero o en material procedente de un mamífero, en el que el sujeto o el material se trata con un polipéptido que se une al EGFR según cualquiera de los apartados 1-51 o una combinación según cualquiera de los apartados 58-60.
- 40 69. Procedimiento de tratamiento según el apartado 68, en el que la unión del polipéptido que se une al EGFR o dicha combinación con un EGFR del sujeto, o en el material, inhibe o estimula la activación del receptor.
70. Procedimiento de tratamiento según el apartado 68 o 69, en el que la unión del polipéptido que se une al EGFR a un EGFR del sujeto, o en el material, inhibe la señalización celular.
- 45 71. Procedimiento de tratamiento según cualquiera de los apartados 68-70, en el que la enfermedad relacionada con EGFR es un cáncer.
72. Procedimiento de tratamiento según el apartado 71, en el que el cáncer se selecciona de los cánceres de

pulmón, mama, próstata, colon, ovarios, cabeza y cuello.

73. Procedimiento según cualquiera de los apartados 68-72, en el que dicho sujeto es un ser humano.

74. Un polipéptido que se une al EGFR según cualquiera de los apartados 1-51 para su empleo como medicamento.

75. Una combinación según cualquiera de los apartados 54-60 para su empleo como medicamento.

5 76. Un polipéptido que se une al EGFR según cualquiera de los apartados 1-51 para su empleo como agente de diagnóstico.

77. Una combinación según cualquiera de los apartados 54-60 para su empleo como agente de diagnóstico.

78. Utilización de un polipéptido que se une al EGFR según cualquiera de los apartados 1-51 o una combinación según cualquiera de los apartados 54-60 para la preparación de un agente de diagnóstico para el diagnóstico del  
10 cáncer *in vivo*.

79. Utilización de un polipéptido que se une al EGFR según cualquiera de los apartados 1-51 o una combinación según cualquiera de los apartados 54-60 para la preparación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.

**Listado de secuencias**

15 <110> AFFIBODY AB

<120> Polipéptidos

<130> 21055116

20

<150> GB 0524788.7

<151> 05-12-2005

<160> 329

25

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 29

30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

35

<400> 1

Glu Trp Ser Ala Ala Ala Ser Glu Ile Ser Gly Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Lys Leu Gln Ala Phe Ala Phe Ile Val Ser Leu Val Asp  
20 25

40 <210> 2

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 2

Glu Met Leu Ile Ala Met Glu Glu Ile Gly Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Trp Gly Gln Glu Gln Ala Phe Ile Leu Ser Leu Trp Asp  
20 25

50

ES 2 599 996 T3

- <210> 3  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 5 <213> Secuencia artificial
- <220>  
 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado
- 10 <400> 3
- Glu Thr Gly Ala Ala Met Arg Glu Ile Asn Asp Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15  
 Asn Leu Gln Phe Phe Ala Phe Ile Val Ser Leu Val Asp  
 20 25
- 15 <210> 4  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial
- 20 <220>  
 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado
- <400> 4
- Glu Phe Tyr Ala Ala Ile Thr Glu Ile Asn Arg Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15
- Gly Trp Gln Met Val Ala Phe Ile Ser Ser Leu Ser Asp  
 20 25
- 25 <210> 5  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 30 <213> Secuencia artificial
- <220>  
 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado
- 35 <400> 5
- Glu His Ala Lys Ala Met Trp Glu Ile Gly Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15
- Leu Val Gln Leu Ala Ala Phe Ile Phe Ser Leu Arg Asp  
 20 25
- <210> 6  
 40 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial
- <220>  
 45 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado
- <400> 6
- Glu Ser Leu Ala Ala Ser Val Glu Ile Ser His Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15
- Gly Ser Gln Cys Lys Ala Phe Ile Arg Ser Leu Met Asp  
 20 25
- 50 <210> 7

ES 2 599 996 T3

<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5 <220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 7

Glu Leu Glu Lys Ala Tyr Asn Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

10 Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 8  
<211> 29  
<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

20 <400> 8

Glu Ala Ala Pro Ala Trp Thr Glu Ile Val Arg Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Arg Gly Gln Lys Gln Ala Phe Ile Val Ser Leu His Asp  
20 25

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

<220>  
30 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 9

Glu Leu Trp Ile Ala Thr Ser Glu Ile Val Glu Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Met His Gln Gly Val Ala Phe Ile Arg Ser Leu Leu Asp  
20 25

35 <210> 10  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 10

45 Glu Val Gln Asn Ala Val Ala Glu Ile Val Lys Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Ser Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Ser Asp  
20 25

<210> 11

ES 2 599 996 T3

<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5 <220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 11

Glu Tyr Glu Glu Ala Trp Asn Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

10 Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 12  
<211> 29  
<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

20 <400> 12

Glu Ile Glu Arg Ala Met Gln Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 13

25 <211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 13

Glu Val Glu Thr Ala Trp Met Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

35

<210> 14  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

40

<220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 14

45

Glu Thr Glu Thr Ala Ile Gln Glu Ile Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

<210> 15

ES 2 599 996 T3

<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5 <220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 15

Glu Thr Asp Arg Ala Val Glu Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

10 Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

<210> 16  
<211> 29  
<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

20 <400> 16

Glu Met Trp Arg Ala Trp Glu Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 17

25 <211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 17

Glu Ser Gln Asp Ala Trp Glu Glu Ile Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

35

<210> 18  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

40

<220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 18

45

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

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

<210> 19

ES 2 599 996 T3

<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5 <220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 19

Glu Ser Trp Glu Ala Trp His Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

10 Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 20  
<211> 29  
<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

20 <400> 20

Glu Leu Tyr Asp Ala Met Ile Glu Ile Asn His Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 21

25 <211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 21

Glu Thr Asp Lys Ala Val Gln Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

35 Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

<210> 22  
<211> 29  
<212> PRT

40 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

45 <400> 22

Glu Gln Val Arg Ala Trp Glu Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 23

# ES 2 599 996 T3

<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5 <220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 23

Glu Leu Trp Gly Ala Trp Glu Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

10 Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 24  
<211> 29  
<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

20 <400> 24

Glu Arg Asp Ala Ala Trp Glu Glu Ile Arg His Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 25  
<211> 29  
<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 25

Glu Val Phe Pro Ala Leu Gln Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

35

<210> 26  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

40

<220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 26

45

Glu Val Glu Met Ala Thr Gln Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

<210> 27



ES 2 599 996 T3

<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5 <220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 27

Glu Leu Tyr Gln Ala Met Asp Glu Ile Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

10 Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 28  
<211> 29  
<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

20 <400> 28

Glu Ala Thr Glu Ala Trp Asp Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 29  
<211> 29  
<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 29

Glu Val Glu Trp Ala Leu Gln Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

35

<210> 30  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

40

<220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 30

45

Glu Val Ser Pro Ala Leu Glu Glu Ile Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

<210> 31

ES 2 599 996 T3

<211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 31

Glu Arg Glu Arg Ala Ile Glu Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

10 Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
 20 25

<210> 32  
 <211> 29  
 <212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

20 <400> 32

Glu Ala Glu Ser Ala Trp Asn Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
 20 25

25 <210> 33

<211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 33

Glu Phe Trp Trp Ala Ser Asp Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

35 Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Ala Asp  
 20 25

<210> 34  
 <211> 29  
 <212> PRT

40 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

45 <400> 34

Glu Met Trp Ser Ala Trp Glu Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
 20 25

<210> 35

50 <211> 29  
 <212> PRT

ES 2 599 996 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5

<400> 35

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

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

10 <210> 36

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 36

Glu Val Glu Lys Ala Trp Ser Glu Ile Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

20

<210> 37

<211> 29

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 37

Glu Arg Glu Lys Ala Trp Met Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 38

35 <211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

40 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 38

Glu Met Trp Ser Ala Trp Ser Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

45

<210> 39

<211> 29

<212> PRT

ES 2 599 996 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5

<400> 39

Glu Met Trp Ser Ala Trp Ala Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

10 <210> 40

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 40

Glu Arg Ser Leu Ala Ile Arg Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

20

<210> 41

<211> 29

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 41

Glu Arg Asp Thr Ala Ile Ser Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

<210> 42

35 <211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

40 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 42

Glu Met Trp Ala Ala Trp Gly Glu Ile His Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

45

<210> 43

<211> 29

<212> PRT

ES 2 599 996 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5

<400> 43

Glu Arg Asp Thr Ala Ile Tyr Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

10 <210> 44

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 44

Glu Pro Trp Leu Ala Trp Ala Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

20 Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 45

<211> 29

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 45

Glu Met Trp Asp Ala Trp Glu Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 46

35 <211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

40 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 46

Glu Asp Met Glu Ala Val Asp Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

45 <210> 47

<211> 29

<212> PRT

ES 2 599 996 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5

<400> 47

Glu Ala Glu His Ala Trp Glu Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

10 <210> 48

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 48

Glu Leu Trp Ile Ala Trp Asp Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

20

<210> 49

<211> 29

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 49

Glu Met Trp Asn Ala Trp Ser Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 50

35 <211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

40 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 50

Glu Ile Asn Ser Ala Ile Gly Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp

45

20 25

<210> 51

<211> 29

<212> PRT

50 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 51

5

Glu Met Trp Arg Ala Trp Glu Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 52

<211> 29

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

15

<400> 52

Glu Ser Trp Lys Ala Trp Glu Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

20

<210> 53

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 53

Glu Thr Glu Trp Ala Ile Gln Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

30

<210> 54

<211> 29

<212> PRT

35

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

40

<400> 54

Glu Ala Glu Phe Ala Trp Thr Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

45

<210> 55

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 55

5

Glu Leu Leu Val Ala Met Leu Glu Ile Asn His Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 56

<211> 29

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

15

<400> 56

Glu Arg Asp Phe Ala Ile Asp Glu Ile His Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

20

<210> 57

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 57

Glu Met Trp Ile Ala Trp Glu Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

30

<210> 58

<211> 29

<212> PRT

35

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

40

<400> 58

Glu Ser Asn Ser Ala Trp Gln Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 59

45

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial



ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 59

5

Glu Val Trp Thr Ala Trp Glu Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 60

<211> 29

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

15

<400> 60

Glu Pro Trp Met Ala Trp Asp Glu Ile Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

20

<210> 61

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 61

Glu Arg Asp Gly Ala Ile Gln Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

30

<210> 62

<211> 29

<212> PRT

35

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

40

<400> 62

Glu Lys Trp Thr Ala Trp Glu Glu Ile Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

45

<210> 63

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 63

5

Glu Met Trp His Ala Trp Asp Glu Ile Arg His Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 64

<211> 29

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

15

<400> 64

Glu Val Asp Gln Ala Val Ala Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

20 <210> 65

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 65

Glu Arg Tyr Trp Ala Ile Glu Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

30

<210> 66

<211> 29

<212> PRT

35 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

40 <400> 66

Glu Arg Glu Glu Ala Ile Ser Glu Ile His Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

<210> 67

45 <211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 67

5

Glu Met Glu Trp Ala Trp Gln Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 68

<211> 29

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

15

<400> 68

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

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

20

<210> 69

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 69

30

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

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

<210> 70

<211> 29

35

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

40

<400> 70

Glu Ala Asp Ser Ala Trp Thr Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

45

<210> 71

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

50

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

ES 2 599 996 T3

<400> 71

Glu Thr Asp Tyr Ala Ile Gly Glu Ile His Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

5

<210> 72

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 72

15

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

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

<210> 73

<211> 29

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

25

<400> 73

Glu Thr Asp Lys Ala Val Gln Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

30 <210> 74

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 74

Glu Leu Trp Ala Ala Trp Ser Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

40

<210> 75

<211> 29

<212> PRT

45 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

ES 2 599 996 T3

<400> 75

Glu Ala Trp Ala Ala Trp Ser Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

5

<210> 76

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 76

15

Glu Val Asp Arg Ala Val Val Glu Ile Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

<210> 77

<211> 29

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

25

<400> 77

Glu Ala Glu Ser Ala Ile Glu Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

30 <210> 78

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 78

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

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

40

<210> 79

<211> 29

<212> PRT

45 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

ES 2 599 996 T3

<400> 79

Glu Val Asp Thr Ala Ile Trp Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

5 Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

<210> 80

<211> 29

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

15 <400> 80

Glu Leu Ala Asn Ala Phe Asp Glu Ile His Arg Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 81

20 <211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 81

Glu Phe Arg Arg Ala Ser Asp Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Ala Asp  
20 25

30

<210> 82

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 82

40

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

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 83

<211> 29

45 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

ES 2 599 996 T3

<400> 83

Glu Met Trp Glu Ala Trp Asp Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

5

<210> 84

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 84

15

Glu Ser Lys Trp Ala Trp Glu Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 85

<211> 29

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

25

<400> 85

Glu Met Trp Arg Ala Trp Glu Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

30 <210> 86

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 86

Glu Ile Asp Pro Ala Leu Gln Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

40 Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

<210> 87

<211> 29

45 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

ES 2 599 996 T3

<400> 87

Glu Met Trp Ala Ala Trp Glu Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

5

<210> 88

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 88

15

Glu Lys Tyr Trp Ala Val Asp Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

<210> 89

<211> 29

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

25

<400> 89

Glu His Trp Ala Ala Trp His Glu Ile Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

30 <210> 90

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 90

Glu Tyr Gln Thr Ala Trp Lys Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

40

<210> 91

<211> 29

<212> PRT

45 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado



ES 2 599 996 T3

<400> 91

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

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

5

<210> 92

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 92

15

Glu Met Trp Asn Ala Trp His Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 93

<211> 29

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

25

<400> 93

Glu Pro Trp Val Ala Trp Asn Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

30 <210> 94

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 94

Glu Leu Ile Gly Ala Tyr Asp Glu Ile Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Ala Asp  
20 25

40

<210> 95

<211> 29

<212> PRT

45 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

ES 2 599 996 T3

<400> 95

Glu Arg Asp Tyr Ala Leu Trp Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

5

<210> 96

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 96

15

Glu Thr Gln Asp Ala Trp Asp Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 97

<211> 29

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

25

<400> 97

Glu Met Trp Glu Ala Trp Gly Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

30

<210> 98

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 98

40

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

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 99

<211> 29

45 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

50

<400> 99

ES 2 599 996 T3

Glu Leu Trp Gln Ala Trp Gly Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 100

5 <211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 100

Glu Val Glu Arg Ala Trp Asn Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

15

<210> 101

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 101

25

Glu Met Trp Glu Ala Trp Gly Glu Ile Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 102

<211> 29

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

35

<400> 102

Glu Arg Thr Gln Ala Ile Arg Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

40 <210> 103

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 103

ES 2 599 996 T3

Glu Thr Glu Glu Ala Trp Glu Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 104

5 <211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 104

Glu Ala Glu Thr Ala Trp Ser Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

15

<210> 105

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 105

25

Glu Met Trp Cys Ala Trp Asn Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 106

<211> 29

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

35

<400> 106

Glu Arg Asp Tyr Ala Ile Glu Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

40 <210> 107

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 107

# ES 2 599 996 T3

Glu Met Trp Ser Ala Trp Asp Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 108

5 <211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 108

Glu Met Trp Thr Ala Trp His Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

15

<210> 109

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 109

25

Glu Thr Asp Arg Ala Val Arg Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

<210> 110

<211> 29

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

35

<400> 110

Glu Thr Trp Arg Ala Trp His Glu Ile Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

40 <210> 111

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 111

ES 2 599 996 T3

Glu Met Trp Leu Ala Trp Gln Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 112

5 <211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 112

Glu Val Asp Tyr Ala Ile Gln Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

15

<210> 113

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 113

25

Glu Met Glu Ser Ala Trp Ile Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 114

<211> 29

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

35

<400> 114

Glu Thr Glu Glu Ala Trp Glu Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

40 <210> 115

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 115

ES 2 599 996 T3

Glu Ser Glu Ala Ala Leu Gln Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15  
 Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
 20 25

- 5 <210> 116
- <211> 29
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- 10 <220>
- <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 116

Glu Phe Arg Lys Ala Ser Asn Glu Ile Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

- 15 Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Ala Asp  
 20 25

<210> 117

<211> 29

<212> PRT

- 20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

- 25 <400> 117

Glu Val Gln Leu Ala Trp Asp Glu Ile Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
 20 25

<210> 118

- 30 <211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

- 35 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 118

Glu Ala Asp Arg Ala Trp Glu Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
 20 25

- 40 <210> 119

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

- 45 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 119

- 50

ES 2 599 996 T3

Glu Ile Lys Pro Ala Ile Arg Glu Ile His Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
 20 25

<210> 120

<211> 29

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 120

Glu Leu Asp Gln Ala Ile Leu Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
 20 25

15 <210> 121

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 121

Glu Pro Trp Ile Ala Trp His Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
 25 20 25

<210> 122

<211> 29

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

35 <400> 122

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

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
 20 25

<210> 123

40 <211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

45 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 123



ES 2 599 996 T3

Glu Phe Asp Lys Ala Val Ser Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
 20 25

<210> 124

<211> 29

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 124

Glu Val Asp Val Ala Met Gln Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
 20 25

15 <210> 125

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 125

Glu Thr Asn Ala Ala Leu Glu Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
 25 20 25

<210> 126

<211> 29

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

35 <400> 126

Glu Ala Glu Lys Ala Trp Glu Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
 20 25

<210> 127

40 <211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

45 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 127

ES 2 599 996 T3

Glu Pro Trp Leu Ala Trp Ser Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 128

<211> 29

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 128

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

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

15 <210> 129

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 129

Glu Trp Glu Val Ala Met Glu Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
25 20 25

25 <210> 130

<211> 29

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

35 <400> 130

Glu Val Glu Ser Ala Trp Thr Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 131

40 <211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

45 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 131

ES 2 599 996 T3

Glu Thr Asp Arg Ala Trp Asp Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
 20 25

<210> 132

<211> 29

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 132

Glu Arg Glu Gln Ala Thr Glu Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
 20 25

15 <210> 133

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 133

Glu Met Glu His Ala Trp Glu Glu Ile Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
 25 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
 20 25

<210> 134

<211> 29

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

35

<400> 134

Glu His Trp Asn Ala Leu His Glu Ile Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Gly Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
 20 25

40 <210> 135

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 135

ES 2 599 996 T3

Glu Tyr Glu Ala Ala Trp Asp Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
 20 25

<210> 136

<211> 29

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 136

Glu Gly Glu Met Ala Leu Gln Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
 20 25

15 <210> 137

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 137

Glu Phe Arg Trp Ala Ser Asp Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Ala Asp  
 25 20 25

25 <210> 138

<211> 29

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

35 <400> 138

Glu His Trp Asn Ala Leu His Glu Ile Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
 20 25

<210> 139

40 <211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

45 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 139

ES 2 599 996 T3

Glu Ile Asp Tyr Ala Ile Arg Glu Ile His Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
 20 25

<210> 140

<211> 29

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 140

Glu Leu Leu Gln Ala Met Leu Glu Ile Asn His Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
 20 25

15 <210> 141

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 141

Glu Val Asn Pro Ala Leu Gln Glu Ile Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
 25 20 25

<210> 142

<211> 29

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

35 <400> 142

Glu Leu Leu Ser Ala Met Leu Glu Ile Asn His Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
 20 25

<210> 143

40 <211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

45 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 143

ES 2 599 996 T3

Glu Arg Asp Glu Ala Ile Gln Glu Ile His Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

<210> 144

<211> 29

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 144

Glu Thr Asp Trp Ala Ile Gln Glu Ile Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

15

<210> 145

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 145

25

Glu Met Glu Lys Ala Trp Val Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
20 25

<210> 146

<211> 29

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

35

<400> 146

Glu Leu Asp Asn Ala Ile Asp Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Phe Asp  
20 25

40 <210> 147

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 147

ES 2 599 996 T3

Glu Met Trp Ile Ala Trp Glu Glu Ile Arg Asp Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Leu Asp  
20 25

<210> 148

<211> 29

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 148

Glu Met Trp Leu Ala Trp Glu Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Leu Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Leu Asp  
20 25

15 <210> 149

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 149

Glu Met Trp Ser Ala Trp Asp Glu Ile Arg Ala Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ser Ser Leu Leu Asp  
25 25

25 <210> 150

<211> 29

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

35 <400> 150

Glu Met Trp Asn Ala Trp Asn Glu Ile Arg Asp Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Leu Asp  
20 25

<210> 151

40 <211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

45 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 151

ES 2 599 996 T3

Glu Met Trp Gly Ala Trp Asn Glu Ile Arg Asp Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ser Ser Leu Leu Asp  
20 25

5 <210> 152  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 152

Glu Met Trp Ile Ala Trp Asp Glu Ile Arg Asp Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Phe Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Leu Asp  
20 25

15 <210> 153  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 153

25 Glu Leu Trp Ile Ala Trp Asp Glu Ile Arg Tyr Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Leu Asp  
20 25

30 <210> 154  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

35 <220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 154

Glu Met Trp Lys Ala Trp Glu Glu Ile Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Leu Asp  
20 25

40 <210> 155  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

45 <220>  
<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 155



ES 2 599 996 T3

Glu Met Trp Asp Ala Trp Gly Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Leu Asp  
20 25

<210> 156

<211> 29

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 156

Glu Val Trp Val Ala Trp Glu Glu Ile Arg Asp Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Leu Asp  
20 25

15 <210> 157

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 157

Glu Met Trp Gly Ala Trp Glu Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Val Asp  
25 25

30 <210> 158

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

35 <400> 158

Glu Met Trp Met Ala Trp Asp Glu Ile Arg Tyr Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Leu Thr Ala Phe Ile Ser Ser Leu Leu Asp  
20 25

<210> 159

40 <211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

45 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 159

ES 2 599 996 T3

Glu Met Trp Val Ala Trp Glu Glu Ile Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Gly Ser Leu Leu Asp  
 20 25

<210> 160

<211> 29

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 160

Glu Met Trp Asp Ala Trp Asp Glu Ile Arg Tyr Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Phe Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Leu Asp  
 20 25

15 <210> 161

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 161

Glu Leu Trp Gly Ala Trp Asp Glu Ile Arg Tyr Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala Ser Leu Leu Asp  
 25 20 25

<210> 162

<211> 29

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

35 <400> 162

Glu Ser Trp Asn Ala Val Lys Glu Ile Gly Glu Leu Pro Asn Leu Asn  
 1 5 10 15

Trp Gly Gln Ala Asp Ala Phe Ile Asn Ser Leu Trp Asp  
 20 25

40 <210> 163

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 163

ES 2 599 996 T3

Glu Ser His Glu Val Trp Gln Glu Ile Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Gly Trp Gln Leu Thr Ala Phe Ile Asn Ser Leu Leu Asp  
20 25

<210> 164

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 164

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Trp Ser Ala Ala Ala Ser Glu Ile  
1 5 10 15

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

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 165

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 165

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

25 Gly Ser Leu Pro Asn Leu Asn Trp Gly Gln Glu Gln Ala Phe Ile Leu  
20 25 30

Ser Leu Trp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 166

<211> 58

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

35

<400> 166

ES 2 599 996 T3

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

Asn Asp Leu Pro Asn Leu Asn Asn Leu Gln Phe Phe Ala Phe Ile Val  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 167

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 167

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Phe Tyr Ala Ala Ile Thr Glu Ile  
1 5 10 15

Asn Arg Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Val Ala Phe Ile Ser  
20 25 30

Ser Leu Ser Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 168

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 168

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu His Ala Lys Ala Met Trp Glu Ile  
1 5 10 15

Gly Asn Leu Pro Asn Leu Asn Leu Val Gln Leu Ala Ala Phe Ile Phe  
20 25 30

Ser Leu Arg Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 169

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 169

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

Ser His Leu Pro Asn Leu Asn Gly Ser Gln Cys Lys Ala Phe Ile Arg  
20 25 30

Ser Leu Met Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 170

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 170

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Leu Glu Lys Ala Tyr Asn Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 171

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 171

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ala Ala Pro Ala Trp Thr Glu Ile  
1 5 10 15

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

Ser Leu His Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 172

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 172

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

Val Glu Leu Pro Asn Leu Asn Met His Gln Gly Val Ala Phe Ile Arg  
20 25 30

Ser Leu Leu Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 173

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 173

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

Val Lys Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Ser Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Ser Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 174

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 174

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Tyr Glu Glu Ala Trp Asn Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 175

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 175

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ile Glu Arg Ala Met Gln Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 176

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 176

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Val Glu Thr Ala Trp Met Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 177

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 177

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Thr Glu Thr Ala Ile Gln Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 178

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 178

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Thr Asp Arg Ala Val Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 179

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial



ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 179

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Arg Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 180

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 180

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ser Gln Asp Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 181

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 181

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Arg Glu Glu Ala Ile Lys Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 182

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 182

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ser Trp Glu Ala Trp His Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 183

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 183

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Leu Tyr Asp Ala Met Ile Glu Ile  
1 5 10 15

Asn His Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 184

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 184

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Thr Asp Lys Ala Val Gln Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 185

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 185

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Gln Val Arg Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 186

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 186

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Leu Trp Gly Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 187

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 187

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Arg Asp Ala Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg His Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 188

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 188

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

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 189

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 189

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Val Glu Met Ala Thr Gln Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 190

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 190

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

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 191

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 191

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ala Thr Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 192

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 192

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

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 193

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 193

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

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 194

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 194

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Arg Glu Arg Ala Ile Glu Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 195

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 195

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ala Glu Ser Ala Trp Asn Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 196

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 196

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Phe Trp Trp Ala Ser Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Ala Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 197

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 197

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Ser Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 198

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 198

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu His Trp Asn Ala Met His Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 199

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial



# ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 199

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Val Glu Lys Ala Trp Ser Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 200

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 200

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Arg Glu Lys Ala Trp Met Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 201

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 201

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Ser Ala Trp Ser Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 202

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 202

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Ser Ala Trp Ala Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 203

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 203

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Arg Ser Leu Ala Ile Arg Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 204

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

# ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 204

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Arg Asp Thr Ala Ile Ser Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 205

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 205

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Ala Ala Trp Gly Glu Ile  
1 5 10 15

His Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 206

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 206

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Arg Asp Thr Ala Ile Tyr Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 207

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 207

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

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 208

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 208

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Asp Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 209

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 209

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Asp Met Glu Ala Val Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 210

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 210

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ala Glu His Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 211

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 211

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Leu Trp Ile Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 212

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 212

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Asn Ala Trp Ser Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 213

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 213

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

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 214

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 214

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Arg Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 215

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 215

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ser Trp Lys Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 216

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 216

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Thr Glu Trp Ala Ile Gln Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 217

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 217

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ala Glu Phe Ala Trp Thr Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 218

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 218

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

Asn His Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 219

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial



ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 219

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Arg Asp Phe Ala Ile Asp Glu Ile  
1 5 10 15

His Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 220

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 220

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Ile Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 221

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 221

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ser Asn Ser Ala Trp Gln Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 222

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 222

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Val Trp Thr Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 223

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 223

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Pro Trp Met Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 224

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 224

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Arg Asp Gly Ala Ile Gln Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 225

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 225

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Lys Trp Thr Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 226

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 226

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp His Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Arg His Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 227

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 227

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

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 228

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 228

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Arg Tyr Trp Ala Ile Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 229

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

# ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 229

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

His Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 230

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 230

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Glu Trp Ala Trp Gln Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 231

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 231

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Val Glu Pro Ala Ile Arg Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 232

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 232

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

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 233

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 233

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ala Asp Ser Ala Trp Thr Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 234

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 234

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Thr Asp Tyr Ala Ile Gly Glu Ile  
1 5 10 15

His Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 235

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 235

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

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 236

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 236

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Thr Asp Lys Ala Val Gln Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 237

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 237

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Leu Trp Ala Ala Trp Ser Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 238

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 238

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ala Trp Ala Ala Trp Ser Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 239

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial



# ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 239

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Val Asp Arg Ala Val Val Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 240

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 240

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ala Glu Ser Ala Ile Glu Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 241

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 241

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Leu Gly Gly Ala Val Asn Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 242

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 242

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Val Asp Thr Ala Ile Trp Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 243

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 243

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

His Arg Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 244

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 244

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

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Ala Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 245

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 245

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ile Glu Lys Ala Ile Arg Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 246

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 246

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Glu Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 247

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 247

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ser Lys Trp Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 248

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 248

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Arg Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 249

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 249

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

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 250

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 250

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Ala Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 251

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 251

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Lys Tyr Trp Ala Val Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 252

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 252

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu His Trp Ala Ala Trp His Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 253

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 253

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Tyr Gln Thr Ala Trp Lys Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 254

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 254

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Thr Asp Arg Ala Ile Lys Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 255

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 255

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Asn Ala Trp His Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 256

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 256

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Pro Trp Val Ala Trp Asn Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 257

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 257

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Leu Ile Gly Ala Tyr Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Ala Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 258

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 258

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Arg Asp Tyr Ala Leu Trp Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 259

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial



ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 259

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Thr Gln Asp Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 260

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 260

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Glu Ala Trp Gly Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 261

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 261

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Ser Ala Trp His Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 262

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 262

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

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 263

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 263

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Val Glu Arg Ala Trp Asn Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 264

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

# ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 264

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Glu Ala Trp Gly Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 265

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 265

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Arg Thr Gln Ala Ile Arg Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 266

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 266

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Thr Glu Glu Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 267

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 267

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ala Glu Thr Ala Trp Ser Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 268

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 268

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

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 269

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 269

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Arg Asp Tyr Ala Ile Glu Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 270

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 270

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Ser Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 271

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 271

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Thr Ala Trp His Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 272

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 272

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Thr Asp Arg Ala Val Arg Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 273

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 273

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Thr Trp Arg Ala Trp His Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 274

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 274

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

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 275

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 275

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Val Asp Tyr Ala Ile Gln Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 276

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 276

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Glu Ser Ala Trp Ile Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 277

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 277

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Thr Glu Glu Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 278

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 278

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

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 279

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial



ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 279

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

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Ala Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 280

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 280

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

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 281

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 281

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ala Asp Arg Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 282

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 282

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ile Lys Pro Ala Ile Arg Glu Ile  
1 5 10 15

His Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 283

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 283

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

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 284

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 284

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Pro Trp Ile Ala Trp His Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 285

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 285

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Arg Asp Val Ala Ile Thr Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 286

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 286

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Phe Asp Lys Ala Val Ser Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 287

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 287

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

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 288

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 288

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

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 289

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 289

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ala Glu Lys Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 290

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 290

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Pro Trp Leu Ala Trp Ser Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 291

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 291

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Gly Leu Asn Ala Val Asn Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 292

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 292

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Trp Glu Val Ala Met Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 293

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 293

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Val Glu Ser Ala Trp Thr Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 294

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 294

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Thr Asp Arg Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 295

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 295

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Arg Glu Gln Ala Thr Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 296

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 296

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Glu His Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 297

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 297

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu His Trp Asn Ala Leu His Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Gly Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 298

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 298

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Tyr Glu Ala Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 299

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial



ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 299

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

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 300

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 300

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Phe Arg Trp Ala Ser Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Ala Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 301

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 301

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu His Trp Asn Ala Leu His Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 302

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 302

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ile Asp Tyr Ala Ile Arg Glu Ile  
1 5 10 15

His Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 303

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 303

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

Asn His Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 304

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 304

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

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 305

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 305

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Leu Leu Ser Ala Met Leu Glu Ile  
1 5 10 15

Asn His Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 306

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 306

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Arg Asp Glu Ala Ile Gln Glu Ile  
1 5 10 15

His Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 307

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 307

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Thr Asp Trp Ala Ile Gln Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 308

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 308

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Glu Lys Ala Trp Val Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 309

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 309

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

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Phe Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 310

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 310

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Ile Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asp Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Leu Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 311

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 311

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Leu Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Leu Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Leu Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 312

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 312

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Ser Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Ala Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ser  
20 25 30

Ser Leu Leu Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 313

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 313

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Asn Ala Trp Asn Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asp Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Leu Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 314

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 314

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Gly Ala Trp Asn Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asp Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ser  
20 25 30

Ser Leu Leu Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 315

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 315

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Ile Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asp Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Phe Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Leu Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 316

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 316

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Leu Trp Ile Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Tyr Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Leu Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 317

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 317

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Lys Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Leu Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 318

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 318

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Asp Ala Trp Gly Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Leu Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 319

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial



ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 319

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Val Trp Val Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asp Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Leu Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 320

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 320

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Gly Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Val Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 321

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 321

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Met Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Tyr Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Leu Thr Ala Phe Ile Ser  
20 25 30

Ser Leu Leu Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 322

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 322

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Val Ala Trp Glu Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Asn Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Gly  
20 25 30

Ser Leu Leu Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

15 <210> 323

<211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 323

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Met Trp Asp Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Tyr Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Phe Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Leu Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

25

<210> 324

<211> 58

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

ES 2 599 996 T3

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

5 <400> 324

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Leu Trp Gly Ala Trp Asp Glu Ile  
1 5 10 15

Arg Tyr Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Met Thr Ala Phe Ile Ala  
20 25 30

Ser Leu Leu Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

<210> 325

10 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

<400> 325

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ser Trp Asn Ala Val Lys Glu Ile  
1 5 10 15

Gly Glu Leu Pro Asn Leu Asn Trp Gly Gln Ala Asp Ala Phe Ile Asn  
20 25 30

Ser Leu Trp Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
50 55

20

<210> 326

<211> 58

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

30 <400> 326

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Ser His Glu Val Trp Gln Glu Ile  
 1 5 10 15

Arg Ser Leu Pro Asn Leu Asn Gly Trp Gln Leu Thr Ala Phe Ile Asn  
 20 25 30

Ser Leu Leu Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
 35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
 50 55

<210> 327

<211> 58

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido que se une a EGFR genéticamente modificado

10

<400> 327

Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Gln Gln Asn Ala Phe Tyr Glu Ile  
 1 5 10 15

Leu His Leu Pro Asn Leu Asn Glu Glu Gln Arg Asn Ala Phe Ile Gln  
 20 25 30

Ser Leu Lys Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala  
 35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys  
 50 55

15 <210> 328

<211> 1210

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20 <400> 328

ES 2 599 996 T3

Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala  
1 5 10 15

Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln  
20 25 30

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

Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn  
50 55 60

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

Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val  
85 90 95

Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr  
100 105 110

Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn  
115 120 125

Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu  
130 135 140

His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu  
145 150 155 160

Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met  
165 170 175

Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro  
180 185 190

Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln  
195 200 205

Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg  
210 215 220

Gly Lys Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys  
225 230 235 240

ES 2 599 996 T3

Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp  
 245 250 255

Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro  
 260 265 270

Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly  
 275 280 285

Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His  
 290 295 300

Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu  
 305 310 315 320

Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val  
 325 330 335

Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn  
 340 345 350

Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp  
 355 360 365

Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr  
 370 375 380

Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu  
 385 390 395 400

Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp  
 405 410 415

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

His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu  
 435 440 445

Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser  
 450 455 460

Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu  
 465 470 475 480

Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu  
 485 490 495

Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro

ES 2 599 996 T3

500 505 510

Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn  
515 520 525

Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly  
530 535 540

Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro  
545 550 555 560

Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro  
565 570 575

Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val  
580 585 590

Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp  
595 600 605

Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys  
610 615 620

Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro Thr Asn Gly  
625 630 635 640

Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Val Gly Ala Leu Leu Leu  
645 650 655

Leu Leu Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met Arg Arg Arg His  
660 665 670

Ile Val Arg Lys Arg Thr Leu Arg Arg Leu Leu Gln Glu Arg Glu Leu  
675 680 685

Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly Glu Ala Pro Asn Gln Ala Leu Leu  
690 695 700

Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Phe Lys Lys Ile Lys Val Leu Gly Ser  
705 710 715 720

Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys Gly Leu Trp Ile Pro Glu Gly Glu  
725 730 735

Lys Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu Arg Glu Ala Thr Ser  
740 745 750

Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Ser  
755 760 765

ES 2 599 996 T3

Val Asp Asn Pro His Val Cys Arg Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser  
770 775 780

Thr Val Gln Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Phe Gly Cys Leu Leu Asp  
785 790 795 800

Tyr Val Arg Glu His Lys Asp Asn Ile Gly Ser Gln Tyr Leu Leu Asn  
805 810 815

Trp Cys Val Gln Ile Ala Lys Gly Met Asn Tyr Leu Glu Asp Arg Arg  
820 825 830

Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Lys Thr Pro  
835 840 845

Gln His Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu Leu Gly Ala  
850 855 860

Glu Glu Lys Glu Tyr His Ala Glu Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp  
865 870 875 880

Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu His Arg Ile Tyr Thr His Gln Ser Asp  
885 890 895

Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ser  
900 905 910

Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala Ser Glu Ile Ser Ser Ile Leu Glu  
915 920 925

Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr  
930 935 940

Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ala Asp Ser Arg Pro Lys  
945 950 955 960

Phe Arg Glu Leu Ile Ile Glu Phe Ser Lys Met Ala Arg Asp Pro Gln  
965 970 975

Arg Tyr Leu Val Ile Gln Gly Asp Glu Arg Met His Leu Pro Ser Pro  
980 985 990

Thr Asp Ser Asn Phe Tyr Arg Ala Leu Met Asp Glu Glu Asp Met Asp  
995 1000 1005

Asp Val Val Asp Ala Asp Glu Tyr Leu Ile Pro Gln Gln Gly Phe  
1010 1015 1020



ES 2 599 996 T3

Phe Ser Ser Pro Ser Thr Ser Arg Thr Pro Leu Leu Ser Ser Leu  
 1025 1030 1035

Ser Ala Thr Ser Asn Asn Ser Thr Val Ala Cys Ile Asp Arg Asn  
 1040 1045 1050

Gly Leu Gln Ser Cys Pro Ile Lys Glu Asp Ser Phe Leu Gln Arg  
 1055 1060 1065

Tyr Ser Ser Asp Pro Thr Gly Ala Leu Thr Glu Asp Ser Ile Asp  
 1070 1075 1080

Asp Thr Phe Leu Pro Val Pro Glu Tyr Ile Asn Gln Ser Val Pro  
 1085 1090 1095

Lys Arg Pro Ala Gly Ser Val Gln Asn Pro Val Tyr His Asn Gln  
 1100 1105 1110

Pro Leu Asn Pro Ala Pro Ser Arg Asp Pro His Tyr Gln Asp Pro  
 1115 1120 1125

His Ser Thr Ala Val Gly Asn Pro Glu Tyr Leu Asn Thr Val Gln  
 1130 1135 1140

Pro Thr Cys Val Asn Ser Thr Phe Asp Ser Pro Ala His Trp Ala  
 1145 1150 1155

Gln Lys Gly Ser His Gln Ile Ser Leu Asp Asn Pro Asp Tyr Gln  
 1160 1165 1170

Gln Asp Phe Phe Pro Lys Glu Ala Lys Pro Asn Gly Ile Phe Lys  
 1175 1180 1185

Gly Ser Thr Ala Glu Asn Ala Glu Tyr Leu Arg Val Ala Pro Gln  
 1190 1195 1200

Ser Ser Glu Phe Ile Gly Ala  
 1205 1210

<210> 329

<211> 621

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 329

Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln  
 1 5 10 15

10 Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn

# ES 2 599 996 T3

20	25	30
Asn Cys Glu Val Val Leu Gly 35	Asn Leu Glu Ile Thr Tyr 40	Val Gln Arg 45
Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr 50	55	60
Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu 65	70	75 80
Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala 85	90	95
Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro 100	105	110
Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn 115	120	125
Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val 130	135	140
Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu 145	150	155 160
Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp 165	170	175
Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala 180	185	190
Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg Gly Lys Ser Pro Ser Asp Cys Cys 195	200	205
His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys 210	215	220
Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys 225	230	235 240
Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn 245	250	255
Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro 260	265	270
Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly 275	280	285

ES 2 599 996 T3

Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys  
 290 295 300

Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu  
 305 310 315 320

Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys  
 325 330 335

Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe  
 340 345 350

Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu  
 355 360 365

Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln  
 370 375 380

Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu  
 385 390 395 400

Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val  
 405 410 415

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

Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala  
 435 440 445

Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr  
 450 455 460

Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln  
 465 470 475 480

Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro  
 485 490 495

Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val  
 500 505 510

Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn  
 515 520 525

Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn  
 530 535 540

ES 2 599 996 T3

Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His  
545 550 555 560

Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met  
565 570 575

Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val  
580 585 590

Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly  
595 600 605

Leu Glu Gly Cys Pro Thr Asn Gly Pro Lys Ile Pro Ser  
610 615 620

## REIVINDICACIONES

1. Polipéptido que se une al receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), que comprende un motivo de unión al receptor del factor de crecimiento epidérmico, EBM, motivo que consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
- 5 i) EMWX<sub>4</sub>AWX<sub>7</sub>EIR X<sub>11</sub>LPNLNGWQM TAFIASLLD,  
 en donde, independientemente uno de otro,  
 X<sub>4</sub> se selecciona de I, V, G y S;  
 X<sub>7</sub> se selecciona de D, E, N y K; y  
 X<sub>11</sub> se selecciona de D, N y E;
- 10 y
- ii) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 93% de identidad con la secuencia definida en i);  
 el polipéptido que se une al EGFR que se une al EGFR de modo que el valor K<sub>D</sub> de la interacción es como máximo 10 µM, tal que como máximo 1 x 10<sup>-6</sup> M, tal que como máximo 1 x 10<sup>-7</sup> M.
2. Polipéptido que se une al EGFR según la reivindicación 1, en donde la secuencia de aminoácidos del EBM se selecciona del grupo consistente en las SEQ. ID. n° 16, n° 34, n° 39, n° 93, n° 105, n° 107, n° 149, n° 154 y n° 155.
- 15 3. Polipéptido que se une al EGFR según cualquier reivindicación precedente, en que la secuencia de aminoácidos ii) tiene al menos 96% de identidad con la secuencia definida en i).
4. Polipéptido que se une al EGFR según cualquier reivindicación precedente, en donde la secuencia de aminoácidos i) es la SEQ. ID. n° 147.
- 20 5. Polipéptido que se une al EGFR según cualquier reivindicación precedente, en el que dicho motivo que se une a EGFR forma parte de un dominio de la proteína con haz de tres hélices, por ejemplo esencialmente que forma parte de dos hélices alfa y un bucle que les conecta, dentro de dicho dominio de la proteína con haz de tres hélices.
- 25 6. Polipéptido que se une al EGFR según cualquier reivindicación precedente, en el que dicho dominio de la proteína con haz de tres hélices se selecciona de los dominios proteínas receptoras bacterianas, por ejemplo se selecciona de los dominios de la proteína A de *Staphylococcus aureus* o de uno de sus derivados.
- 30 7. Polipéptido que se une al EGFR según cualquier reivindicación precedente, que comprende además un dominio de unión a la albúmina de la proteína G estreptocócica, o uno de sus derivados, que aumenta la vida media del polipéptido que se une al EGFR en aplicaciones terapéuticas.
8. Polipéptido que se une al EGFR según cualquier reivindicación precedente, que se une al dominio extracelular de EGFR.
9. Un polinucleótido que codifica un polipéptido según cualquier reivindicación precedente.
- 35 10. Procedimiento de producción de un polipéptido según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, procedimiento que comprende la expresión de un polinucleótido según la reivindicación 9.
11. Combinación de un polipéptido que se une a EGFR según cualquiera de las reivindicaciones 1-8 y un agente detectable, en donde el agente detectable puede seleccionarse de una sustancia radiactiva, tal como un radionúclido, y una enzima.
- 40 12. Combinación de un polipéptido que se une a EGFR según cualquiera de las reivindicaciones 1-8 y un agente terapéutico.
13. Método de detección de EGFR, que comprende poner en contacto una muestra que se sospecha que contiene un EGFR con un polipéptido que se une al EGFR según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, o una combinación según cualquiera de las reivindicaciones 11-12 y detectar la unión del polipéptido o la combinación para indicar la presencia de un EGFR en la muestra.
- 45 14. Procedimiento de separación o captura de EGFR de una muestra, que comprende poner en contacto la muestra con un polipéptido que se une a EGFR según cualquiera de las reivindicaciones 1-8 o una combinación según cualquiera de las reivindicaciones 11-12, con lo cual EGFR se une al polipéptido y puede eliminarse de la muestra.

15. Un polipéptido que se une al EGFR según cualquiera de las reivindicaciones 1-8 o una combinación según cualquiera de las reivindicaciones 11-12 para su uso como medicamento.

16. El polipéptido que se une al EGFR o una combinación para su utilización según la reivindicación 15, como medicamento para tratamiento de una enfermedad relacionada con EGFR, por ejemplo un cáncer seleccionado de los cánceres de pulmón, mama, próstata, colon, ovarios, cabeza y cuello.

17. Un polipéptido que se une al EGFR según cualquiera de las reivindicaciones 1-8 o una combinación según cualquiera de las reivindicaciones 11-12 para su uso como agente de diagnóstico.

18. El polipéptido que se une al EGFR o una combinación para su utilización según la reivindicación 17, como agente de diagnóstico para diagnóstico de cáncer.

# FIGURA 1

Polipéptido	Secuencia de aminoácidos SEQ. ID. n°	
EBM00940	EWSAASEISGLPNLKLQAFAFIVSLVD	1
EBM00942	EMLIAMEEIGSLPNLNGWQEQAFILSLWD	2
EBM00947	ETGAAMREINDLPNLNLLQFFAFIVSLVD	3
EBM00948	EFYAAITEINRRLPNLNGWQMVAFISSLSD	4
EBM00949	EHAKAMWEIGNLPNLNIVQLAAAFIFSLRD	5
EBM00951	ESLAASVEISHLPNLNGSQCKAFIRSLMD	6
EBM00955	ELEKAYNEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVD	7
EBM00956	EAAPAWTEIVRLLPNLNRGQKQAFIVSLHD	8
EBM00957	ELWIATSEIVEIPELNLNMHQGVAFIRSLLD	9
EBM01239	EVQNAVAEIVKLPNLNGWQSTAFIASLSD	10
EBM01831	EYEEAWNEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVD	11
EBM01832	EIERAMQEIIRNLPNLNGWQMTAFIASLVD	12
EBM01833	EVETAWMEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVD	13
EBM01834	ETETAIQEIIRSLPNLNGWQMTAFIASLFD	14
EBM01835	ETDRAVEEIRNLPNLNGWQMTAFIASLFD	15
EBM01836	EMWRAWEEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVD	16
EBM01837	ESQDAWEEIRSLPNLNGWQMTAFIASLVD	17
EBM01838	EREEAIKEIHNLPNLNGWQMTAFIASLFD	18
EBM01839	ESWEAWHEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVD	19
EBM01840	ELYDAMIEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVD	20
EBM01841	ETDKAVQEIHNLPNLNGWQMTAFIASLFD	21
EBM01842	EQVRAWEEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVD	22
EBM01843	ELWGAWEEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVD	23
EBM01844	ERDAAWEEIRHLPNLNGWQMTAFIASLVD	24
EBM01845	EVFPALQEIIRNLPNLNGWQMTAFIASLFD	25
EBM01846	EVEMATQEIIRNLPNLNGWQMTAFIASLFD	26
EBM01847	ELYQAMDEIRSLPNLNGWQMTAFIASLVD	27
EBM01848	EATEAWDEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVD	28
EBM01849	EVEWALQEIIRNLPNLNGWQMTAFIASLFD	29
EBM01850	EVSPALEEIRSLPNLNGWQMTAFIASLFD	30
EBM01851	ERERAIEEIHNLPNLNGWQMTAFIASLFD	31
EBM01852	EAEASAWNEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVD	32

FIGURA 1

Polipéptido	Secuencia de aminoácidos SEQ. ID. n°	
EBM01853	EFWASDEIRNLPNLSNGWQMTAFIASLAD	33
EBM01854	EMWSAWEEIHNLPNLSNGWQMTAFIASLVD	34
EBM01855	EHWNAMHEIRSLPNLSNGWQMTAFIASLFD	35
EBM01856	EVEKAWSEIRSLPNLSNGWQMTAFIASLVD	36
EBM01857	EREKAWMEIRNLPNLSNGWQMTAFIASLVD	37
EBM01858	EMWSAWSEIHNLPNLSNGWQMTAFIASLVD	38
EBM01859	EMWSAWAEIRNLPNLSNGWQMTAFIASLVD	39
EBM01860	ERSLAIREIHNLPNLSNGWQMTAFIASLFD	40
EBM01861	ERDTAISEIRNLPNLSNGWQMTAFIASLFD	41
EBM01862	EMWAAWGEIHSLPNLSNGWQMTAFIASLVD	42
EBM01863	ERDTAIEIRNLPNLSNGWQMTAFIASLFD	43
EBM01864	EPWLAWAEIRNLPNLSNGWQMTAFIASLVD	44
EBM01865	EMWDAWEEIHNLPNLSNGWQMTAFIASLVD	45
EBM01866	EDMEAVDEIRNLPNLSNGWQMTAFIASLFD	46
EBM01867	EAEHAWEEIRNLPNLSNGWQMTAFIASLVD	47
EBM01868	ELWIAWDEIRNLPNLSNGWQMTAFIASLVD	48
EBM01869	EMWNAWSEIRNLPNLSNGWQMTAFIASLVD	49
EBM01870	EINSAIGEIHNLPNLSNGWQMTAFIASLFD	50
EBM01871	EMWRAWEEIHNLPNLSNGWQMTAFIASLVD	51
EBM01872	ESWKAWEEIRNLPNLSNGWQMTAFIASLVD	52
EBM01873	ETEWAIOEIRNLPNLSNGWQMTAFIASLFD	53
EBM01874	EAEFAWTEIRNLPNLSNGWQMTAFIASLVD	54
EBM01875	ELLVAMLEIHNLPNLSNGWQMTAFIASLVD	55
EBM01876	ERDFAIIDEIHSLPNLSNGWQMTAFIASLFD	56
EBM01877	EMWIAWEEIRNLPNLSNGWQMTAFIASLVD	57
EBM01878	ESNSAWQOIRNLPNLSNGWQMTAFIASLVD	58
EBM01879	EVWTAWEEIHNLPNLSNGWQMTAFIASLVD	59
EBM01880	EPWMAWDEIRSLPNLSNGWQMTAFIASLVD	60
EBM01881	ERDGAIOEIRNLPNLSNGWQMTAFIASLFD	61
EBM01882	EKWTAWEEIRSLPNLSNGWQMTAFIASLVD	62
EBM01883	EMWHAWDEIRHLPNLSNGWQMTAFIASLVD	63
EBM01884	EVDQAVAEIRNLPNLSNGWQMTAFIASLFD	64



FIGURA 1

Polipéptido	Secuencia de aminoácidos SEQ. ID. n°	
EBM01885	ERYWAI EEIRNL PNLNGWQMTAFIASLFD	65
EBM01886	ERE EAI SEIHS L PNLNGWQMTAFIASLFD	66
EBM01887	EM EAWQ EI RNL PNLNGWQMTAFIASLVD	67
EBM01888	EVEPAI REIHN L PNLNGWQMTAFIASLFD	68
EBM01889	EQDEAV KEIRNL PNLNGWQMTAFIASLFD	69
EBM01890	EADSAW TEIRNL PNLNGWQMTAFIASLVD	70
EBM01891	ETDYAI GEIHS L PNLNGWQMTAFIASLFD	71
EBM01892	EADKAV QEIRNL PNLNGWQMTAFIASLFD	72
EBM01893	ETDKAV QEIRNL PNLNGWQMTAFIASLFD	73
EBM01894	ELWAAW SEIRNL PNLNGWQMTAFIASLVD	74
EBM01895	EAWAAW SEIRNL PNLNGWQMTAFIASLVD	75
EBM01896	EVDRAV VEIRSL PNLNGWQMTAFIASLFD	76
EBM01897	EAE SAI EEIHN L PNLNGWQMTAFIASLFD	77
EBM01898	ELGGAV NEIRNL PNLNGWQMTAFIASLFD	78
EBM01899	EVDTAI WEIRNL PNLNGWQMTAFIASLFD	79
EBM01900	ELANAF DEIHR L PNLNGWQMTAFIASLVD	80
EBM01901	EFRRAS DEIRNL PNLNGWQMTAFIASLAD	81
EBM01902	EIEKAI REIHN L PNLNGWQMTAFIASLVD	82
EBM01903	EMWEAW DEIHN L PNLNGWQMTAFIASLVD	83
EBM01904	ESKWA WEEIRNL PNLNGWQMTAFIASLVD	84
EBM01905	EMWRA WEEIHN L PNLNGWQMTAFIASLVD	85
EBM01906	EIDPAL QEIRNL PNLNGWQMTAFIASLFD	86
EBM01907	EMWAA WEEIRNL PNLNGWQMTAFIASLVD	87
EBM01908	EKYWAV DEIRNL PNLNGWQMTAFIASLFD	88
EBM01909	EHWAA WHEIRSL PNLNGWQMTAFIASLVD	89
EBM01910	EYQTAW KEIRNL PNLNGWQMTAFIASLVD	90
EBM01911	ETDRAI KEIHN L PNLNGWQMTAFIASLFD	91
EBM01912	EMWNA WHEIRNL PNLNGWQMTAFIASLVD	92
EBM01913	EPWVA WNEIRNL PNLNGWQMTAFIASLVD	93
EBM01914	ELI GAY DEIRSL PNLNGWQMTAFIASLAD	94
EBM01915	ERDYAL WEIRNL PNLNGWQMTAFIASLFD	95
EBM01916	ETQDAW DEIRNL PNLNGWQMTAFIASLVD	96

# FIGURA 1

Polipéptido	Secuencia de aminoácidos SEQ. ID. n°	
EBM01917	EMWEAWGEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVD	97
EBM01918	EMSAWHEIRSLPNLNGWQMTAFIASLVD	98
EBM01919	ELWQAWGEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVD	99
EBM01920	EVERAWNEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVD	100
EBM01921	EMWEAWGEIRSLPNLNGWQMTAFIASLVD	101
EBM01922	ERTQAI REIHNLPNLNGWQMTAFIASLFD	102
EBM01923	ETEEAWEEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVD	103
EBM01924	EAEATAWSEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVD	104
EBM01925	EMWCAWNEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVD	105
EBM01926	ERDYAIEEIHNLPNLNGWQMTAFIASLFD	106
EBM01927	EMWSAWDEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVD	107
EBM01928	EMWTAWHEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVD	108
EBM01929	ETDRAVREIRNLPNLNGWQMTAFIASLFD	109
EBM01930	ETWRAWHEIRSLPNLNGWQMTAFIASLVD	110
EBM01931	EMWLAWQEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVD	111
EBM01932	EVDYAIQEIHNLPNLNGWQMTAFIASLFD	112
EBM01933	EMESAWIEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVD	113
EBM01934	ETEEAWEEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVD	114
EBM01935	ESEAALQEIRNLPNLNGWQMTAFIASLFD	115
EBM01936	EFRKASNEIRSLPNLNGWQMTAFIASLAD	116
EBM01937	EVQLAWDEIRSLPNLNGWQMTAFIASLVD	117
EBM01938	EADRAWEEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVD	118
EBM01939	EIKPAIREIHSLPNLNGWQMTAFIASLFD	119
EBM01940	ELDQAL EIHNLPNLNGWQMTAFIASLFD	120
EBM01941	EPWIAWHEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVD	121
EBM01942	ERDVAITEIHNLPNLNGWQMTAFIASLFD	122
EBM01943	EFDKAVSEIRNLPNLNGWQMTAFIASLFD	123
EBM01944	EVDVAMQEIRNLPNLNGWQMTAFIASLFD	124
EBM01945	ETNAALEEIRNLPNLNGWQMTAFIASLFD	125
EBM01946	EAEKAWEEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVD	126
EBM01947	EPWLAWSEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVD	127
EBM01948	EGLNAVNEIRNLPNLNGWQMTAFIASLFD	128

# FIGURA 1

Polipéptido	Secuencia de aminoácidos SEQ. ID. n°	
EBM01949	EWEVAMEEIRNLPNPNLNGWQMTAFIASLFD	129
EBM01950	EVESAWTEIRNLPNPNLNGWQMTAFIASLVD	130
EBM01951	ETDRAWDEIRNLPNPNLNGWQMTAFIASLVD	131
EBM02268	EREQATEEIRNLPNPNLNGWQMTAFIASLFD	132
EBM02269	EMEHAWEEIRSLPNLNGWQMTAFIASLVD	133
EBM02270	EHWNALHEIRSLPNLNGGGQMTAFIASLFD	134
EBM02271	EYEAADWEIRNLPNPNLNGWQMTAFIASLVD	135
EBM02272	EGEMALQEIRNLPNPNLNGWQMTAFIASLFD	136
EBM02273	EFRWASDEIRNLPNPNLNGWQMTAFIASLAD	137
EBM02274	EHWNALHEIRSLPNLNGWQMTAFIASLFD	138
EBM02275	EIDYAIREIHNLNPNLNGWQMTAFIASLFD	139
EBM02276	ELLQAMLEINHLPNPNLNGWQMTAFIASLVD	140
EBM02277	EVPALQEIRSLPNLNGWQMTAFIASLFD	141
EBM02278	ELLSAMLEINHLPNPNLNGWQMTAFIASLVD	142
EBM02279	ERDEAIQEIHSLPNPNLNGWQMTAFIASLFD	143
EBM02280	ETDWAIQEIIRSLPNLNGWQMTAFIASLFD	144
EBM02281	EMEKAWVEIRNLPNPNLNGWQMTAFIASLVD	145
EBM02282	ELDNAIDEIRNLPNPNLNGWQMTAFIASLFD	146
EBM02377	EMWIAWEEIRDLPNPNLNGWQMTAFIASLDD	147
EBM02378	EMWLAWEEIRNLPNPNLNGWQLTAFIASLDD	148
EBM02379	EMWSAWDEIRALPNLNGWQMTAFISSLDD	149
EBM02380	EMWNAWNEIRDLPNPNLNGWQMTAFIASLDD	150
EBM02381	EMWGAWNEIRDLPNPNLNGWQMTAFISSLDD	151
EBM02382	EMWIAWDEIRDLPNPNLNGWQFTAFIASLDD	152
EBM02383	ELWIAWDEIRYLPNPNLNGWQMTAFIASLDD	153
EBM02384	EMWKAWEEIRSLPNLNGWQMTAFIASLDD	154
EBM02385	EMWDAWGEIRNLPNPNLNGWQMTAFIASLDD	155
EBM02386	EVVVAWEEIRDLPNPNLNGWQMTAFIASLDD	156
EBM02387	EMWGAWEEIRNLPNPNLNGWQMTAFIASLVD	157
EBM02388	EMWMAWDEIRYLPNPNLNGWQLTAFISSLDD	158
EBM02389	EMWVAWEEIRNLPNPNLNGWQMTAFIGSLDD	159
EBM02390	EMWDAWDEIRYLPNPNLNGWQFTAFIASLDD	160

# FIGURA 1

Polipéptido	Secuencia de aminoácidos SEQ. ID. n°	
EBM02391	ELWGAWDEIRYLPNLSNGWQMTAFIASLLD	161
EBM02392	ESWNAVKEIGELPNLNGWQADAFINSLWD	162
EBM02393	ESHEVWQEIIRSLPNLNGWQLTAFINSLLD	163
Z00940	VDNKFNKEWSAAAASEISGLPNLNKLAQAFIVSLVDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	164
Z00942	VDNKFNKEMLIAMEEIGSLPNLNGWQEQAFILSLWDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	165
Z00947	VDNKFNKETGAAMREINDLPNLNNLQFFAFIVSLVDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	166
Z00948	VDNKFNKEFYAAITEINRLPNLNGWQMVAFISSLSDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	167
Z00949	VDNKFNKEHAKAMWEIGNLPNLNLVQLAAAFISLRDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	168
Z00951	VDNKFNKESLAAASVEISHLPNLNGSQCKAFIRSLMDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	169
Z00955	VDNKFNKELEKAYNEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	170
Z00956	VDNKFNKEAAPAWTEIVRLPNLNRGQKQAFIVSLHDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	171
Z00957	VDNKFNKEKELWIATSEIIVELPNLNMHQGVAFIRSLDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	172
Z01239	VDNKFNKEVQNAVAEIVKLPNLNGWQSTAFIASLSDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	173
Z01831	VDNKFNKEYEEAWNEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	174
Z01832	VDNKFNKEIERAMQEIIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	175
Z01833	VDNKFNKEVETAWMEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	176
Z01834	VDNKFNKETETAIQEIRSLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	177
Z01835	VDNKFNKETDRAVEEIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	178
Z01836	VDNKFNKEMWRAWEEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	179
Z01837	VDNKFNKEQDAAWEEIRSLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	180
Z01838	VDNKFNKEREEEAIKEIHNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	181
Z01839	VDNKFNKEWEAWHEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	182
Z01840	VDNKFNKELYDAMIENHLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	183
Z01841	VDNKFNKETDKAVQEIHNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	184
Z01842	VDNKFNKEQVRAWEEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	185
Z01843	VDNKFNKEKELWGAWEEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	186
Z01844	VDNKFNKERDAAWEEIRHLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	187
Z01845	VDNKFNKEVFPALQEIIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	188
Z01846	VDNKFNKEVEMATQEIIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	189
Z01847	VDNKFNKELYQAMDEIRSLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	190
Z01848	VDNKFNKEATEAWDEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	191
Z01849	VDNKFNKEVEWALQEIIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	192

# FIGURA 1

Polipéptido	Secuencia de aminoácidos SEQ. ID. n.º	
Z01850	VDNKFNKEVSPALEEIRSLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	193
Z01851	VDNKFNKERERAEIEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	194
Z01852	VDNKFNKEAESAWNEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	195
Z01853	VDNKFNKEFWWASDEIRNLPNLNGWQMTAFIASLADDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	196
Z01854	VDNKFNKEWMSAWEEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	197
Z01855	VDNKFNKEHWNAMHEIRSLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	198
Z01856	VDNKFNKEVEKAWSEIRSLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	199
Z01857	VDNKFNKEKAWMEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	200
Z01858	VDNKFNKEWMSAWSEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	201
Z01859	VDNKFNKEWMSAWAEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	202
Z01860	VDNKFNKERSLAIREIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	203
Z01861	VDNKFNKERDTAISEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	204
Z01862	VDNKFNKEMWAAWGEIHSLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	205
Z01863	VDNKFNKERDTAIEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	206
Z01864	VDNKFNKEPWLAWAEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	207
Z01865	VDNKFNKEMWDAAWEEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	208
Z01866	VDNKFNKEDMEAVDEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	209
Z01867	VDNKFNKEAEHAWEEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	210
Z01868	VDNKFNKEIWAWEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	211
Z01869	VDNKFNKEMWNAWSEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	212
Z01870	VDNKFNKEINSAIGEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	213
Z01871	VDNKFNKEMWRAWEEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	214
Z01872	VDNKFNKEKAWWAEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	215
Z01873	VDNKFNKETETEWAIQEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	216
Z01874	VDNKFNKEAEFAWTEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	217
Z01875	VDNKFNKEILLVAMLEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	218
Z01876	VDNKFNKERDFAIDEIHSLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	219
Z01877	VDNKFNKEMWIAWEEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	220
Z01878	VDNKFNKEKSAWQEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	221
Z01879	VDNKFNKEVWTAWEEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	222
Z01880	VDNKFNKEPMAWDEIRSLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	223
Z01881	VDNKFNKERDGAIQEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	224

# FIGURA 1

Polipéptido	Secuencia de aminoácidos SEQ. ID. n°	
Z01882	VDNKFNKEKWTAWEEIRSLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	225
Z01883	VDNKFNKEMWHAWDEIRHLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	226
Z01884	VDNKFNKEVDQAVAEIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	227
Z01885	VDNKFNKERYWAEIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	228
Z01886	VDNKFNKEREEAISEIHSLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	229
Z01887	VDNKFNKEMEWAWQEIIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	230
Z01888	VDNKFNKEVEPAIREIHNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	231
Z01889	VDNKFNKEQEAAVKEIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	232
Z01890	VDNKFNKEADSAWTEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	233
Z01891	VDNKFNKETDYAIGEIHSLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	234
Z01892	VDNKFNKEADKAVQEIIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	235
Z01893	VDNKFNKETDKAVQEIIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	236
Z01894	VDNKFNKEKELWAAWSEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	237
Z01895	VDNKFNKEAWAAWSEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	238
Z01896	VDNKFNKEVDRAVVEIRSLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	239
Z01897	VDNKFNKEAESAEIIEIHNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	240
Z01898	VDNKFNKEKELGGAVNEIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	241
Z01899	VDNKFNKEVDTAIWEIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	242
Z01900	VDNKFNKELANAFDEIHRLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	243
Z01901	VDNKFNKEFRASDEIRNLPNLNGWQMTAFIASLADDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	244
Z01902	VDNKFNKEIEKAIREIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	245
Z01903	VDNKFNKEWEAWDEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	246
Z01904	VDNKFNKEKWAWEIIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	247
Z01905	VDNKFNKEMWRWAEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	248
Z01906	VDNKFNKEIDPALQEIIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	249
Z01907	VDNKFNKEMWAWEIIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	250
Z01908	VDNKFNKEKYWAVDEIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	251
Z01909	VDNKFNKEHWAAWHEIRSLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	252
Z01910	VDNKFNKEYQTAWKEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	253
Z01911	VDNKFNKETDRAIKEIHNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	254
Z01912	VDNKFNKEMWNWAWHEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	255
Z01913	VDNKFNKEPWWAWNEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK	256

**FIGURA 1**

Polipéptido	Secuencia de aminoácidos SEQ. ID. n.º	
Z01914	VDNKFNKEIIGAYDEIRSLPNLNGWQMTAFIASLADDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	257
Z01915	VDNKFNKERDYALWEIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	258
Z01916	VDNKFNKETQDAWDEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	259
Z01917	VDNKFNKEMWEAWGEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	260
Z01918	VDNKFNKEMWSAWHEIRSLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	261
Z01919	VDNKFNKEIWLQAWGEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	262
Z01920	VDNKFNKEVERAWNEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	263
Z01921	VDNKFNKEMWEAWGEIRSLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	264
Z01922	VDNKFNKERTQAIREIHNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	265
Z01923	VDNKFNKEETEAWEEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	266
Z01924	VDNKFNKEAETAWSEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	267
Z01925	VDNKFNKEMWCWNEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	268
Z01926	VDNKFNKERDYAIEEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	269
Z01927	VDNKFNKEMWSAWDEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	270
Z01928	VDNKFNKEIWTAWHEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	271
Z01929	VDNKFNKETDRAVREIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	272
Z01930	VDNKFNKETWRWHEIRSLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	273
Z01931	VDNKFNKEMWLAWQEIIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	274
Z01932	VDNKFNKEVDYAIQEIHNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	275
Z01933	VDNKFNKEMESAWIEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	276
Z01934	VDNKFNKEETEAWEEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	277
Z01935	VDNKFNKESEALQEIIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	278
Z01936	VDNKFNKEFRKASNEIRSLPNLNGWQMTAFIASLADDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	279
Z01937	VDNKFNKEVQLAWDEIRSLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	280
Z01938	VDNKFNKEADRAWEEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	281
Z01939	VDNKFNKEIKPAIREIHSLPNLNGWQMTAFIASLFDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	282
Z01940	VDNKFNKEIQLDQAIIEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	283
Z01941	VDNKFNKEPWIAWHEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	284
Z01942	VDNKFNKERDVAITEIHNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	285
Z01943	VDNKFNKEFDKAVSEIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	286
Z01944	VDNKFNKEVDVAMQEIIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	287
Z01945	VDNKFNKETNAALEEIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPQSANLLAEAKKLNDQAQPK	288

# FIGURA 1

Polipéptido	Secuencia de aminoácidos SEQ. ID. n.º	
Z01946	VDNKFNKEAEKAWEEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	289
Z01947	VDNKFNKEPWLAWSEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	290
Z01948	VDNKFNKEGLNAVNEIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	291
Z01949	VDNKFNKEWEVAMEEIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	292
Z01950	VDNKFNKEVESAWTEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	293
Z01951	VDNKFNKETDRAWDEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	294
Z02268	VDNKFNKEREQATEEIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	295
Z02269	VDNKFNKEMEHAWEEIRSLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	296
Z02270	VDNKFNKEHWNALHEIRSLPNLNGGQMTAFIASLFDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	297
Z02271	VDNKFNKEYEAAWDEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	298
Z02272	VDNKFNKEGEMALQEIIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	299
Z02273	VDNKFNKEFRWASDEIRNLPNLNGWQMTAFIASLADDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	300
Z02274	VDNKFNKEHWNALHEIRSLPNLNGWQMTAFIASLFDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	301
Z02275	VDNKFNKEIDYAIREIHNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	302
Z02276	VDNKFNKEILLQAMLEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	303
Z02277	VDNKFNKEVNPALQEIIRSLPNLNGWQMTAFIASLFDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	304
Z02278	VDNKFNKEILLSAMLEIHNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	305
Z02279	VDNKFNKEERDEAIQEIHSLPNLNGWQMTAFIASLFDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	306
Z02280	VDNKFNKETDWAIQEIIRSLPNLNGWQMTAFIASLFDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	307
Z02281	VDNKFNKEKAWVEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	308
Z02282	VDNKFNKELDNAIDEIRNLPNLNGWQMTAFIASLFDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	309
Z02377	VDNKFNKEMWIAWEEIRDLPNLNGWQMTAFIASLDDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	310
Z02378	VDNKFNKEMWLAWEEIRNLPNLNGWQMTAFIASLDDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	311
Z02379	VDNKFNKEMWSAWDEIRALPNLNGWQMTAFISSLDDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	312
Z02380	VDNKFNKEMWNAWNEIRDLPNLNGWQMTAFIASLDDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	313
Z02381	VDNKFNKEMGAWNEIRDLPNLNGWQMTAFISSLDDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	314
Z02382	VDNKFNKEMWIAWDEIRDLPNLNGWQMTAFIASLDDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	315
Z02383	VDNKFNKEWLWIAWDEIRYLPNLNGWQMTAFIASLDDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	316
Z02384	VDNKFNKEWKAWEEIRSLPNLNGWQMTAFIASLDDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	317
Z02385	VDNKFNKEMWDWAWNEIRDLPNLNGWQMTAFIASLDDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	318
Z02386	VDNKFNKEVWVAWEEIRDLPNLNGWQMTAFIASLDDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	319
Z02387	VDNKFNKEMGAWEEIRNLPNLNGWQMTAFIASLVDDPQSANLLAEAKKLNDAQPK	320



FIGURA 1

Polipéptido	Secuencia de aminoácidos SEQ. ID. n°	
Z02388	VDNKFNKEMWMAWDEIRYLPNLNGWQLTAFISSLLDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	321
Z02389	VDNKFNKEMVVAWEEIRNLPNLNGWQMTAFISLLDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	322
Z02390	VDNKFNKEMWDAWDEIRYLPNLNGWQFTAFIASLLDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	323
Z02391	VDNKFNKELWGAWDEIRYLPNLNGWQMTAFIASLLDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	324
Z02392	VDNKFNKESWNAVKEIGELPNLNWQADAFINSLWDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	325
Z02393	VDNKFNKESHEVWQEIIRSLPNLNWQLTAFINSLDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	326
Z00000	VDNKFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNAFIQSLKDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK	327
EGFR	MRPSGTAGALLALLAALCPASRALEEKKVCQGTSNKLTQLGTFEDHFLSLQRMFNNEVVLGNLEITYVQRNYD LSFLKTIQEVAGYVLIALNTVERIPIENLQIIRGNMYENSYALAVLSNYDANKTGLKELPMRNLQEIILHGAVRF SNNPALCNVESIQWRDIVSSDFLSNMSMDFQNLGSCQKCDPSCPNWSCWGAGEENCQKLTKIICAQQCSGRCRG KSPSDCCHNQCAAGCTGPRESDCLVCRKFRDEATCKDTPPLMLYNPTTYQMDVNPGEKYSFGATCVKKCPRNYV VTDHGSVRCAGADSYEMEEEDGVRKCKCEGPCRKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTISGDLHILPVA FRGDSFTHTPLDPQELDILKTVKEITGFLIIQAWPENRTDLHAFENLEIRGRTKHQGFSLAVVSLNITSLGL RSLKEISDGDVIIISGNKNCYANTINWKKLFGTSGQTKIIISNRGENSCKATQOVCHALCSPEGCWGPEPRDCVS CRNVSREGRECVKCNLLEGEPRFVENSECIIQCHPECLPQAMNITCTGRPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVM GENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCITYGCTGPLEGECTNGPKIPSIATGMVGAALLLVVALGIGLFMRRRHIVR KRTLRLQERELVEPLTPSGEAPNQALLRIKETEFKKIKVLGSGAFGTVKGLWIPEGEKVKIPVAIKELREA TSPKANKEILDEAYVMASVDNPHVCRLLGLICTSTVQLITQLMPFGCLLDYVREHKDNIISQYLLNWCVQIAKGM NYLEDRLVHRDLAARNVLVKTQHVKITDFGLAKLLGAEKEYHAEGGKVPKIKWMALESILHRIYTHQSDVWSY GVTWELMTFGSKPYDGIPIASEIISILEKGERLPQPPICTIDVYIMIVKCMIDADSRPKFRELIIIEFSKMARDP QRYLVIQDERMHLPSPTDSNFYRALMDEEDMDVDVDADEYLIPOQGFSSPSTSRTPLLSSLSATSNNSTVACI DRNGLQSCPIKEDSFLQRYSSDPTGALTEDSIDDTFLPVPEYINQSVKRPAGSVQNPVYHNQPLNPAFSPRDPHY QDPHSTAVGNPEYLVTVQPTCVNSTFDSPAHWAQKGSHQISLDNPDYQQDFPFKEAKPNGIFKGSTAENAEYLRV APQSSEFIGA	328
EGFR ECD	LEEKVCQGTSNKLTQLGTFEDHFLSLQRMFNNEVVLGNLEITYVQRNYDLSFLKTIQEVAGYVLIALNTVERI PLENLQIIRGNMYENSYALAVLSNYDANKTGLKELPMRNLQEIILHGAVRFSSNNPALCNVESIQWRDIVSSDFLS NMSMDFQNLGSCQKCDPSCPNWSCWGAGEENCQKLTKIICAQQCSGRCRGSKSPSDCCHNQCAAGCTGPRESDCI VCRKFRDEATCKDTPPLMLYNPTTYQMDVNPGEKYSFGATCVKKCPRNYVVDHGSVRCAGADSYEMEEEDGVR KCKKEGCPCKVNCIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTISGDLHILPVAFRGDSFTHTPLDPQELDILKTVK EITGFLIIQAWPENRTDLHAFENLEIRGRTKHQGFSLAVVSLNITSLGRLSKEISDGDVIIISGNKNCYANT INWKKLFGTSGQTKIIISNRGENSCKATQOVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGREGVCKNLLEGEPRF VENSECIIQCHPECLPQAMNITCTGRPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNC TYGCTGPLEGECTNGPKIPS	329

	Hélice 1	Hélice 2	Hélice 3					
Zwt	VDNKFNK	EQÑNAFYEIÍH	LPNLNÉ	ÉQRÑAFIQSLKD	DPSQ	SANLLAEAKKLNDA	QAPK	
Z <sub>EGFR</sub> :940	---	-WSA-AS--SG	---K	L-AF--V--V-	---	---	---	1
Z <sub>EGFR</sub> :942	---	-MLI-ME--GS	---W	G-EQ--L--W-	---	---	---	45
Z <sub>EGFR</sub> :947	---	-TGA-MR--ND	---N	L-FF--V--V-	---	---	---	1
Z <sub>EGFR</sub> :948	---	-FYA-IT--NR	---G	W-MV--S--S-	---	---	---	1
Z <sub>EGFR</sub> :949	---	-HAK-MW--GN	---L	V-LA--F--R-	---	---	---	1
Z <sub>EGFR</sub> :951	---	-SLA-SV--SH	---G	S-CK--R--M-	---	---	---	1
Z <sub>EGFR</sub> :955	---	-LEK-YN--RN	---G	W-MT--A--V-	---	---	---	1
Z <sub>EGFR</sub> :956	---	-AAP-WT--VR	---R	G-KQ--V--H-	---	---	---	1
Z <sub>EGFR</sub> :957	---	-LWI-TS--VE	---M	H-GV--R--L-	---	---	---	1
Z <sub>EGFR</sub> :1239	---	-VQN-VA--VK	---G	W-ST--A--S-	---	---	---	1

Básico:  
H, R, K

Ácido:  
D, E

Apolar:  
G, I, F, A, L, M, W, P, V

Polar:  
C, Q, N, S, Y, T, S

FIGURA 2A

	Hélice 1	Hélice 2	Hélice 3
<b>Zwt</b>	EQQNAFYEILH	EQRNAFIQSLKD	SANLLAEAKKLDA
Z <sub>EGFR</sub> :942	-MLI-ME--GS	G-EQ--L--W-	-----45
Z <sub>EGFR</sub> :948	-FYA-IT--NR	W-MV--S--S-	-----1
Z <sub>EGFR</sub> :955	-LEK-YN--RN	W-MT--A--V-	-----1
Z <sub>EGFR</sub> :1239	-VQN-VA--VK	W-ST--A--S-	-----1
	VDNKENK	DPSQ	QAPK

## FIGURA 2B

*Hidrófobo*  
**Neutro**  
Hidrófilo

	Hélice 1	Hélice 2	Hélice 3
<b>Zwt</b>	EQQNAFYEILH	EQRNAFIQSLKD	SANLLAEAKKLDA
Z <sub>EGFR</sub> :942	-MLI-Me--GS	G-eQ--L--W-	-----45
Z <sub>EGFR</sub> :948	-FYA-IT--NR	W-MV--S--S-	-----1
Z <sub>EGFR</sub> :955	-LeK-YN--RN	W-MT--A--V-	-----1
Z <sub>EGFR</sub> :1239	-VQN-VA--VK	W-ST--A--S-	-----1
	VDNKENK	DPSQ	QAPK

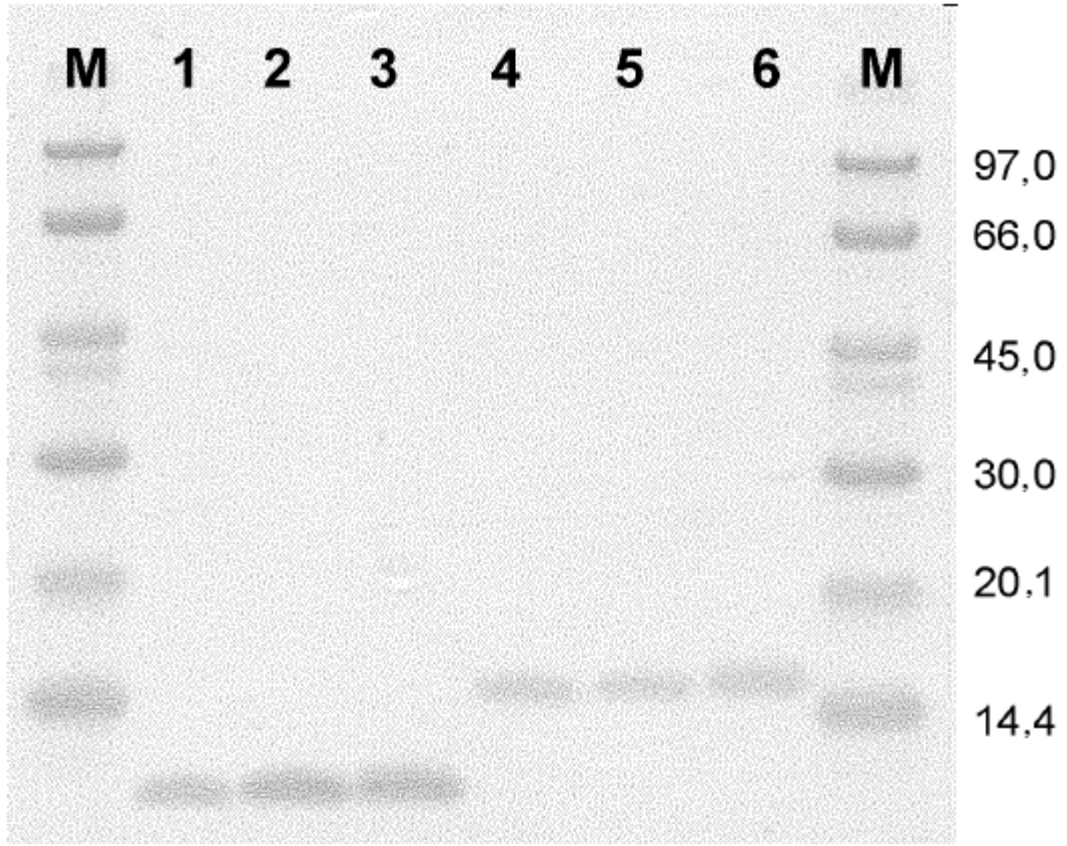
*Grupos R aromáticos (cursiva)*  
**Grupos R alifáticos, apolares (negrita)**  
 Aminoácidos sin carga, polares (subrayado)  
 grupos r con carga negativa (caso inferior)  
 Grupos R con carga positiva (doble subrayado)

## FIGURA 2C

*Estrategia de maduración por afinidad*

9	10	11	13	14	17	18	24	25	27	28	32	35
X	X	X	X	X	N/R	N/R	G	W	M	T	A	S/N

## FIGURA 2D



**FIGURA 3**

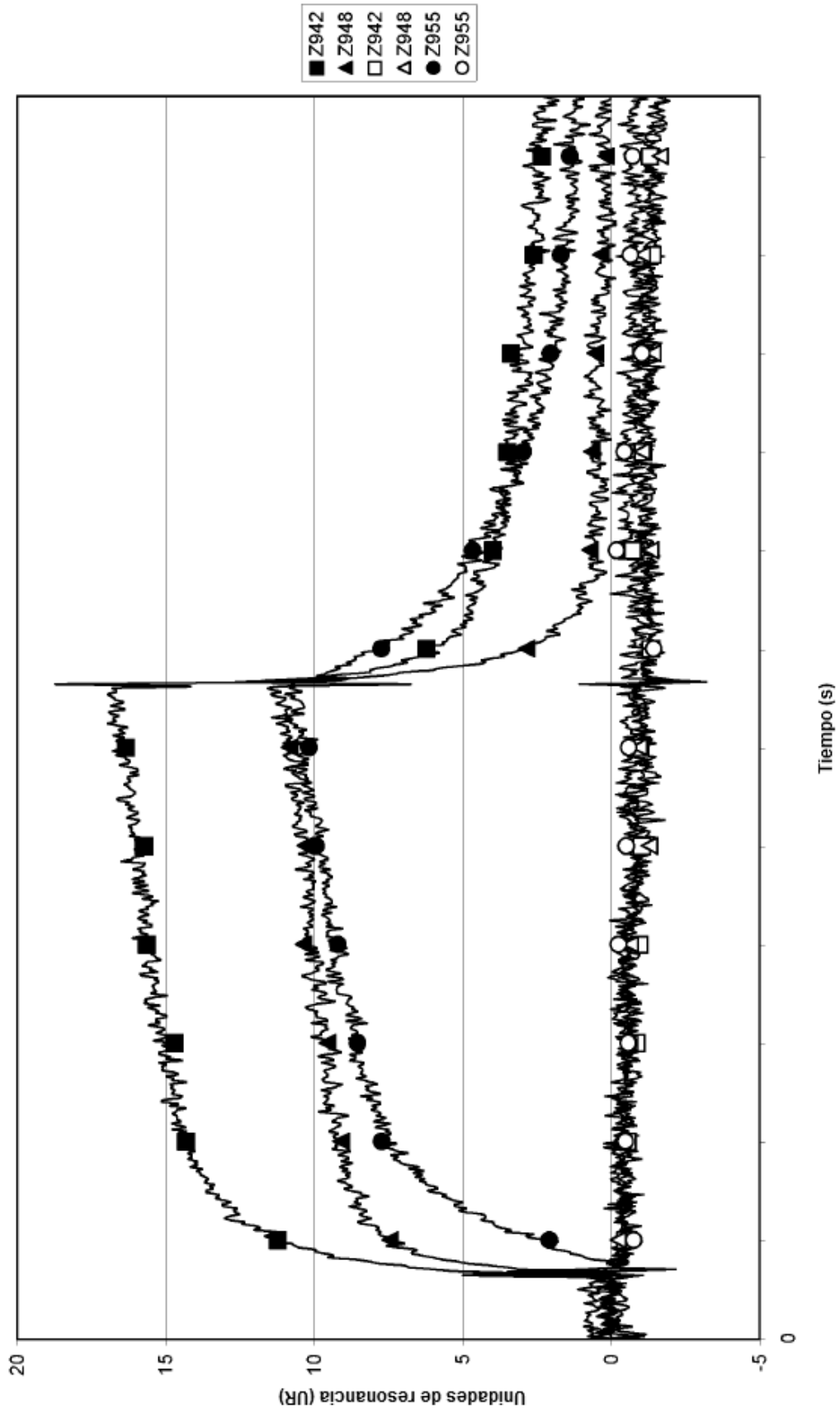
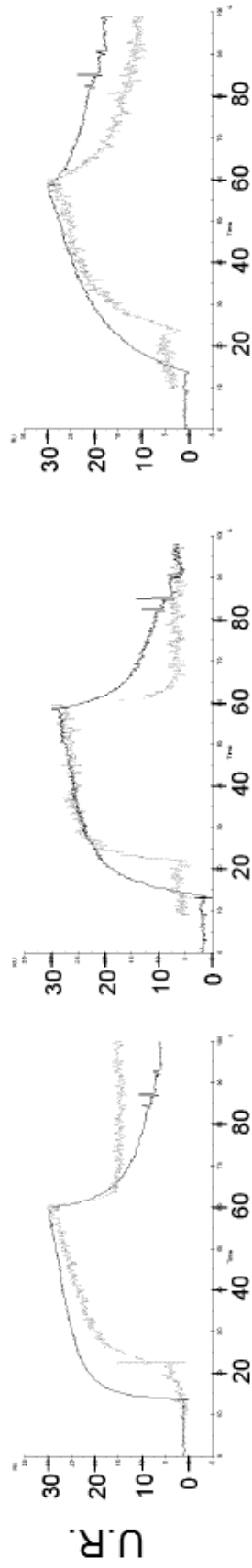
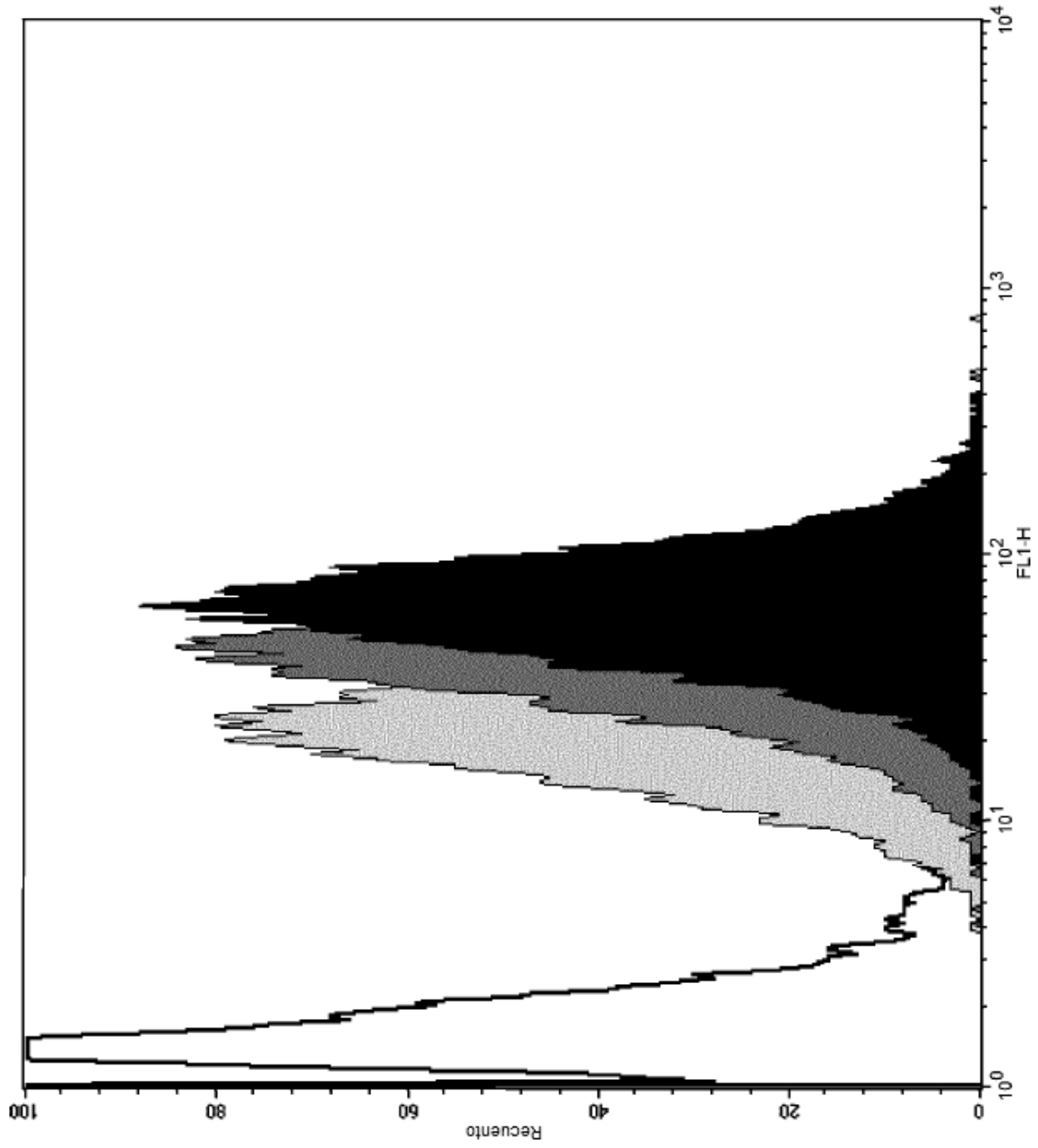


FIGURA 4A

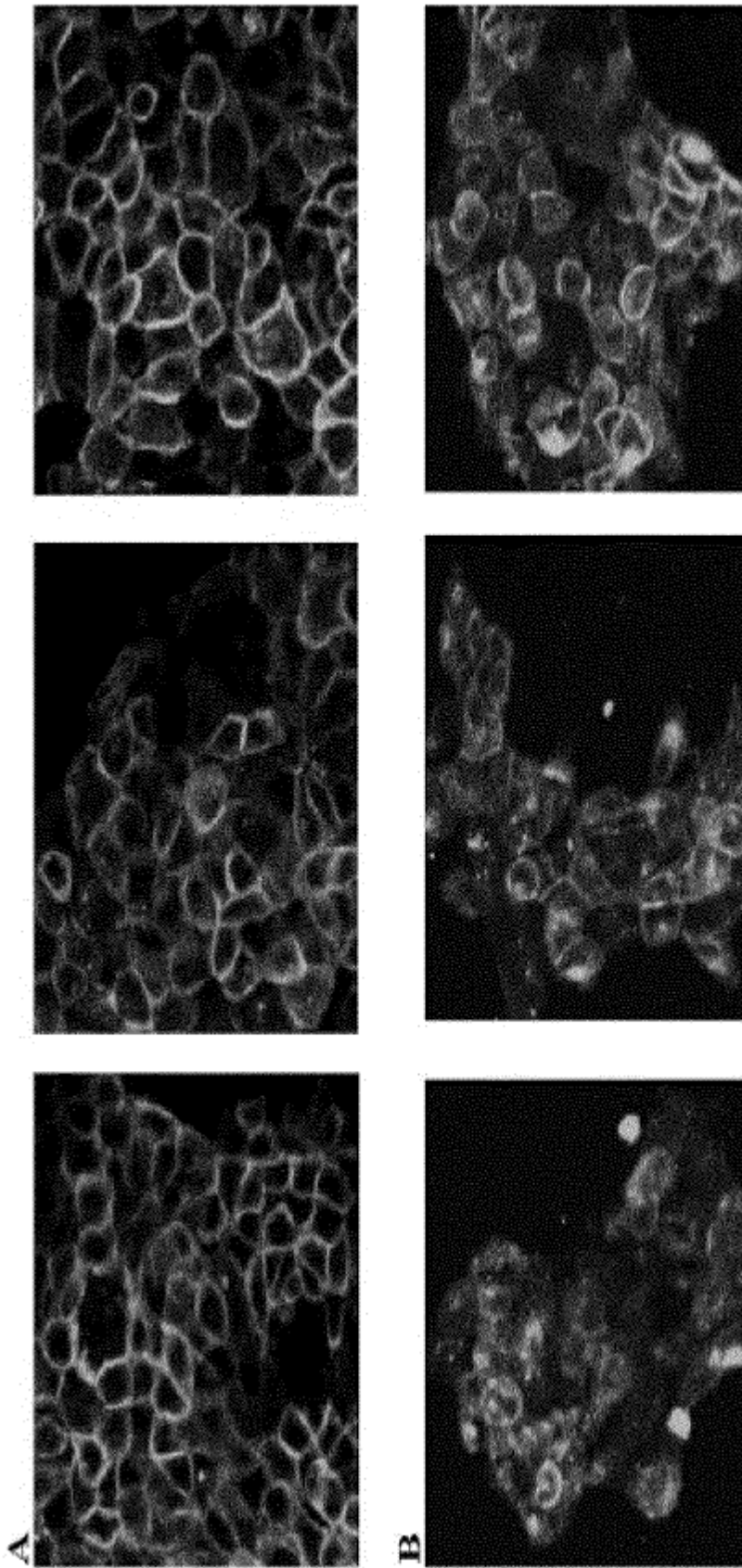


Tiempo, segundos

**FIGURA 4B**



**FIGURA 5**



**FIGURA 6**



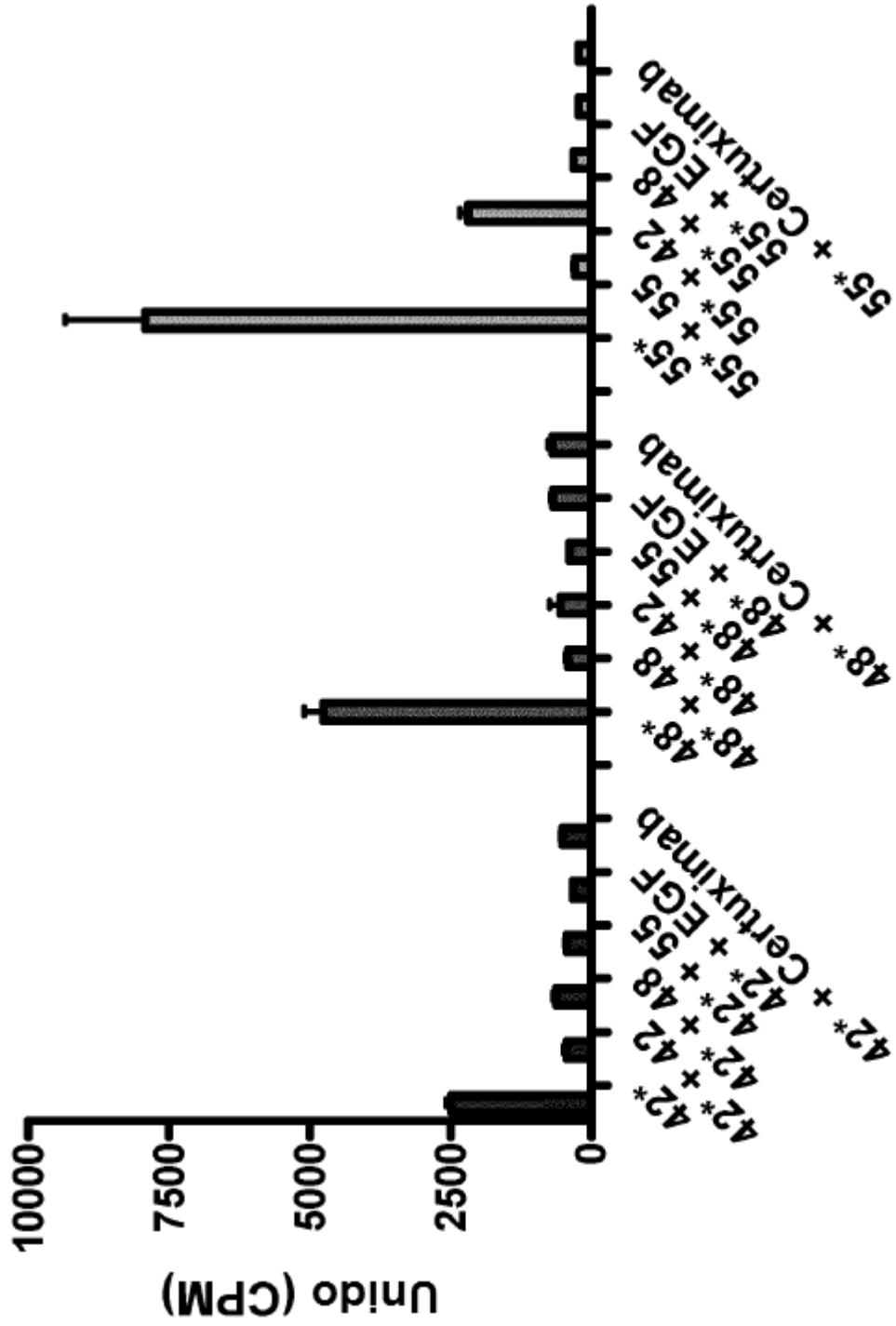


FIGURA 7

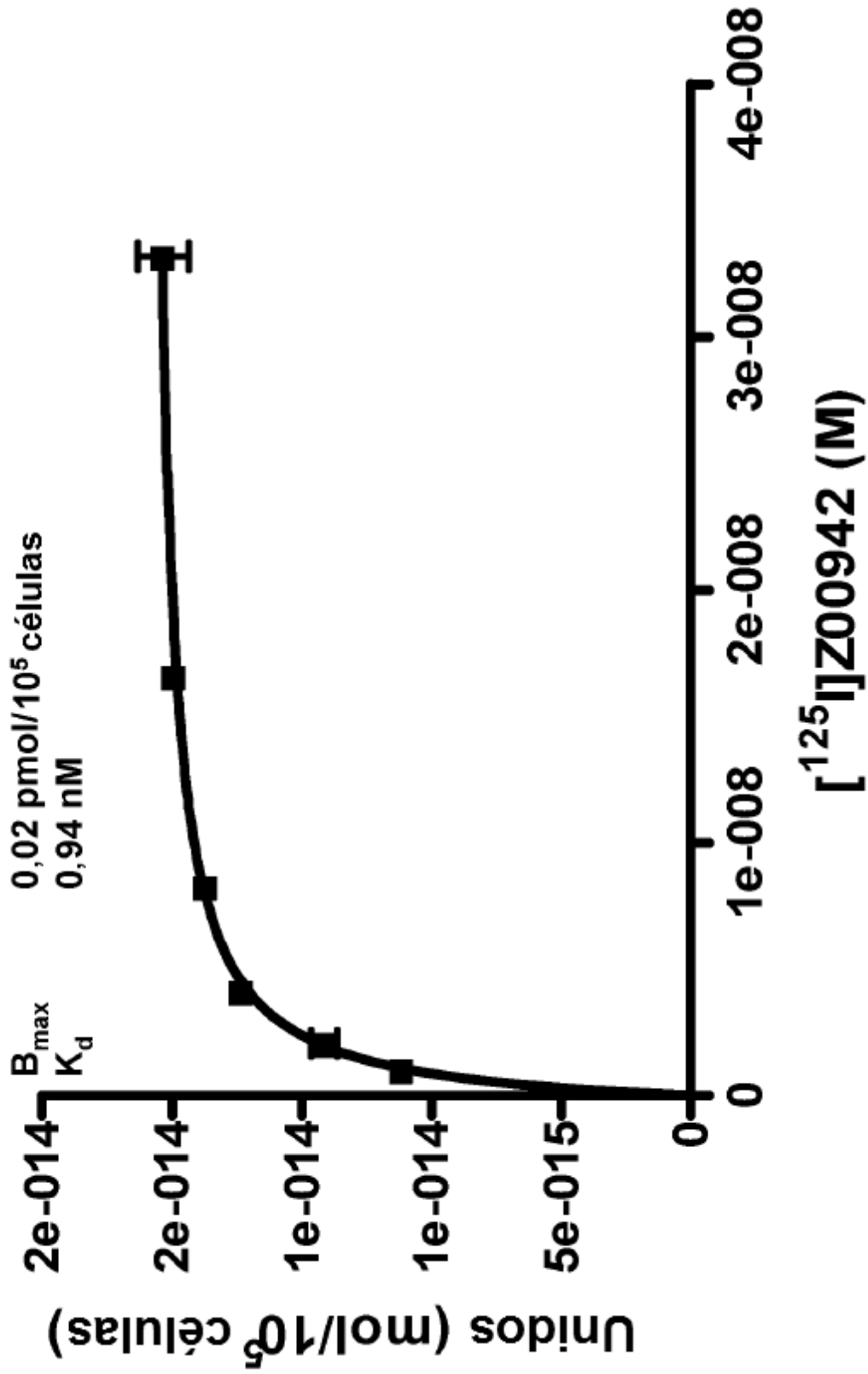


FIGURA 8A

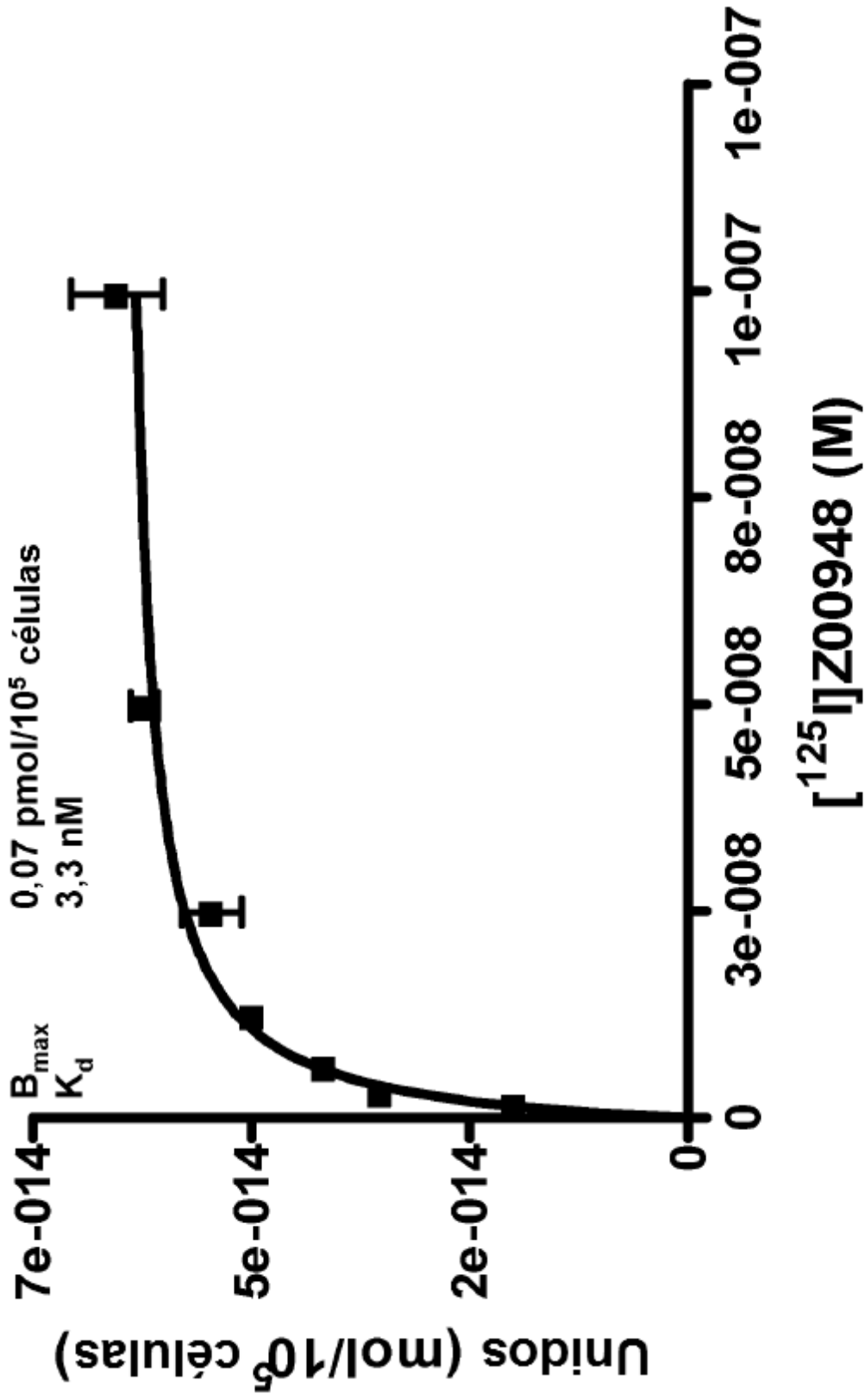


FIGURA 8B

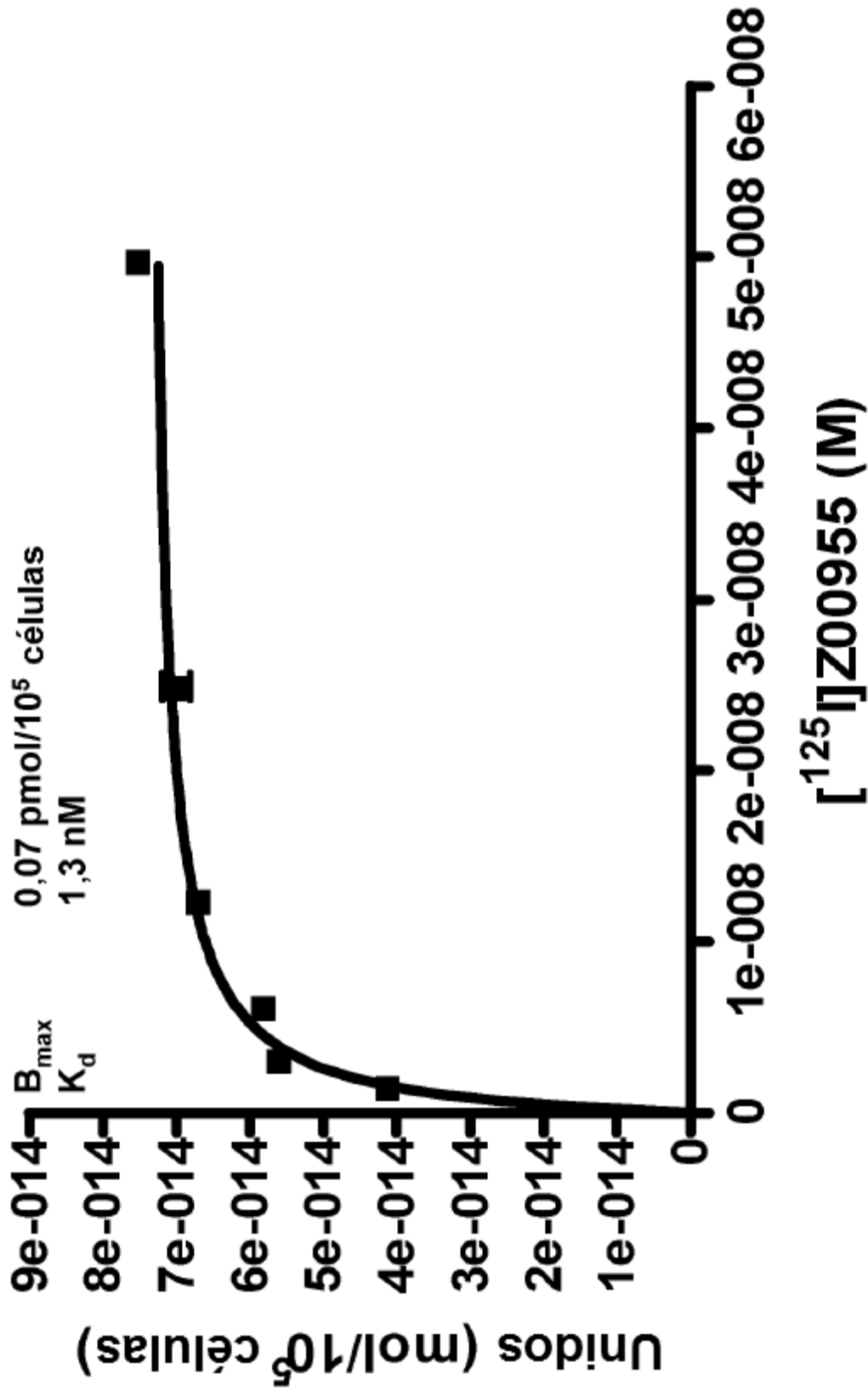
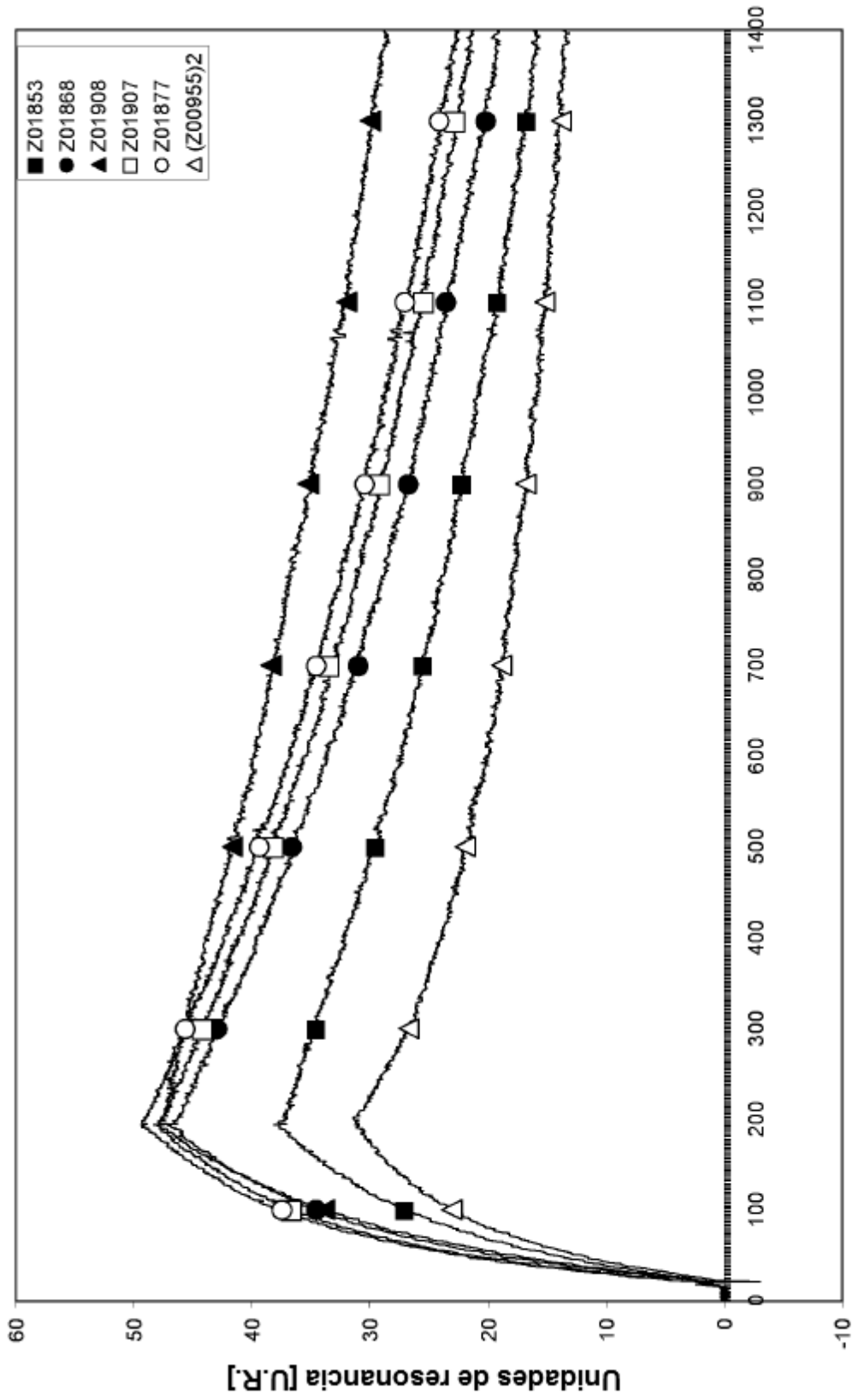
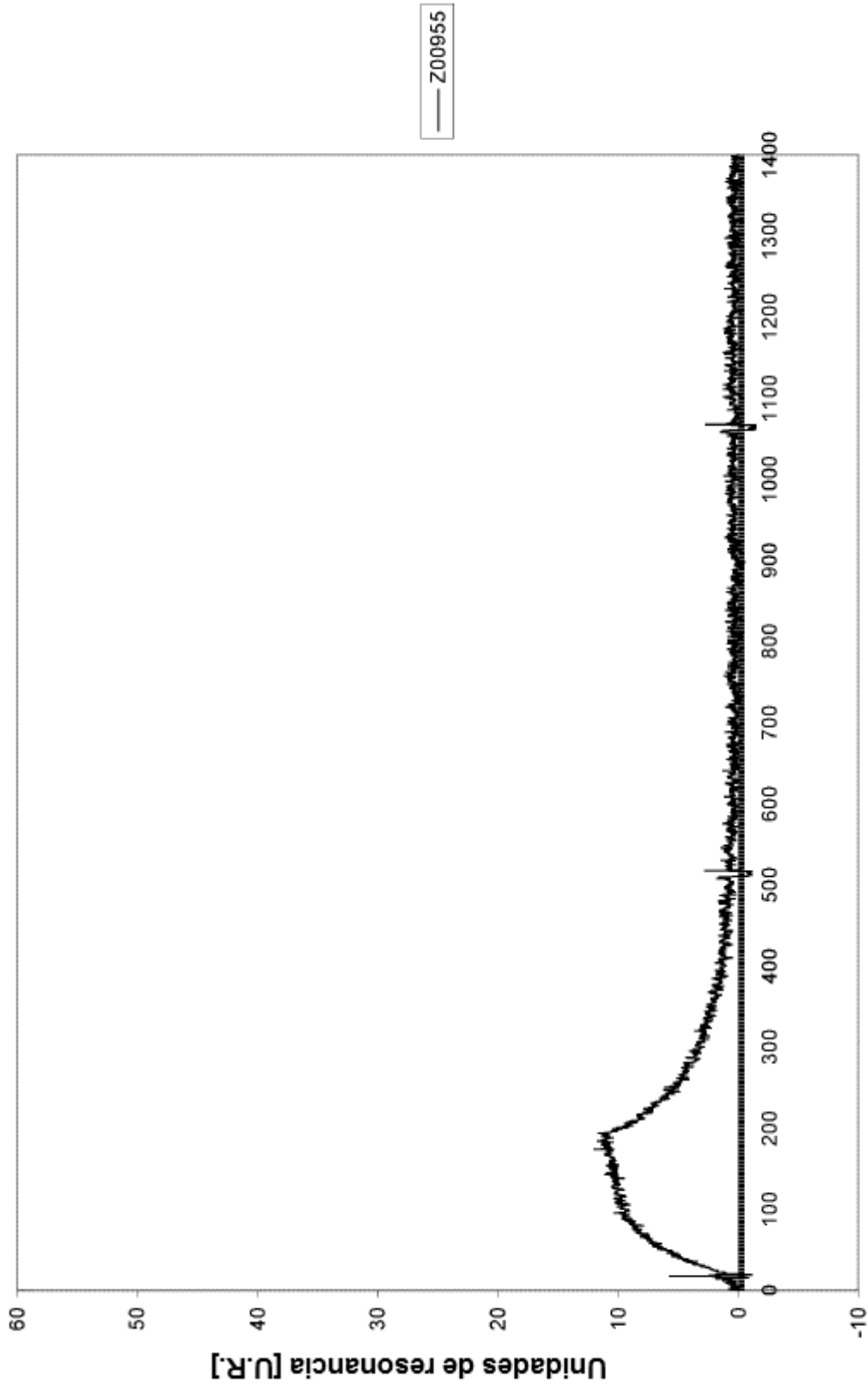


FIGURA 8C

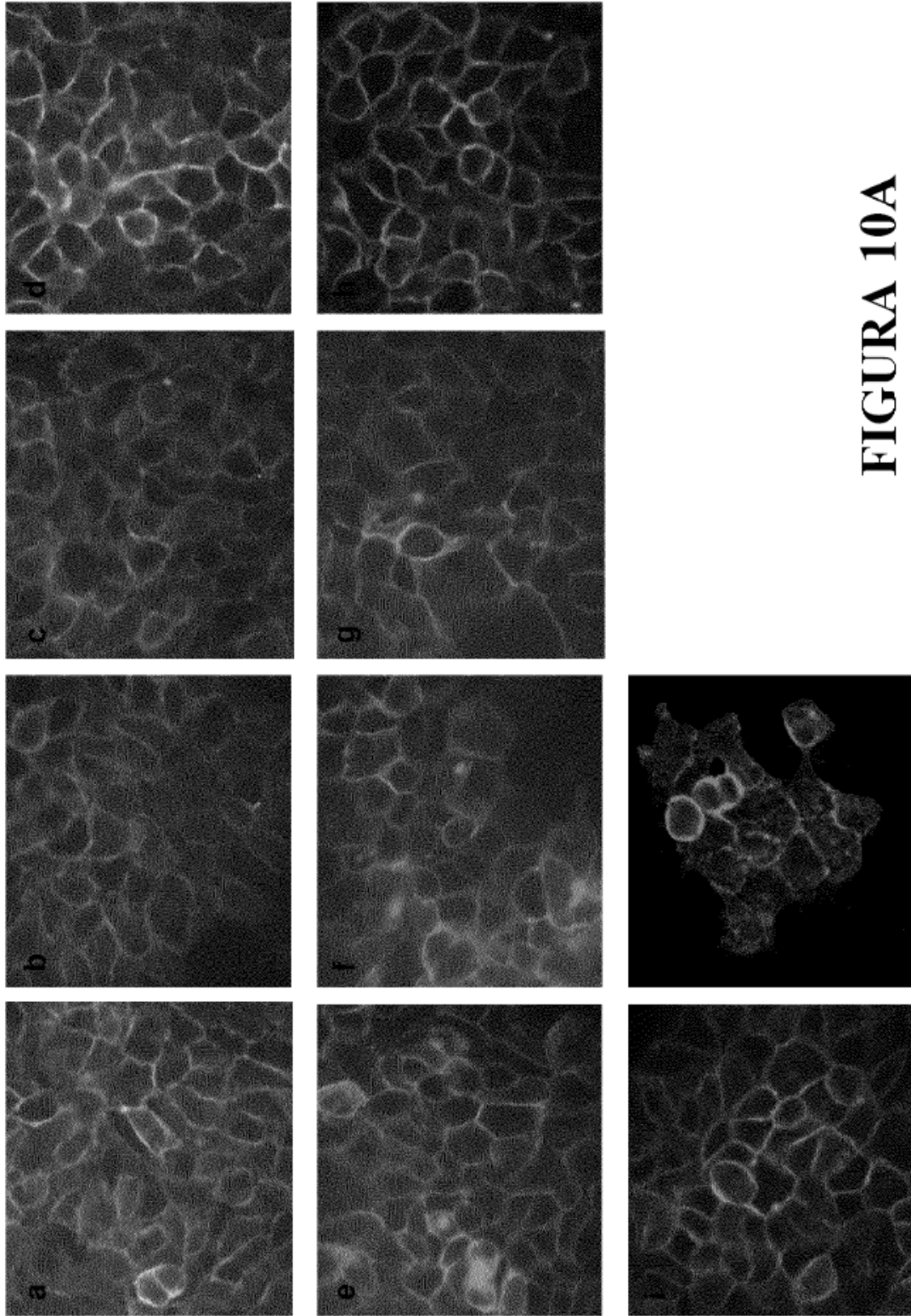


Tiempo [s]

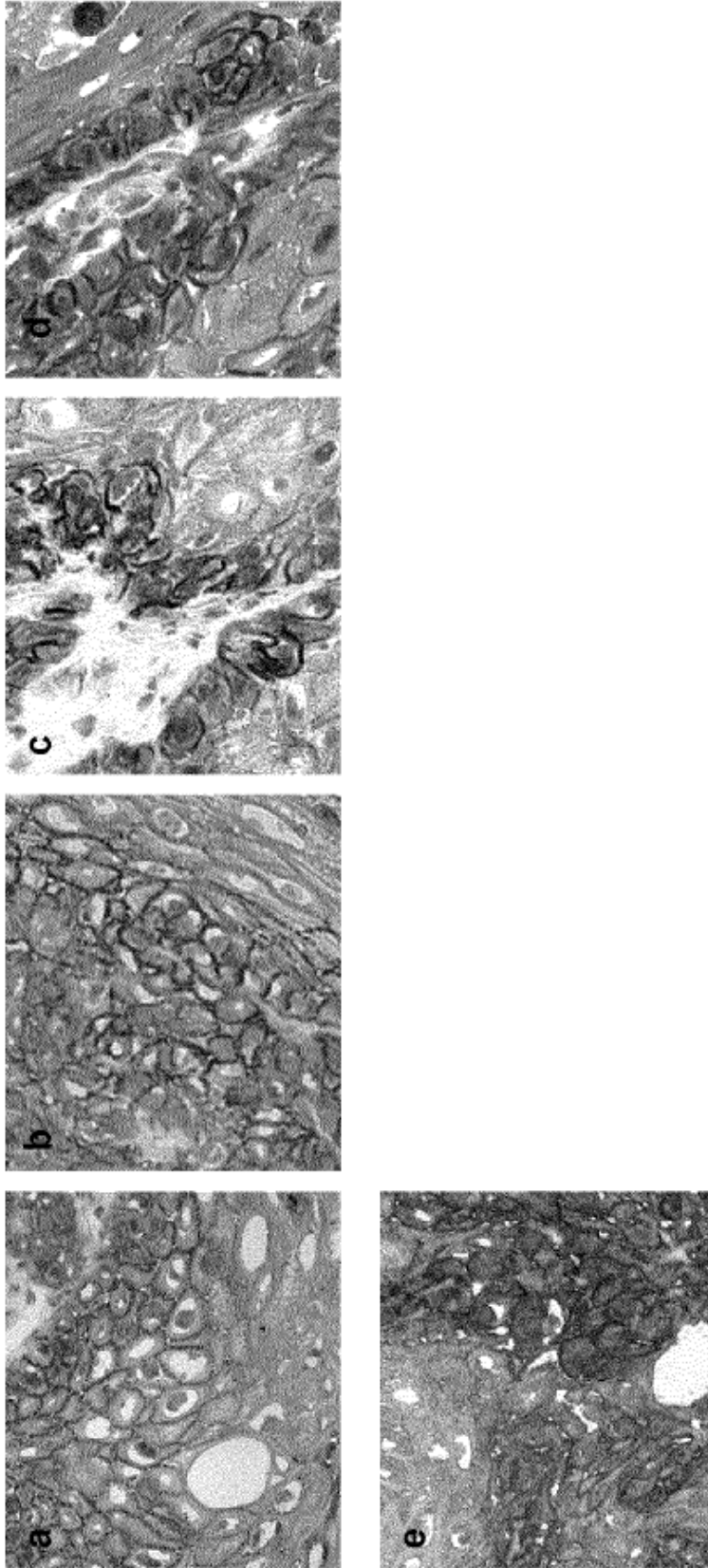
FIGURA 9A



**FIGURA 9B**

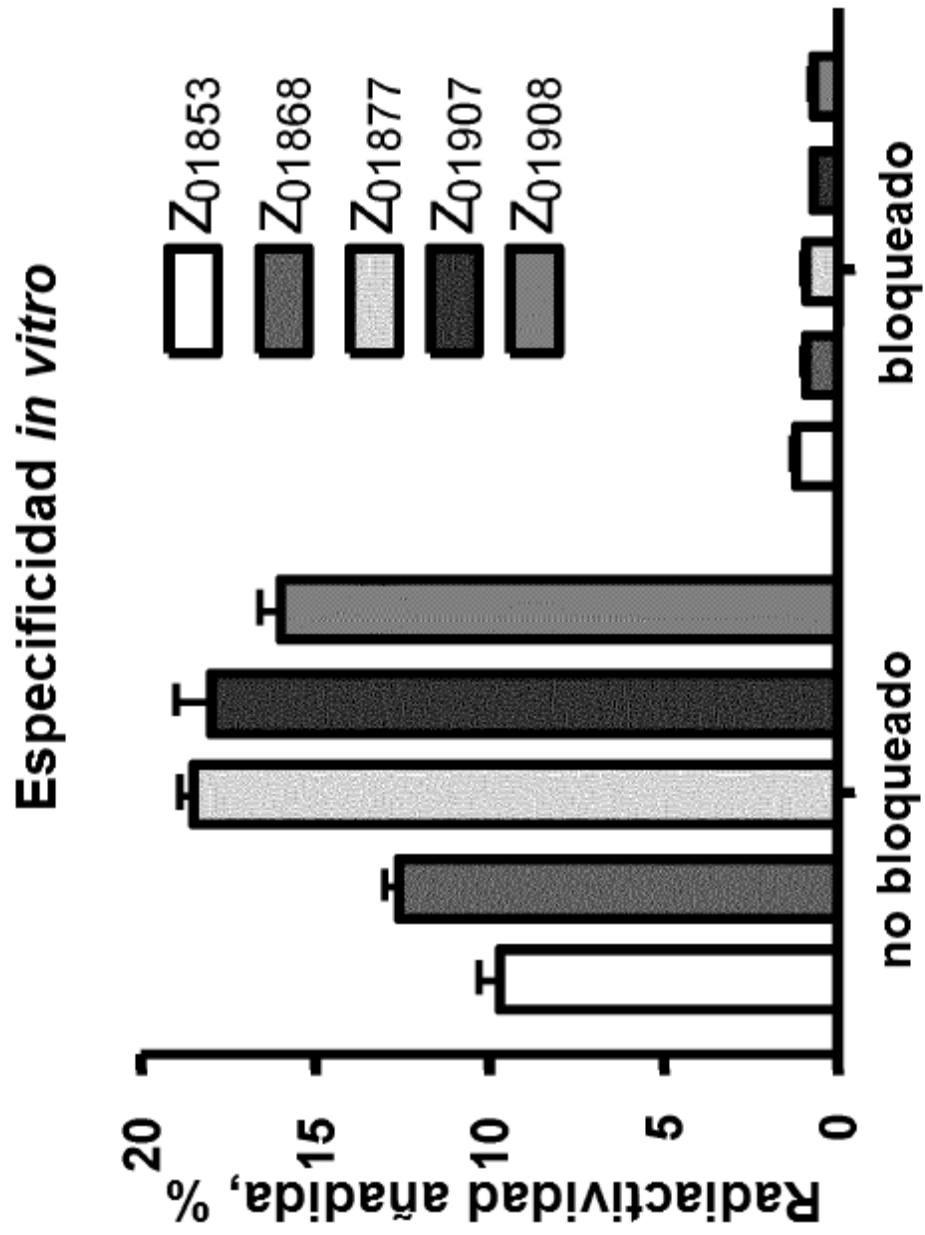


**FIGURA 10A**

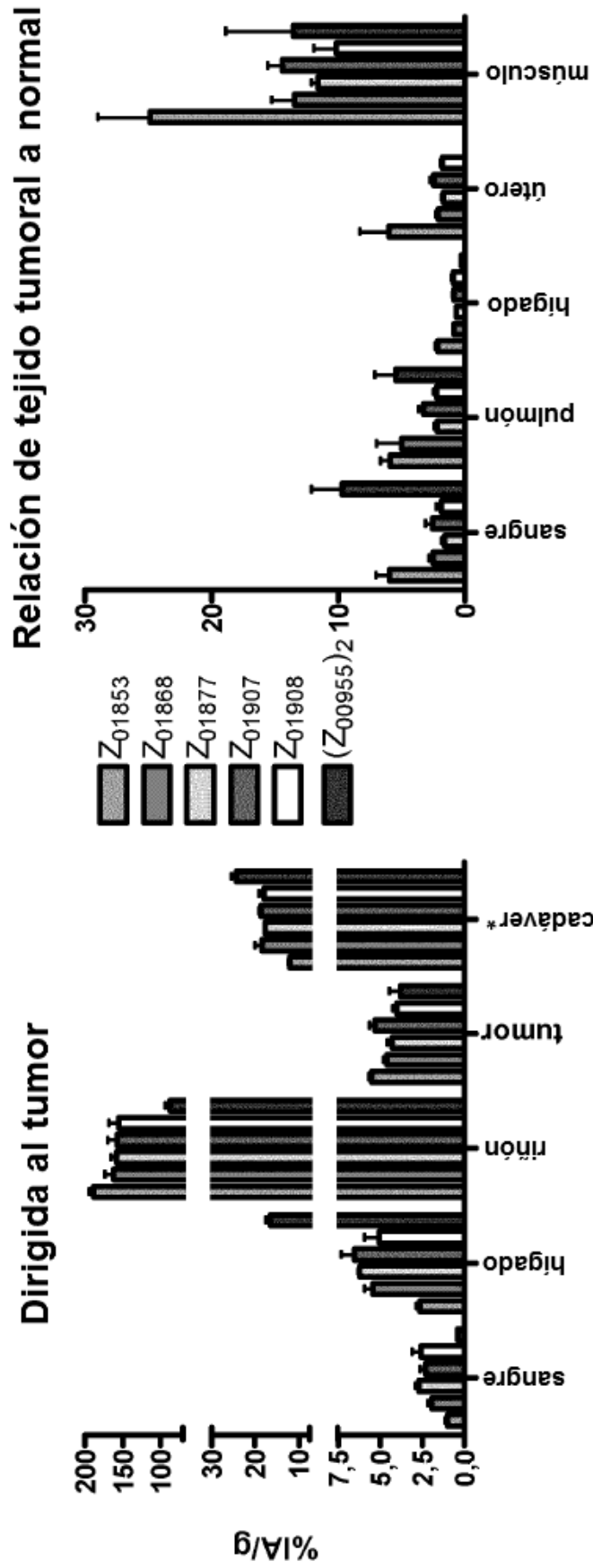


**FIGURA 10B**





**FIGURA 11**



**FIGURA 12**